

Società Italiana di Biologia Marina

BIOLOGIA MARINA MEDITERRANEA



Vol. 27 - fasc. 1 - 2023
ATTI LI Congresso SIBM ON LINE
14-17 Giugno 2022

Biologia Marina Mediterranea
(*Biol. Mar. Mediterr.*)

Direttore Responsabile/*Editor in chief*
Carmela Caroppo, CNR – IRSA sede di Taranto – e-mail: carmela.caroppo@irsa.cnr.it

Segreteria di Redazione/*Editorial Assistants*
E. Massaro, S. Queirolo,

Redazione/*Editorial Office*
S.I.B.M. c/o DISTAV, University of Genova,
Viale Benedetto XV, 3 – 16132 Genoa, Italy
e-mail: sibmzool@unige.it

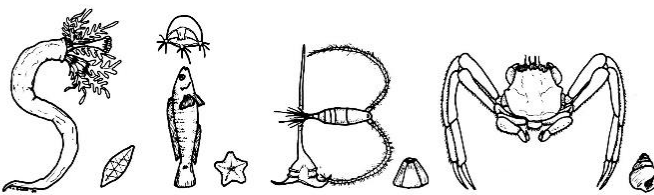
Biologia Marina Mediterranea è la rivista ufficiale della Società Italiana di Biologia Marina.
Biologia Marina Mediterranea is a journal of Italian Society for Marine Biology.

Biologia Marina Mediterranea è una rivista che tratta ogni aspetto della biologia marina. Al momento pubblica solo gli atti di congressi e simposi organizzati dalla SIBM o sintesi su argomenti specifici. Come supplementi della rivista sono pubblicati anche manuali e guide. Tutti i lavori sono sottoposti a qualificati referee nazionali ed internazionali.
Biologia Marina Mediterranea is an international journal dealing with all aspects of marine biology. At present only proceedings of workshops and congresses organized by SIBM or synthesis on special subjects are published. Guides and manuals are printed as supplements of the Journal. All papers are rigorously peer reviewed by national and international experts.

Le opinioni espresse negli articoli non necessariamente rappresentano quelle ufficiali della S.I.B.M.

Periodico della S.I.B.M., Genova – Autorizzazione Tribunale di Genova n. 34/94 del 13 dicembre 1994

ATTI
del
LI Congresso
della
SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA MARINA

51° 

CONGRESSO ON LINE
14-17 GIUGNO 2022

M. ANDRENACCI^{1,2,3}, A. OCCHIPINTI AMBROGI², E. CANESSA³, M. FAIMALI¹

¹Istituto per lo studio degli Impatti Antropici e Sostenibilità in ambiente marino (IAS- CNR), Genova, Italia.

²Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Italia.

³DISTAV, Università di Genova, Italia.

monica.andrenacci@ias.cnr.it

LA BIOLOGIA MARINA COME NUOVA DISCIPLINA FORENSE

MARINE BIOLOGY AS A NEW FORENSIC SCIENCE

Abstract - "Wherever he steps, whatever he touches, whatever he leaves will serve as a silent witness against him" (Locard, 1920). This assertion of the French criminologist, pioneer in forensic science, has then been summarized with the mantra that accompanies every forensic investigator: "every contact leaves a trace". The proper collection and analysis of the traces found in the marine environment can therefore provide useful evidence for the reconstruction of the previous events. Although the sea often represents a "crime scene" and many are the typologies of evidences that can be found in this environment, the marine sciences are still little used for these purposes and, in addition, the scientific data available to support their use in forensic investigations are very poor. For these reasons and considering the limited international literature, almost absent in the national context, a pioneering path has therefore arisen and here introduced in order to develop a new field of forensic sciences concerning the marine environment.

Key-words: forensic sciences, biodeterioration, Amphibalanus amphitrite, crime scene, submersion interval.

Introduzione - Le scienze forensi possono essere sinteticamente definite come l'applicazione di tecniche e metodologie scientifiche a supporto delle tradizionali indagini investigative di carattere giudiziario, per individuare le responsabilità civili e penali in relazione all'accertamento di un reato. Alcune di queste sono il risultato di specializzazioni delle classiche scienze naturali che rappresentano ormai un contributo indispensabile all'Autorità Giudiziaria e agli organi investigativi per ricostruire la dinamica di un evento criminoso e in particolare la scena del crimine. Ne sono un esempio rappresentativo l'entomologia forense e la botanica forense. L'approccio biologico-naturalistico alle scienze forensi è tuttavia quasi esclusivamente dedicato alle indagini condotte sui crimini commessi in ambiente terrestre, mentre esempi omologhi relativi ad indagini in ambienti acquatici (Wallace *et al.*, 2008; Humphreys *et al.*, 2013), e, in particolare, in mare sono piuttosto rari. In un Paese come l'Italia, con circa 8000 km di coste, l'ambiente marino è spesso teatro di eventi criminosi di diversa natura. Sono infatti numerose le morti in mare e i ritrovamenti di corpi e reperti. Morti di massa per catastrofi naturali o incidenti sono stati i casi più studiati, soprattutto per quel che concerne l'identificazione dei corpi. Molti sono anche i casi di occultamento di cadavere in mare, che rendono necessario, una volta recuperato un corpo, discernere tra morte per annegamento e il solo transito in questo comparto ambientale, o tra ferite *ante mortem* e traumi *post mortem* inferti da organismi marini (Anderson e Bell, 2014). Oltre a cadaveri o parti di essi, innumerevoli sono inoltre gli altri reperti di interesse giudiziario come armi, veicoli, casse contenenti droga, opere d'arte e altro, ritrovati sulle spiagge o in mare, che quindi spesso rappresenta un luogo di transito, di occultamento, o una vera e propria scena del crimine. È quindi nata l'esigenza di intraprendere un percorso pionieristico per estendere il campo delle scienze forensi all'ambito marino con lo scopo di sviluppare, mediante studi e tecniche scientifiche, metodologie e protocolli operativi specifici per la raccolta, conservazione e trattamento di reperti di interesse giudiziario intenzionalmente o accidentalmente

introdotti in mare. Questa nuova disciplina, la biologia marina forense, si propone di studiare l'interazione fra reperti e l'ambiente marino e di codificare l'impronta biologica generata da questa interazione per letture retrospettive, volte a ricostruire il percorso spazio-temporale dei corpi di reato recuperati in mare. Qualsiasi substrato immerso subisce, infatti, oltre alla ovvia aggressione chimico-fisica dovuta alle peculiari proprietà dell'acqua di mare, la colonizzazione da parte di numerosi organismi marini che determina un processo di biodeterioramento profondamente differente in funzione della natura del materiale che lo compone. Nel caso dei materiali di origine antropica, esso si limita al ricoprimento della loro superficie da parte di numerosi micro e macrorganismi bentonici (il *biofouling*). Nel caso di materiali naturali, come i tessuti animali e vegetali, oltre alla colonizzazione esterna, alcuni organismi possono penetrare il materiale (perforatori) ed addirittura utilizzarlo come fonte di cibo (saprofagi) e di energia (decompositori). Tutte queste interazioni, fino ad ora studiate solo per tentare di proteggere i materiali dal *biofouling* (Terlizzi e Faimali, 2010; Callow e Callow, 2011; Kirschner e Brennan, 2012), lasciano "tracce biologiche" importanti che, se adeguatamente studiate e caratterizzate, possono diventare potenziali strumenti di indagine retrospettiva. Questo studio sintetizza degli approcci volti allo studio delle interazioni biologiche in ambito marino di materiali naturali e sintetici, appartenenti a classi merceologiche e non trattati per l'immersione, quindi surrogati di tutti i potenziali reperti giudiziari (cadaveri, abiti, armi, fusti, casse).

Materiali e metodi - È stato realizzato un esperimento immergendo arti di suino, surrogato per eccellenza del cadavere umano, per valutare le differenze di biodegradazione (in termini di velocità e modalità) di campioni esposti in acque marine con un gradiente crescente di attività biologica in diverse condizioni di idrodinamismo, misurando nel tempo, alcuni parametri di riferimento (morfologia, biomassa e circonferenza). Per quanto riguarda tutti gli altri materiali (acciaio, alluminio, plastiche, ceramica, legno, ossa) sono stati organizzati esperimenti di esposizione in campo (*Raft-Test*) immergendo in mare i diversi campioni ancorati a idonee strutture per periodi di diversa durata (da 3 a 7 mesi nel corso degli anni) studiandone, ad intervalli regolari, l'insediamento superficiale degli organismi bentonici, il tasso di accrescimento della specie target individuata, *Amphibalanus amphitrite* (Darwin, 1854), e la caratterizzazione delle tracce lasciate sul substrato dopo rimozione meccanica. L'esposizione dei campioni è stata effettuata presso la stazione marina sperimentale del CNR di Genova ubicata al centro del Porto di Genova.

Risultati - L'esperimento condotto con gli arti di suino ha evidenziato sperimentalmente quanto l'apporto biologico sia determinante nei processi di deterioramento in ambiente marino, che hanno portato alla scheletrizzazione in un tempo variabile da tre mesi e mezzo a una settimana aumentandone il gradiente. Gli esperimenti condotti sui vari materiali hanno consentito di quantificare mediante software dedicati all'analisi delle immagini catturate a intervalli prestabiliti (Photogrid e ImageJ) il ricoprimento superficiale da parte dei principali gruppi tassonomici e di identificare un primo organismo target di interesse forense, *Amphibalanus amphitrite* di cui si è calcolato il tasso di crescita, in determinate condizioni ambientali. Pur prediligendo alcuni materiali e pur presentando una grande variabilità tra i valori di insediamento, risultato di interazioni intra e interspecifiche e di una influenza diretta della morfologia e caratteristiche chimiche e fisiche delle superfici e della

composizione degli organismi pionieri (biofilm), è stato rilevato che *Amphibalanus* sp. è in grado di insediarsi su tutti i materiali testati e di lasciare tracce permanenti della sua interazione con i substrati (residui calcarei del disco basale ed impronte). La loro rimozione lascia residui dei dischi basali che permangono nel tempo e in taluni casi anche solo un'impronta impressa sulla superficie facilmente identificabile. L'analisi ha rivelato che questa "impronta biologica", la cui sola presenza è in grado di indicare una permanenza significativa in mare, consente anche di ricavare una misura indiretta delle dimensioni degli individui precedentemente presenti, estremamente utile per risalire al tempo di permanenza in mare dei reperti.

Conclusioni - Le attività condotte aprono nuove prospettive nello scenario delle scienze forensi. Lo studio appare al momento pioneristico nel suo genere in quanto ha previsto contemporaneamente un doppio approccio, sperimentale e deduttivo, grazie all'analisi di casi di studio. La caratterizzazione del processo di biodeterioramento di reperti in ambito marino per un'interpretazione in chiave forense è risultato complesso ma stimolante, tanto da portare vari gruppi di ricerca, forze dell'ordine e organi giudiziari a collaborare per dar vita a questa nuova disciplina: la Biologia Marina Forense. Gli esperimenti effettuati, seppur preliminari, hanno dimostrato il ruolo chiave del biodeterioramento marino e della sua analisi come strumento di indagine, suggerendo successivi studi sull'influenza, su di esso, dei diversi scenari in cui i reperti potrebbero essere rinvenuti, o transitare, in situazioni reali, con particolare attenzione ai resti umani. A tal proposito oltre alla prosecuzione dell'attività sperimentale, sarà fondamentale l'analisi di casi di studio relativi al recupero di cadaveri e l'affiancamento in sala autoptica per poter ricercare eventuali tracce biologiche marine da esaminare, catalogare e confrontare con le evidenze sperimentali ottenute. Questa attività è già stata più volte svolta in collaborazione con l'Istituto di Medicina Legale di Genova. I risultati ottenuti con l'immersione controllata dell'ampia tipologia dei materiali esaminati hanno evidenziato come alcuni organismi chiave siano in grado di lasciare impronte biologiche permanenti, di grande interesse dal punto di vista forense. In particolare, per quanto riguarda i Balani, la sperimentazione ha evidenziato la capacità di questi organismi bentonici di lasciare un'impronta "leggibile" anche quando vengono rimossi meccanicamente dal substrato. Per questo motivo, come già suggerito da altri studi (Dennison *et al.*, 2004; Bytheway e Pustilnik, 2013; Anderson e Bell, 2014; Magni *et al.*, 2015), questo lavoro stimola ulteriori ricerche dedicate a caratterizzare i cicli vitali e le specifiche curve di crescita di questi organismi chiave, sia in condizioni controllate di laboratorio, sia in diversi scenari naturali, sfruttando i numerosi contatti intrapresi in questi anni con vari organi ed enti che si sono resi disponibili a collaborare a questo progetto. La possibilità di utilizzare questi organismi come strumenti biologici utili alla ricostruzione spazio-temporale di un evento di interesse giudiziario necessita infatti di una solidità scientifica, ma anche procedurale. Solide basi tecnico-scientifiche saranno infatti le giuste fondamenta per sviluppare e standardizzare metodologie di raccolta, conservazione e analisi dei reperti giudiziari recuperati in mare che consentano di fornire "prove marine" non solo scientificamente valide, ma anche credibili e accettabili nelle aule di giustizia. Le analisi di altri casi di studio, che abbiamo avuto l'opportunità di intraprendere e che hanno avuto come scenario i grandi relitti delle navi Norman Atlantic e Concordia, sono state utili e di stimolo per imparare a confrontarsi con realtà operative di grande e peculiare entità. Infatti, oltre alle attività analitiche è stato necessario effettuare attività di repertazione in condizioni decisamente proibitive e che hanno previsto una rigorosa preparazione,

organizzazione e le competenze specifiche di sommozzatori della Polizia di Stato e Vigili del Fuoco. Questa sinergia ha consentito di approfondire, oltre alle necessità investigative degli inquirenti, anche le criticità, i limiti e gli scenari a cui deve far fronte chi spesso interviene per soccorso, recupero di cadaveri o altri reperti giudiziari. Questi aspetti devono essere valutati attentamente per poter mettere a punto linee guida e opportune procedure che assicurino una lettura quanto più fedele della scena del crimine in ambiente marino.

Bibliografia

- ANDERSON G.S., BELL L.S. (2014) - Deep coastal marine taphonomy: investigation into carcass decomposition in the Saanich Inlet, British Columbia using a baited camera. *PLoS ONE*, **9** (10): e110710.
- BYTHEWAY J.A., PUSTILNIK S.M. (2013) - Determining postmortem interval using glycoproteinous adhesion deposits by *Balanus improvisus* on human skeletal and dental remains. *J. Forensic Sci.*, **58** (1): 200-205.
- CALLOW J.A., CALLOW M.E. (2011) - Trends in the development of environmentally friendly fouling-resistant marine coatings. *Nat. Commun.*, **2**: 244.
- DENNISON K.J., KIESER J.A., BUCKERIDGE J.S., BISHOP P.J. (2004) - Post mortem cohabitation - shell growth as a measure of elapsed time: a case report. *Forensic Sci. Int.*, **139** (2-3): 249-254.
- HUMPHREYS M.K., PANACEK E., GREEN W., ALBERS E. (2013) - Comparison of protocols for measuring and calculating postmortem submersion intervals for human analogs in fresh water. *J. Forensic Sci.*, **58** (2): 513-517.
- KIRSCHNER C.M., BRENNAN A.B. (2012) - Bio-inspired antifouling strategies. *Ann. Rev. Mater. Res.*, **42**: 211-229.
- LOCARD E. (1920) - *L'enquête criminelle et les méthodes scientifiques*. Flammarion, Paris: 300 pp.
- MAGNI P.A., VENN C., AQUILA I., PEPE F., RICCI P., DI NUNZIO C., AUSANIA F., DADOUR I.R. (2015) - Evaluation of the floating time of a corpse found in a marine environment using the barnacle *Lepas anatifera* L. (Crustacea: Cirripedia: Pedunculata). *Forensic Sci. Int.*, **247**: e6-10.
- TERLIZZI A., FAIMALI M. (2010) - Fouling on artificial substrata. In: Dürr S., Thomason J.C. (eds), *Biofouling*. Wiley & Sons: 170-184.
- WALLACE J.R., MERRITT R.W., KIMBIRASKAS R., BENBOW M.E., McINTOSH M. (2008) - Caddisflies assist with homicide case: determining a postmortem submersion interval using aquatic insects. *J. Forensic Sci.*, **53** (1): 219-221.

D. ASNICAR^{1,2}, I. MARISA¹, V. MATOZZO¹, M.G. MARIN¹

¹Dipartimento di Biologia, Università di Padova, Italia.

²Aquatic Bioscience, Huntsman Marine Science Centre, New Brunswick, Canada.
davide.asnicar@huntsmanmarine.ca

STRESS OSSIDATIVO IN *RUDITAPES PHILIPPINARUM* DOPO ESPOSIZIONE A NANOPARTICELLE

OXIDATIVE STRESS IN *RUDITAPES PHILIPPINARUM* AFTER EXPOSURE TO NANOPARTICLES

Abstract - Due to their unique physical properties, nanoparticles have increasingly been produced in recent decades for many industrial and biomedical applications. These products can enter marine trophic webs through effluents, riverine systems, industrial and urban run-off, representing emerging stressors for organisms. In this work, clams of the species *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) were exposed for 7 days to three single nanoparticles (fullerene C₆₀, zinc oxide and titanium dioxide) at two environmentally relevant concentrations. At the end of the exposure, a battery of oxidative stress-related biomarkers was measured in gills and digestive gland. Results confirmed the toxicity of these emerging environmental pollutants and the possible risk they pose to marine bivalves, even at the low concentrations tested.

Key-words: nanoparticles, clam, biomarkers, oxidative stress.

Introduzione - Negli ultimi anni, le nanotecnologie hanno permesso la creazione di nanomateriali e nanoparticelle (NP) di largo uso e consumo in campo industriale, farmaceutico, biomedico e nella formulazione di prodotti per l'igiene personale. Lo scarico di questi materiali in ambiente acquatico è inevitabile, in particolare attraverso fiumi ed effluenti di sistemi di depurazione industriali e urbani (Handy *et al.*, 2008). Gli ambienti marini costieri, in particolare i sedimenti, sono potenziali siti di accumulo di questi contaminanti e gli organismi bentonici sono maggiormente esposti a possibili effetti tossici. Grazie alle loro caratteristiche uniche, le NP mostrano un'alta affinità con altri contaminanti metallici ed organici, possono portare a generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e riescono ad attraversare facilmente le membrane cellulari (Al Subiai *et al.*, 2012). La loro tossicità è stata riportata per molti organismi, dai batteri a svariate specie vegetali e animali, sia invertebrati che vertebrati (Matranga e Corsi, 2012). In questo lavoro sono stati indagati gli effetti su risposte biochimiche coinvolte nello stress ossidativo in branchie e ghiandola digestiva di *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) dopo un'esposizione a medio termine (7 giorni) a tre nanoparticelle: fullerene C₆₀ (FC₆₀), ossido di zinco (nZnO) e biossido di titanio (nTiO₂). Questi composti sono di difficile quantificazione in ambiente acquatico, per questo motivo si fa riferimento alle concentrazioni ambientali previste attraverso modelli (PEC). Per le tre NP utilizzate nel presente lavoro, le PEC variano da centinaia di ng/L a decine di µg/L (Ferreira da Silva *et al.*, 2011; Menard *et al.*, 2011). È stato utilizzato un approccio multi-biomarker che consente una stima del potenziale stato di squilibrio tra ROS e difese antiossidanti, nonché del danno ossidativo che potrebbe derivare dall'esposizione ai contaminanti. Tra le risposte enzimatiche indagate, l'enzima superossido dismutasi (SOD) catalizza la dissociazione dello ione superossido in ossigeno molecolare e perossido di idrogeno (H₂O₂). Quest'ultimo viene utilizzato come substrato dall'enzima catalasi (CAT) per ottenere acqua e ossigeno. L'enzima glutatione-S-transferasi (GST) è noto per avere un ruolo nella detossificazione e protezione delle cellule dai ROS. La presenza di alti livelli di ROS comporta danni ossidativi in molecole

sensibili come lipidi e proteine, con fenomeni rispettivamente di perossidazione e carbonilazione.

Materiali e metodi - Le NP sono state acquistate da Sigma-Aldrich (Milano, Italia) e caratterizzate in laboratorio attraverso una combinazione di tecniche analitiche (tra cui: microscopio elettronico a trasmissione, TEM; diffrattometro; autosorb; diffrazione laser) per confermarne le caratteristiche (Fig. 1).

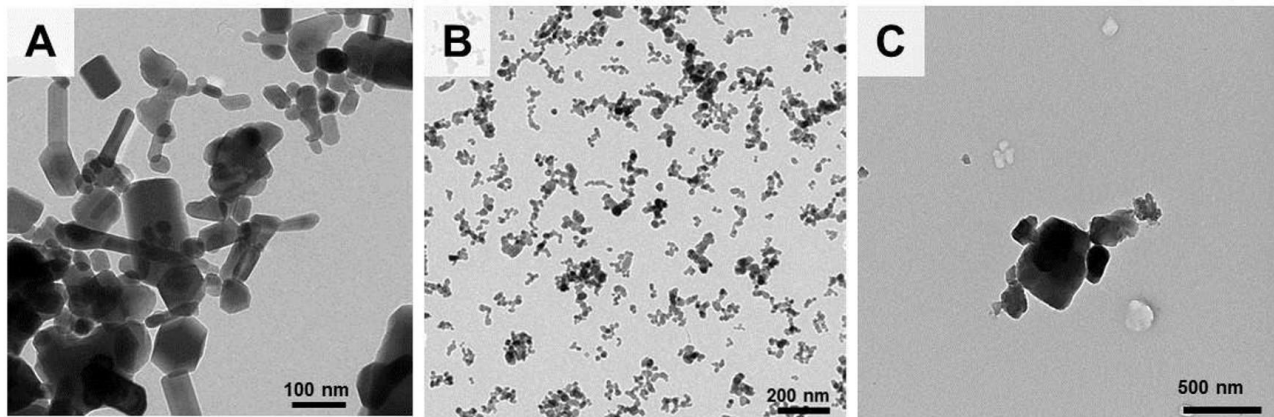


Fig. 1 - A, B, C: immagini al TEM di nZnO, nTiO₂ e FC₆₀.

A, B, C: TEM images of nZnO, nTiO₂ and FC₆₀.

Le tre nanoparticelle sono state testate singolarmente a concentrazioni ambientalmente rilevanti (1 e 10 µg/L) in tre esperimenti diversi. Le vongole sono state raccolte in un'area di concessione nel bacino sud della laguna di Venezia. In laboratorio, gli animali sono stati acclimatati per una settimana e quindi trasferiti in vasche di vetro da 35 L (due per condizione sperimentale) provviste di aeratore e pompa di circolazione per evitare la sedimentazione delle nanoparticelle. L'acqua di mare veniva rinnovata quotidianamente (salinità 35±1, temperatura 16±0,5 °C) insieme a contaminante e cibo (microalghe, *Isochrysis galbana* Parke). Branchie e ghiandola digestiva sono state prelevate 7 giorni dopo l'inizio dell'esposizione da 5 pool di 4 animali per ogni condizione sperimentale. Aliquote di ogni tessuto congelate in azoto liquido e conservate in freezer a -80 °C, al momento dell'analisi sono state scongelate in ghiaccio, omogeneizzate a 4 °C in Tris-HCl 50 mM e infine centrifugate a 12000 g per 40 minuti a 4 °C. Il surnatante è stato utilizzato per le analisi enzimatiche. In particolare, sono state misurate le attività di superossido dismutasi (SOD; U SOD/mg di proteina), catalasi (CAT; U CAT/mg di proteina) e glutatione-S- transferasi (GST; nmol/min/mg di proteina). Sono stati inoltre quantificati il contenuto di gruppi carbonilici nelle proteine (PCC; nmol/mg di proteina) e la perossidazione lipidica (LPO) usando il saggio della malondialdeide (MDA). I risultati sono espressi come nmol di sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS)/mg di proteina. Il contenuto di proteine è stato quantificato con il metodo di Bradford (1976). Maggiori dettagli sui metodi utilizzati sono riportati nel lavoro Matozzo *et al.* (2016). I risultati sono stati analizzati con un'ANOVA ad una via, seguita da test *post-hoc* Tukey HSD per i confronti a coppie.

Risultati - La Tab. 1 riassume i risultati dell'ANOVA ad una via per le varie analisi che sono state effettuate nei tessuti delle vongole esposte alle tre nanoparticelle. È stato riscontrato un aumento significativo nell'attività dell'enzima SOD nelle branchie di organismi esposti a FC₆₀ e nZnO. Gli animali esposti a nTiO₂ hanno invece mostrato un aumento significativo della SOD nella ghiandola digestiva. L'enzima CAT si è rivelato il

più influenzato dall'esposizione a tutte e tre le NP, con una variazione significativa dell'attività in entrambi i tessuti delle vongole. La risposta prevalente è stata un incremento dell'attività; solo nelle branchie degli animali esposti a FC60 si è osservata una riduzione dell'attività della CAT rispetto ai controlli. L'attività di GST è risultata significativamente ridotta nelle branchie di vongole esposte a nTiO₂, in particolare alla concentrazione più elevata (10 µg/L). Un aumento significativo di LPO è stato riscontrato nella ghiandola digestiva delle vongole esposte a nTiO₂, mentre un analogo aumento di carbonili proteici è stato rilevato nelle branchie dopo esposizione a FC₆₀ alla concentrazione più elevata.

Tab. 1 - Risultati della ANOVA ad una via sulle risposte biochimiche misurate nelle branchie e nella ghiandola digestiva di *R. philippinarum* dopo esposizione a nanoparticelle di FC₆₀, nZnO e nTiO₂. La direzione della freccia indica significativo aumento o diminuzione del parametro indagato.

One-way ANOVA results for the biochemical responses measured in gills and digestive gland of R. philippinarum after exposure to FC₆₀, nZnO and nTiO₂. Arrow's direction indicates significant increase or decrease in the parameter investigated.

	Fullerene C60				Ossido di zinco				Biossido di titanio			
	Branchie		Ghiandola digestiva		Branchie		Ghiandola digestiva		Branchie		Ghiandola digestiva	
	F _(2,15)	p	F _(2,15)	p	F _(2,15)	p	F _(2,15)	p	F _(2,15)	p	F _(2,15)	p
Attività SOD	3.640	0.050	0.120	0.888	11.930	0.001	1.980	0.181	1.180	0.341	6.920	0.010
Attività CAT	10.370	0.001	4.710	0.030	11.340	0.002	5.860	0.017	4.440	0.036	5.830	0.017
Attività GST	1.080	0.363	0.824	0.458	0.460	0.640	2.520	0.122	4.220	0.041	2.130	0.162
LPO	3.367	0.062	2.370	0.128	2.300	0.143	1.400	0.284	1.780	0.210	4.740	0.030
PCC	6.162	0.011	0.027	0.973	1.580	0.246	2.300	0.143	3.510	0.063	0.300	0.750

Conclusioni - I risultati ottenuti hanno evidenziato in *R. philippinarum* una diversa modulazione delle risposte legate allo stress ossidativo, non solo in relazione al tipo di nanoparticella utilizzata, ma anche dipendente dal tessuto analizzato. Rispetto alle altre NP, nZnO ha mostrato complessivamente un minore impatto, sia sulle branchie che sulla ghiandola digestiva. È interessante notare che il fullerene ha influenzato maggiormente le risposte delle branchie, mentre il titanio ha prodotto i maggiori effetti tossici nella ghiandola digestiva. Il diverso comportamento delle tre NP può essere dovuto alle loro diverse proprietà fisiche. nTiO₂ entra facilmente nelle cellule e può facilitare anche l'ingresso di altri composti, questo gli permette di raggiungere più agevolmente la ghiandola digestiva e di esprimere in questo tessuto il proprio effetto tossico (Minetto *et al.*, 2014). Invece FC₆₀ spesso forma aggregati che possono rendere difficile il passaggio attraverso le branchie, dove si manifesta maggiormente la tossicità del contaminante (Aschberger *et al.*, 2010). L'inibizione degli enzimi CAT e GST in risposta a FC₆₀ e nTiO₂ nelle branchie di *R. philippinarum*, rispettivamente, può essere dovuta alla presenza stessa delle nanoparticelle che agiscono negativamente sull'attività dell'enzima o causata dall'aumento di H₂O₂ che nelle branchie può essere presente a maggiori concentrazioni e incrementare lo stress ossidativo (Livingstone, 2001). Nel complesso, la modulazione dell'attività dei tre enzimi indagati evidenzia un aumento dello stress ossidativo nelle vongole esposte alle nanoparticelle. Il danno ossidativo si manifesta solo dopo esposizione a FC₆₀ e nTiO₂, seppure con modalità diverse, interessando nel primo caso le proteine delle branchie, nel secondo i lipidi della ghiandola digestiva. Danni limitati alle macromolecole suggeriscono una difesa antiossidante adeguata a proteggere le cellule alle concentrazioni di NP testate in questo lavoro. Esperimenti a più lungo termine che prendano in considerazione l'interazione tra

le tre NP e tra queste e altri contaminanti, anche in presenza di variazioni nei parametri chimico-fisici dell'acqua di mare in un'ottica di cambiamenti climatici, saranno utili per definire le condizioni di rischio che le popolazioni di vongole potranno trovarsi ad affrontare in futuro.

Bibliografia

- AL-SUBIAI S.N., ARLT V.M., FRICKERS P.E., READMAN J.W., STOLPE B., LEAD J.R., MOODY A.J., JHA A.N. (2012) - Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C₆₀ fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus* sp. *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, **745** (1-2): 92-103.
- ASCHBERGER K., JOHNSTON H.J., STONE V., AITKEN R.J., TRAN C.L., HANKIN S.M., PETERS S.A.K., CHRISTENSEN F.M. (2010) - Review of fullerene toxicity and exposure - Appraisal of a human health risk assessment, based on open literature. *Regul. Toxicol. Pharm.*, **58** (3): 455-473.
- BRADFORD M.M. (1976) - A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72** (1-2): 248-254.
- FERREIRA DA SILVA B., PÉREZ S., GARDINALLI P., SINGHAL R.K., MOZETO A.A., BARCELÓ D. (2011) - Analytical chemistry of metallic nanoparticles in natural environments. *TRAC - Trend. Anal. Chem.*, **30** (3): 528-540.
- HANDY R.D., VON DER KAMMER F., LEAD J.R., HASSELLÖV M., OWEN R., CRANE M. (2008) - The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, **17**: 287-314.
- LIVINGSTONE D.R. (2001) - Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull.*, **42** (8): 656-666.
- MATOZZO V., BATTISTARA M., MARISA I., BERTIN V., ORSETTI A. (2016) - Assessing the effects of amoxicillin on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and protein carbonyl content in the clam *Ruditapes philippinarum* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **97**: 521-527.
- MATRANGA V., CORSI I. (2012) - Toxic effects of engineered nanoparticles in the marine environment: model organisms and molecular approaches. *Mar. Environ. Res.*, **76**: 32-40.
- MENARD A., DROBNE D., JEMEC A. (2011) - Ecotoxicity of nanosized TiO₂. Review of in vivo data. *Environ. Pollut.*, **159** (3): 677-684.
- MINETTO D., LIBRALATO G., VOLPI GHIRARDINI A. (2014) - Ecotoxicity of engineered TiO₂ nanoparticles to saltwater organisms: an overview. *Environ. Int.*, **66**: 18-27.

S. CASABIANCA¹, A. BELLINGERI², S. CAPELLACCI¹, C. FALERI³, E. PACCAGNINI³,
P. LUPETTI³, A. KOELMANS⁴, A. PENNA¹, I. CORSI²

¹Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino, Italy.

²DSFTA, Università di Siena, Italy.

³DSV, Università di Siena, Italy.

⁴AEW, Wageningen University, Netherlands.

silvia.casabianca@uniurb.it

IMPACT OF POLYSTYRENE NANOPARTICLES ON DIATOM *SKELETONEMA MARINOI* CHAIN ASSEMBLAGES AND CONSEQUENCES ON THEIR ECOLOGICAL ROLE IN MARINE ECOSYSTEMS

IMPATTO DELLE NANOPARTICELLE DI POLISTIRENE SULLA *DIATOMEA SKELETONEMA MARINOI* E CONSEGUENZE SUL RUOLO ECOLOGICO NEGLI ECOSISTEMI MARINI

Abstract - Marine diatoms have been identified among the most abundant taxa of microorganisms associated with plastic waste collected at sea. However, the impact of nano-sized plastic fragments (nanoplastics) at single cell and population level is almost unknown. The diatom *Skeletonema marinoi* (Sarno & Zingone, 2005) was exposed to different concentrations (1, 10, 50 µg/mL) of polystyrene nanoparticles for 15 days. Algal growth, reactive oxygen species (ROS) production, and nano-bio-interactions were investigated. Diatom growth was not affected by nanoplastic exposure but TEM images showed the formation of large PS aggregates at the diatoms' fultoportula process (FPP). Increase production of ROS and reduction in chain length were also observed upon PS NPs exposure ($p < 0.005$) with potential serious consequences on diatoms ecological role on the biogeochemical carbon cycle.

Key-words: *Skeletonema marinoi*, polystyrene nanoparticles, ROS, adhesion, chain assemblage.

Introduction - Due to its conformation, highly populated coastlines and tourism, the Mediterranean Sea is widely recognized to be severely impacted by plastic pollution with polystyrene (PS) being frequently found as waste in marine waters (Suaria *et al.*, 2016). Weathering of plastic leads to fragmentation into ever smaller particles reaching submicron (100-1000 nm) and nanoscale particle (1-100 nm) size (Ekvall *et al.*, 2019). Marine diatoms are among the most abundant taxa of microorganisms associated to plastic fragments that are collected in the marine environment and are thus able to spread both harmful species and toxins (Casabianca *et al.*, 2019). Diatoms are known to play an important ecological role in primary production, representing also a significant part of the marine food webs (Harris, 2012). Moreover, diatoms produce exopolymeric substance (EPS) contributing to marine aggregate formation, an important carbon source for the marine environment, playing a fundamental role in marine ecosystem ecology and functioning (Xiao and Zheng, 2016). Plastic particles (both nano and micro) can be incorporated into natural marine aggregates modifying their sinking rates. The aim of the present study was to investigate the impact of polystyrene nanoparticles (90 nm, PS NPs) to the marine diatom *Skeletonema marinoi* (Sarno & Zingone, 2005) reactive oxygen species (ROS) production and chain length assemblages in a long-term exposure scenario (15 days) and at environmentally relevant exposure conditions (1-50 µg/mL) (Bergami *et al.*, 2017).

Materials and methods - Cultures of *S. marinoi* CBA4 were exposed for 15 days to PS NPs (1, 10, 50 µg/mL) and growth rate (μ) and inhibition ($I_{\mu i}$), as well as cell density, were determined by using a Sedgewick Rafter counting chamber under an inverted

microscope at 400× magnification. Diatom chain length was determined on pictures taken with an optical microscope of Lugol fixed samples. The interaction between microalgal cells and PS NPs was imaged through high resolution environmental scanning electron microscopy (ESEM) and by transmission electron microscopy (TEM), and interference contrast microscopy. Moreover, the production of reactive oxygen species (ROS) was measured. Statistical analyses were performed with non-parametric Mann-Whitney and Kruskal Wallis tests using PAST ver. 3.14 with a p-value <0.05 determining significance for growth inhibition, and with an unpaired t-test using R with a p-value <0.005 for ROS levels.

Results - Light microscopy showed no effects on diatom growth upon exposure to PS NPs (1, 10 and 50 µg/mL) for 15 days (Hc=0.63, p=0.89). Growth rates were in the range of 0.61-0.66 per day, similarly both to controls and to exposed diatoms (Hc=2.13, p=0.54). TEM images clearly showed PS aggregates interacting with the *S. marinoi* external surface, mainly localized at terminal fulcristria process (TFPP) (Fig. 1) that is responsible for chain formation and maintenance.

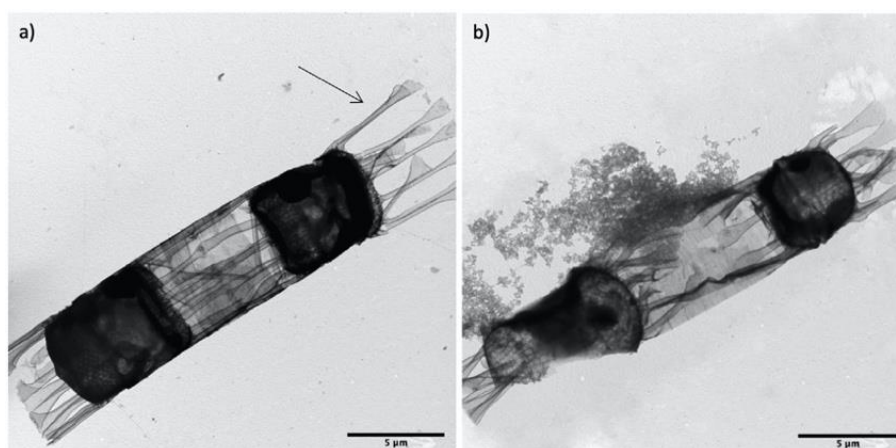


Fig. 1 - a) TEM images of *S. marinoi*, control cells; b) TEM images of *S. marinoi*, PS NPs exposed cells.
a) Immagini al TEM di *S. marinoi*, controllo; b) immagini al TEM di *S. marinoi*, esposizione a PS NPs.

Furthermore, TEM images highlighted an adhesion of diatom exopolymeric substance (EPS) to PS NPs (Fig. 2).

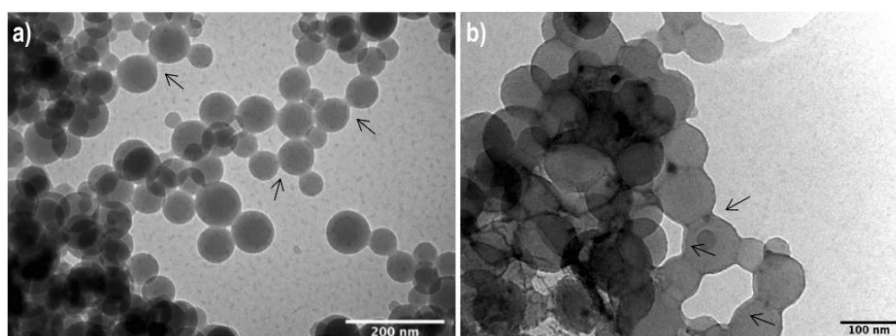


Fig. 2 - a) TEM images showing PS aggregates embedded in EPS (see arrows); b) PS aggregates embedded in EPS (see arrows) at higher magnification.
a) Immagini al TEM che mostrano aggregati di PS all'interno di EPS (vedi frecce); b) aggregati di PS all'interno di EPS (vedi frecce) a più alto ingrandimento.

The length of *S. marinoi* chains was significantly affected by PS NPs at 10 and 50 µg/mL exposure. In particular, PS NPs exposed diatoms showed a high percentage of single and 2-cell chains, altogether accounting for 95% and 84% of 10 and 50 µg/mL

exposure, respectively. Instead, in the *S. marinoi* control, single cells and 2-cells chains accounted for 36% of the observed chains, while 43% was represented by 4- and 8-cell chains. At 1 µg/mL exposure no difference in chain length was observed between microalgal treated and control samples (Fig. 3). *S. marinoi* chains are composed of cells connected to one another by the fultoportula processes (FPP) and the documented adhesion of PS aggregates to the FPP might be responsible for the shorter chains, since these structures may act as a bridge between diatom cells, allowing the assembly of the chain. It has been therefore hypothesized that the reduction in chain length is a consequence of PS NPs adhesion to these structures.

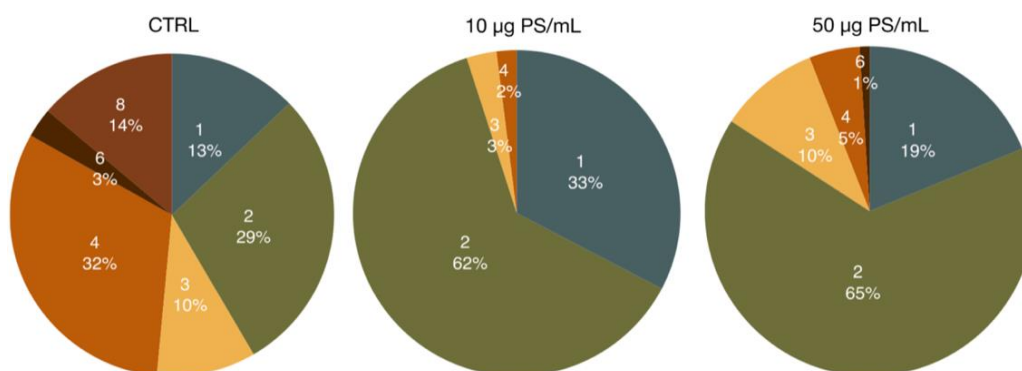


Fig. 3 - *S. marinoi* chain length expressed as percentage of different number of cells (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) in control (CTRL) and PS NPs exposed (10 µg PS/mL and 50 µg PS/mL).

Lunghezza delle colonie di S. marinoi espressa come percentuale di diversi numeri di cellule (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) nel controllo (CTRL) e nei campioni esposti a PS NPs (10 µg PS/mL e 50 µg PS/mL).

Moreover, a concentration-dependent increase in both intracellular and extracellular ROS levels was observed in diatom exposed to PS NPs (Fig. 4).

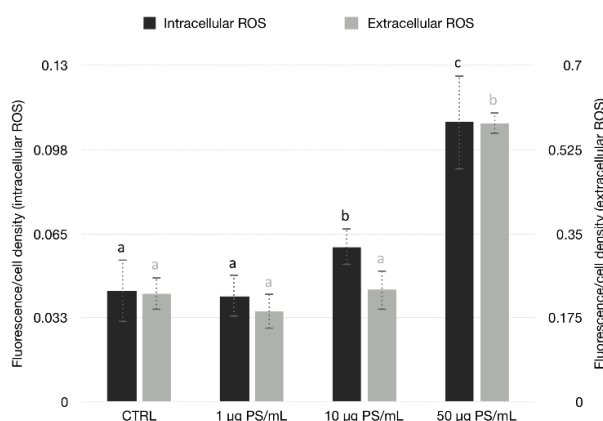


Fig. 4 - Intracellular (black, left y-axis) and extracellular (grey, right y-axis) ROS levels in *S. marinoi* exposed to PS NPs (1, 10, 50 µg PS/mL) and in controls. Data shown as fluorescence units/cell density (cells/mL) and presented as mean±standard deviation. Within the same data group, data with different letters are statistically different with $p < 0.005$.

Livelli di ROS intracellulari (colonne nere, asse y di sinistra) e extracellulari (colonne grigie, asse y di destra) di S. marinoi esposti a PS NPs (1, 10, 50 µg PS/mL) e nei controlli. I dati sono espressi come unità di fluorescenza/densità cellulare (cellule/mL) e presentati come media±deviazione standard. All'interno dello stesso gruppo, i dati con lettere diverse sono statisticamente diversi con $p < 0,005$.

In particular, intracellular ROS significantly increased ($p < 0.005$) compared to the control for both 10 and 50 $\mu\text{g/mL}$ PS NPs, while for extracellular ROS a significant increase was observed only at 50 $\mu\text{g/mL}$.

Conclusions - The findings of this study highlighted no lethal effect of PS NPs to the marine diatom *S. marinoi*, while (i) an increase in intracellular and extracellular oxidative stress, (ii) the adhesion of PS NPs onto the algal surface and (iii) a reduction of diatom's chain length were observed. Shorter chain length could have serious consequences on diatoms ecology by impairing their buoyancy and enhancing their sinking rates with potential implications for the maintenance of phytoplankton productivity on the sea surface (Smayda and Boleyn, 1966), as well as potential effects at assemblage level due to their trophic transfer up to the food chain. Moreover, the formation of plastic agglomerates held together by a biopolymer matrix, could be even more relevant for microalgae producing high amount of exudates as diatoms, with possible implications for their role on nanoplastic behavior and fate in the water column. Potential ecological implications such as changes in algal buoyancy as well as the formation and sinking of aggregates are currently under investigation.

References

- BERGAMI E., PUGNALINI S., VANNUCCINI M.L., MANFRA L., FALERI C., SAVORELLI F., DAWSON K.A., CORSI I. (2017) - Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana*. *Aquat. Toxicol.*, **189**: 159-169.
- CASABIANCA S., CAPELLACCI S., GIACOBBE M.G., DELL'AVERSANO C., TARTAGLIONE L., VARRIALE F., NARIZZANO R., RISSO F., MORETTO P., DAGNINO A., BERTOLOTTO R., BARBONE E., UNGARO N., PENNA A. (2019) - Plastic-associated harmful microalgal assemblages in marine environment. *Environ. Pollut.*, **244**: 617-626.
- EKVALL M.T., LUNDQVIST M., KELPSIENE E., ŠILEIKIS E., GUNNARSSON S.B., CEDERVALL T. (2019) - Nanoplastics formed during the mechanical breakdown of daily-use polystyrene products. *Nanoscale Adv.*, **1**: 1055-1061.
- HARRIS G.P. (2012) - *Phytoplankton ecology. Structure, function and fluctuation*. Springer Science & Business Media: 384 pp.
- SMAYDA T.J., BOLEYN B.J. (1966) - Experimental observations on the flotation of marine diatoms. II. *Skeletonema costatum* and *Rhizosolenia setigera*. *Limnol. Oceanogr.*, **11** (1): 18-34.
- SUARIA G., AVIO C.G., MINEO A., LATTIN G.L., MAGALDI M.G., BELMONTE G., MOORE C.J., REGOLI F., ALIANI S. (2016) - The Mediterranean plastic soup: synthetic polymers in Mediterranean surface waters. *Sci. Rep.*, **6**: 37551.
- XIAO R., ZHENG Y. (2016) - Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotechnol. Adv.*, **34** (7): 1225-1244.

L. CASCIARO¹, W. ZUPA¹, I. BITETTO¹, Z. IKICA², M. ĐUROVIĆ², A. PALLUQI³, M. KULE³,
P. CARBONARA¹, N. MILONE⁴, G. LEMBO¹, M. T. SPEDICATO¹

¹COISPA Tecnologia e Ricerca s.c.r.l., Torre a Mare (BA), Italy.

²Institute of Marine Biology, University of Montenegro, Kotor, Montenegro.

³Ministry of Agriculture and Rural Development, Tirana, Albania.

⁴FAO AdriaMed, Rome, Italy.

casciaro@coispa.eu

MARINE MACRO-LITTER CHARACTERIZATION IN THE SOUTH ADRIATIC SEA USING MEDITS DATA

CARATTERIZZAZIONE DEL MACRO-LITTER MARINO NEL MAR ADRIATICO MERIDIONALE ATTRAVERSO L'USO DEI DATI MEDITS

Abstract - Marine litter is one of the main sources of anthropogenic pollution in the marine ecosystem, with plastic representing a global threat. This paper aims to describe marine litter composition in the Southern Adriatic Sea (GSA 18). Data were collected during 7 MEDITS trawl surveys from 2013 to 2019. The first two depth strata (10-100 m) are the strata more affected by the presence of litter (~65%). The present study confirms plastic as the most abundant litter category on the seabed, followed by cloths and metals. The higher amount of plastic is represented by bags.

Key-words: trawl survey, macro-litter, plastic, metal, textiles.

Introduction - Litter is found in all the world's oceans and seas, even in remote areas. Driven by rapid urbanization and growing populations, global annual waste quantities are continuously and globally increasing and estimates from 2010 indicate 275 million tons of plastic waste generated, with 4.8 to 12.7 million tons entering the oceans (Jambeck *et al.*, 2015). There are different methods reported in literature to assess quantity and quality of litter in marine environments (Maximenko *et al.*, 2019), such as bottom trawl net, sonar, submersible, snorkelling, scuba diving and manta tow. Using bottom trawl survey gives the possibility to explore wide seabed areas and depth range in a standardised manner, despite of the disadvantage due to the impossibility of exploring hard substrates. The updated protocol of the MEDITS survey (AA.VV., 2017) aimed at coping with the lack of a detailed protocol for data collection of marine macro-litter on the seafloor at Mediterranean scale (Spedicato *et al.*, 2019a). In the Mediterranean Sea few studies have been conducted based on scientific trawl surveys. Spedicato *et al.* (2019b), for instance, reported depth, seafloor slope, surface oceanographic currents and distances from main ports as the main drivers for the litter movements and dispersion. The present work describes marine litter composition and spatial distributions in the Southern Adriatic Sea (GSA 18 *sensu* FAO-GFCM) using MEDITS data. This GSA is characterized by a large shelf (19529 km², 67.3% of the area) and the gradient of the seabed is steeper along the eastern and western sides in the southernmost part of the GSA. In this area two main currents were described by Artegiani *et al.* (1997): one on the east side which conveys the saltier and warmer water masses from the Ionian Sea; a second one colder and fresher that run southward.

Materials and methods - Data were collected in 624 hauls (depth 10-800 m; area surface: 29008 km²) carried out during 7 MEDITS trawl surveys from 2013 to 2019, in the GSA 18 involving three countries (Italy, Albania and Montenegro). In each haul, marine litter items were catalogued using 8 categories and 27 sub-categories described in the MEDITS protocol, weighed and counted. The index of abundance in number (DI;

items/km²), in weight (MI; kg/km²) (swept area method) and the frequency of occurrence (Fo, % of positive hauls) of the macro-litter were estimated by depth strata (10-50 m; 51-100 m; 101-200 m; 201-500 m; 501-800 m) and for the whole area. The analysis of time series trends for Fo, DI and MI was performed on the three most representative litter categories using the non-parametric Spearman's rho test. The maps of spatial distribution of marine macro-litter were obtained using the QGIS 3.10 software.

Results - No significant trends through time ($p > 0.05$) were detected in the studied indices (Fo, DI, MI) for plastic, metal, natural clothes and total litter. Due to these results, further analyses were conducted pooling all the 7 years data together estimating the mean values. Macro-litter was found widely distributed with a Fo of 97.3% and with a higher relative abundance in shallower waters (Fig. 1). In the whole area, plastic represented the litter category with the highest Fo (94.7%), followed by cloth and natural fibers (25.2%), metals (21.6%), glass or ceramic (18.9%), rubber (6.3%), wood processed (3.5%) and paper and cardboard (2.6%). Only the three categories with the higher Fo were further analyzed representing the 87.3% of the litter weight. Plastic category showed the higher DI (80.9 ± 14.9 items/km²) and MI (9.4 ± 2.3 kg/km²), representing respectively the 91% and the 74% of the total litter composition. In this category, bags and bottles showed the higher Fo (respectively 75.8% and 43.3%), DI (respectively 35.2 ± 5.4 items/km² and 27 ± 8.4 items/km²) and MI (respectively 0.9 ± 13.8 kg/km² and 3.3 ± 1.3 kg/km²) (Fig. 2). Plastic was found mostly (about 67%) distributed in the first 2 strata (Fig. 1). The highest DI was observed close to the city of Bar (Montenegro), at 45 m of depth. Although the highest MI was observed in the eastern part of the area, in particular in proximity of Bar, Durrës and Vlorë cities, also in the western part some peaks were observed, in particular in proximity of Monopoli and along the coasts of the Gargano promontory (Fig. 3). In the metal category, beverage cans were the items with the highest Fo (14.4%) and DI (3.6 ± 2.2 items/km²), while the objects with the highest MI were the middle size containers and large metallic objects (respectively 0.7 ± 0.5 kg/km² and 1 ± 1.3 kg/km²) (Fig. 3). The number of metal items seemed equally distributed in the depth strata but in the deeper strata (200-800 m) the heaviest items were mostly distributed (Fig. 1).

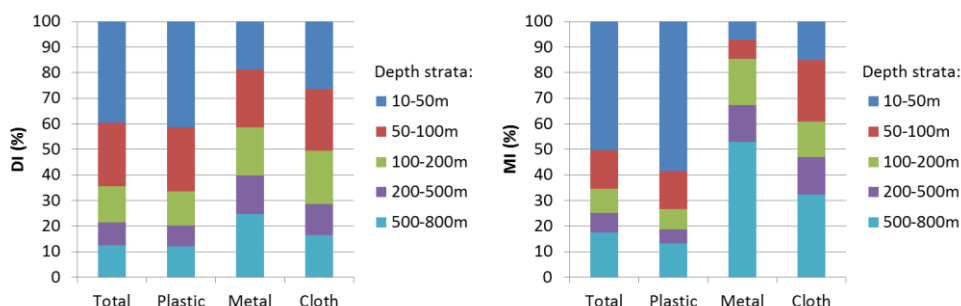


Fig. 1 – DI and MI (%) per depth strata of total litter and of the three main categories.
 DI e MI (%) per strato di profondità del litter e delle tre principali categorie.

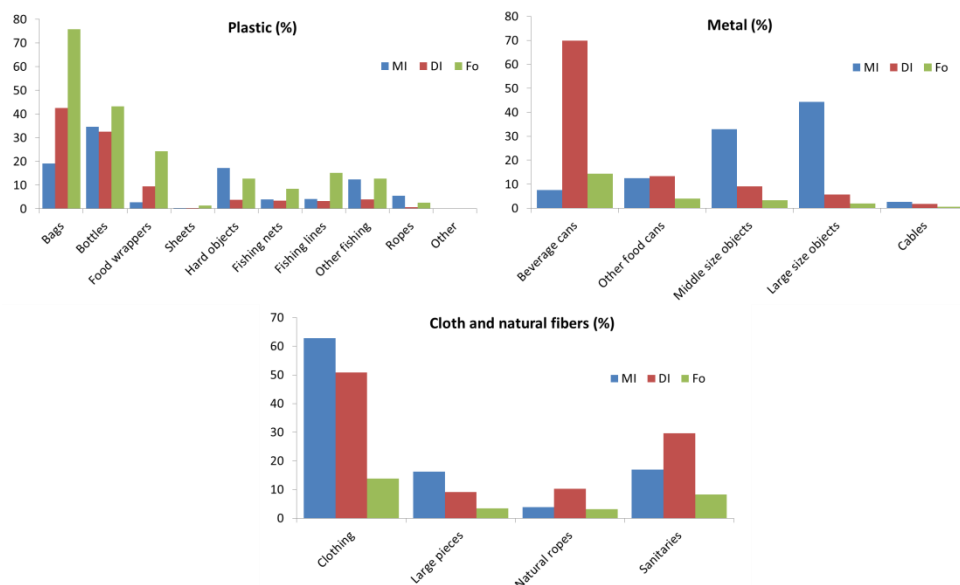


Fig. 2 - Litter subcategories occurrence (%) and composition in DI (%) and MI (%) of plastic, metal and natural clothes.

Occorrenza (%) e composizione in DI (%) e MI (%) delle subcategorie di plastica, metallo e fibre naturali.

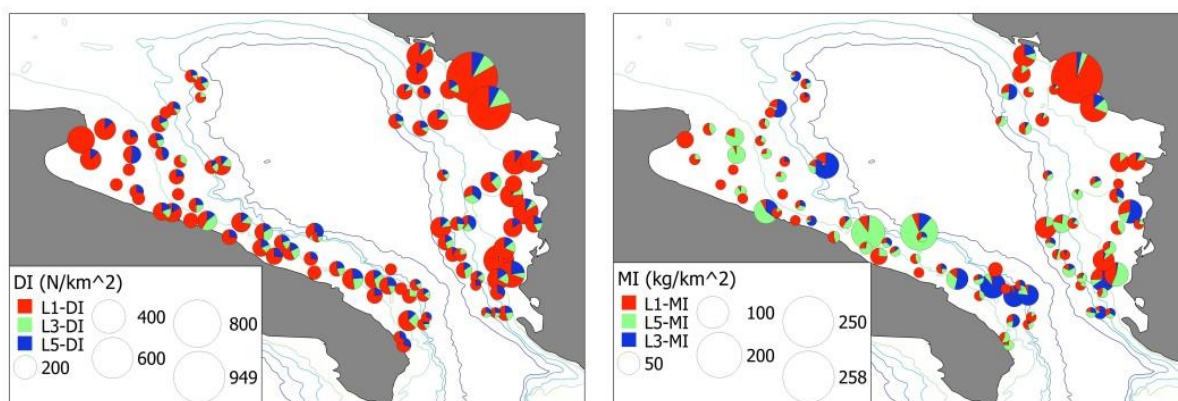


Fig. 3 - Plastic (L1), metal (L3) and natural clothes (L5) DI and MI by hauls (mean values 2013-2019). *Plastica (L1), metallo (L3) e fibre naturali (L5) DI e MI per cala (valori medi 2013-2019).*

Conclusions - The first two depth strata (10-50 and 51-100 m) are the most affected by the presence of litter, confirming that the distance from main urbanized areas could be one of main drivers for the litter dispersion. Moreover, the present study confirms that the most present litter category on the seabed is plastic as stressed in previous studies at Mediterranean scale (Spedicato *et al.*, 2019b). The plastic is mainly represented by bags, bottles, hard plastic objects and fishing related items. Its ubiquity and elevated presence are due to the very long time needed to degrade, although no significant temporal variations were observed, as well as for the other studied litter categories. An important contribute to the marine debris dispersion is partially provided by the water masses movements in the Adriatic basin that could be responsible of the wide spread of floating plastic items before they drop down on the seafloor (Liubartseva *et al.*, 2018), creating the accumulation profiles here described. Surface general circulation of the Adriatic Sea is known to be cyclonic and is composed by seasonal gyres that generate a winter northward flow along the eastern coasts (Albania and Montenegro) and a summer southerly flow along the western coast (Artegiani *et al.*,

1997; Orlić *et al.*, 1992). These components could be likely responsible of the most important hotspots located near Bar and along the coasts of the Gargano promontory. Liubartseva *et al.* (2018) observed a hotspot of floating plastic marine debris near Bar in correspondence of the Bojana river mouth, confirming that the patterns of high concentration correspond to the input locations, such as cities and rivers. This data seems to be in line with the higher observations found close to the coasts in the Central Adriatic Sea by Pasquini *et al.* (2016). Indeed, the proximity to the urbanized areas seems to be a pivotal factor for the generation of important sinking areas such as the case of the area close to the city of Bar along the Montenegrin coasts. Elevated plastic mass values were also observed along Albanian coasts in an intermediate position between Durrës and Vlorë, around 50-100 m depth and, on the west coast of GSA 18, between Bari and Monopoli. Regularly monitoring of litter dispersed in the sea through a standardized sampling protocol, as the MEDITS one, is a pivotal point for evaluating if the policy measures, aimed at reducing the marine litter and currently in force (*e.g.* to incentivize responsible waste management, the Circular Economy Action Package) are really efficient to reach agreed threshold values.

References

- AA.VV. (2017) - MEDITS-Handbook. Version n. 9. MEDITS Working Group: 106 pp.
- ARTEGIANI A., BREGANT D., PASCHINI E., PINARDI N., RAICICH F., RUSSO A. (1997) - The Adriatic Sea general circulation. Part II: baroclinic circulation structure. *J. Phys. Oceanogr.*, **27**: 1515-1532.
- JAMBECK J.R., GEYER R., WILCOX C., SIEGLER T.R., PERRYMAN M., ANDRADY A., NARAYAN R., LAW K.L. (2015) - Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, **347** (6223): 768-771.
- LIUBARTSEVA S., COPPINI G., LECCI R., CLEMENTI E. (2018) - Tracking plastics in the Mediterranean: 2D Lagrangian model. *Mar. Pollut. Bull.*, **129** (1): 151-162.
- MAXIMENKO N., CORRADI P., LAW K.L., VAN SEBILLE E., GARABA S.P., LAMPITT R.S., GALGANI F., MARTINEZ-VICENTE V., GODDIJN-MURPHY L., VEIGA J.M., THOMPSON R.C., MAES C., MOLLER D., LÖSCHER C.R., ADDAMO A.M., LAMSON M.R., CENTURIONI L.R., POSTH N.R., LUMPKIN R., VINCI M., MARTINS A.M., PIEPER C.D., ISOBE A., HANKE G., EDWARDS M., CHUBARENKO I.P., RODRIGUEZ E., ALIANI S., ARIAS M., ASNER G.P., BROSICH A., CARLTON J.T., CHAO Y., COOK A.-M., CUNDY A.B., GALLOWAY T.S., GIORGETTI A., GONI G.J., GUICHOUX Y., HARAM L.E., HARDESTY B.D., HOLDSWORTH N., LEBRETON L., LESLIE H.A., MACADAM-SOMER I., MACE T., MANUEL M., MARSH R., MARTINEZ E., MAYOR D.J., LE MOIGNE M., MOLINA JACK M.E., MOWLEM M.C., OBBARD R.W., PABORTSAVA K., ROBBERSON B., ROTARU A.-E., RUIZ G.M., SPEDICATO M.T., THIEL M., TURRA A., WILCOX C. (2019) - Toward the Integrated Marine Debris Observing System. *Front. Mar. Sci.*, **6**: 447.
- ORLIĆ M., GAČIĆ M., LA VIOLETTE P.E. (1992) - The currents and circulation of the Adriatic Sea. *Oceanol. Acta*, **15** (2): 109-124.
- PASQUINI G., RONCHI F., STRAFELLA P., SCARCELLA G., FORTIBUONI T. (2016) - Seabed litter composition, distribution and sources in the Northern and Central Adriatic Sea (Mediterranean). *Waste Manage.*, **58**: 41-51.
- SPEDICATO M.T., MASSUTÍ E., MÉRIGOT B., TSERPES G., JADAUD A., RELINI G. (2019a) - The MEDITS trawl survey specifications in an ecosystem approach to fishery management. *Sci. Mar.*, **83** (S1): 9-20
- SPEDICATO M.T., ZUPA W., CARBONARA P., FIORENTINO F., FOLLESA M.C., GALGANI F., GARCÍA- RUIZ C., JADAUD A., IOAKEIMIDIS C., LAZARAKIS G., LEMBO G., MANDIC M., MAIORANO P., SARTINI M., SERENA F., CAU A., ESTEBAN A., ISAJLOVIC I., MICALLEF R., THASITIS I. (2019b) - Spatial distribution of marine macro-litter on the seafloor in the northern Mediterranean Sea: the MEDITS initiative. *Sci. Mar.*, **83** (S1): 257-270.

Data used in this paper were collected in the DCF and of the FAO AdriaMed Project, supported by the Italian Ministry of Agriculture, Food and Forestry Policy (MiPAAF) and by the European Commission-DG MARE.

S. COLELLA¹, F. GIROLAMETTI², M. PANFILI¹, A. ANNIBALDI², S. ILLUMINATI²,
M. MARINI¹, A. SANTOJANNI¹, C. TRUZZI², E. FRAPICCINI¹

¹Institute for Marine Biological Resources and Biotechnologies,
National Research Council (IRBIM-CNR), Ancona, Italy.

²Department of Life and Environmental Sciences, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.
sabrina.colella@cnr.it

SOMATIC INDICES IN RELATION TO POLLUTANTS IN EUROPEAN HAKE (*MERLUCCIOUS MERLUCCIOUS*) FROM THE ADRIATIC SEA: PRELIMINARY RESULTS

INDICI SOMATICI IN RELAZIONE AI CONTAMINANTI NEL NASELLO (*MERLUCCIOUS MERLUCCIOUS*) DEL MAR ADRIATICO: RISULTATI PRELIMINARI

Abstract - Contaminants such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and mercury (Hg) are known for their endocrine-disrupting potential and can affect both growth and health status of fish. In the present work, PAHs and Hg levels were investigated in the muscle tissue of males and females European hakes (*Merluccius merluccius*) caught from Adriatic Sea. Somatic indexes, such as gonadosomatic and hepatosomatic indices, as well as the condition factor, were investigated and compared with PAH and Hg contents in fish tissue for possible correlations. Generally, contaminants bioaccumulated in several way according to the sex of fish, females had higher concentrations than males in both pollutants. A positive and significant correlation between PAHs and Hg with gonadosomatic index were found in all fish samples, suggesting that during the gonad development, the capacity to accumulate contaminants by fish increases.

Key-words: *Merluccius merluccius*, somatic indexes, mercury, PAHs, Adriatic Sea.

Introduction – In the last decades, the effects of pollutants in marine ecosystems attracted widespread attention by the scientists, in particular on demersal and pelagics fishery resources, already subjected to conditions causing the depletion of fish stocks in Mediterranean Sea, i.e. an excessive fishing effort and an inadequate fishing management (Singh and Srivastava, 2015). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are ubiquitously found in marine environments and are very dangerous for their ability to bioaccumulate, representing a possible risk to the reproduction of fish. Since PAHs tend to bind to sediment thank to their hydrophobic nature, the bottom-associated demersal fish, such as *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), are more likely to ingest contaminated invertebrates or sediments. Besides, another important pollutant discharged into the aquatic environmental is represented by heavy metal, such as mercury (Hg). It accumulates in the tissues of fish or other marine organisms due to have a long biological half-lives, causing adverse effect on fish physiology and human health via food. Important factors that can influence the bioaccumulation of these pollutants in fish tissues are sex, reproduction status, maturity and seasonality (De Jonge *et al.*, 2015). The use of the somatic indices, such as gonadosomatic index (GSI) and hepatosomatic index (HIS) or morphometric index such as condition factor (CF), as tools in bioassessment programs, are most often associated with exposure to pollutants due to they reflect physiological changes of fish. Therefore, somatic indices variations are linked to the different physiological phases of fish and could be used as biomarker (Kleinkauf *et al.*, 2004; Morado *et al.*, 2017; Łuczyńska *et al.*, 2018). European hake (*Merluccius merluccius*) is considered as a batch spawner with asynchronous ovary development and a protracted reproductive period encompassing the whole year, although the main spawning peak is from spring to summer in Adriatic Sea (Candelma

et al., 2018, 2021). *M. merluccius* is one of the most important commercially demersal species in the Mediterranean Sea: total landings were 20170 tons (FAO-GFCM, 2020) per year of these, 15% were in the northern and central Adriatic, in 2018 (Girolametti *et al.*, 2022). The aim of this study is to investigate the accumulation of PAHs and Hg in fish tissues of *M. merluccius* caught from the Adriatic Sea. Additionally, some relationships between these pollutants and somatic indices of fish have been evaluated in order to identify the most suitable index to specific pollution in European hake.

Materials and methods – A total of 14 *Merluccius merluccius* specimens ranging from 23 to 34,5 cm in total length (TL) were collected by commercial bottom trawler fishing vessels in the Northern and Central Adriatic Sea (FAO Geographical Sub-Area 17, according to GFCM division) during 2018. For each specimen these parameters were recorded: total length (TL) to the nearest 1 cm below, total and gutted weight (TW and GW) to the nearest 0.01g, sex, maturity stage of gonads, and finally weights of gonads and liver. Sex was determined and the maturation process was detected by macroscopic examination of the gonads, according to a five stages maturity scale described in Candelma *et al.* (2018, 2021). To evaluate the correlation between somatic indexes and pollutants accumulation, the GSI, HSI, and Le Cren's relative CF, were calculated. These indices were defined by the following equations:

$$\text{GSI (\%)} = \text{gonad weight/GW body} \times 100$$

$$\text{HSI (\%)} = \text{liver weight/GW body} \times 100$$

$$\text{CF} = W/a \text{ TL}^b$$

where a and b are the regression parameters of the length–weight relationship, GW is gutted weight, and TL is the total length.

Results – Biometric and pollutant data of the *M. merluccius* samples are listed in the Tab. 1. The levels of total PAHs in the fish tissues ranged from 5 (± 1) to 21 (± 8) ng/g w.w. (Fig. 1a). Instead, the levels of total Hg in the *M. merluccius* tissues averaged 0.13 (± 0.07) and 0.22 (± 0.08) mg/kg d.w., in males, and females respectively (Fig. 1b). The PAHs and Hg contents in muscle of females were statistically significant higher than males ($p < 0.05$), suggesting that sex is an important factor for pollutant bioaccumulation in fish.

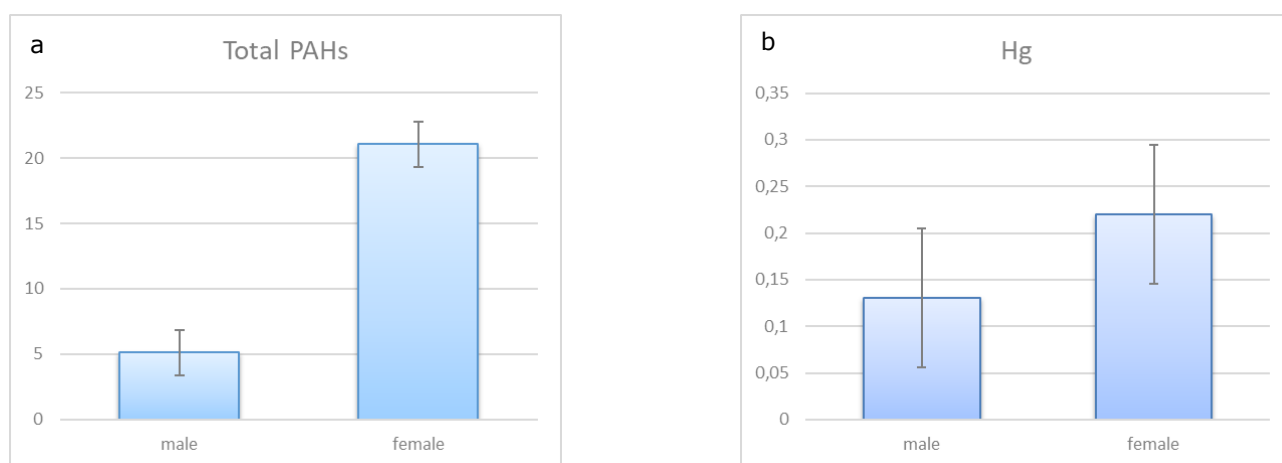


Fig 1 - Total PAH (a) and Hg (b) concentrations (average values) in fish tissue of males (n=7) and females (n=7) in *M. merluccius* samples.

Media delle concentrazioni degli IPA totali (a) e Hg (b) nei tessuti di *M. merluccius*, in individui maschi (n=7) e femmine (n=7).

Tab. 1 - Summary of biometric data and PAHs and Hg concentrations in *M. merluccius* samples.
Dati biometrici e concentrazione di IPA e mercurio nei campioni di M. merluccius.

Fish samples	Sex	TL (cm)	Maturity stage ^a	GSI	HSI	CF*	PAHs (ng/g)	Hg (mg/kg)
1	F	27.0	Spawning capable	5.18	n.a.	1.18	19.06	0.13
2	F	29.5	Spawning capable	6.71	2.40	0.90	36.83	0.19
3	F	30.0	Developing	1.53	3.51	1.02	25.72	0.23
4	F	31.0	Spawning capable	2.35	2.76	0.94	21.19	0.16
5	F	31.5	Spawning capable	6.60	3.15	0.99	8.46	0.33
6	F	33.5	Actively spawning	13.96	2.43	0.88	16.39	0.33
7	F	34.5	Spawning capable	7.83	4.06	0.94	19.75	0.17
8	M	23.0	Spawning capable	1.22	2.16	1.10	5.50	0.29
9	M	24.0	Spawning capable	0.66	2.36	1.02	4.44	0.13
10	M	24.0	Spawning capable	1.08	3.76	1.04	5.68	0.08
11	M	24.5	Spawning capable	0.85	3.39	1.00	3.88	0.07
12	M	24.5	Spawning capable	1.46	1.71	1.05	4.89	0.13
13	M	25.0	Actively spawning	1.04	2.14	1.06	4.01	0.14
14	M	27.0	Spawning capable	0.45	4.27	0.97	7.35	0.08

^aCandelma *et al.*, 2018, 2021
n.a., not available/non disponibile

Tab. 2 – Pearson correlation statistics for the somatic indexes in relationship to the *M. merluccius* tissue contaminants.
Coefficiente di correlazione di Pearson tra gli indici somatici in relazione ai contaminanti presenti nei tessuti di M. merluccius.

	GSI		HSI		CF	
	PAHs	Hg	PAHs	Hg	PAHs	Hg
males	-0.2609	0.4806	0.5362	-0.7350 ^a	-0.1920	0.8293 ^a
females	-0.2636	0.4987	-0.1723	-0.2502	-0.1216	-0.4819
all samples	0.5579 ^a	0.5998 ^a	0.1833	-0.3660	-0.3814	-0.2183

^a $p < 0.05$

Statistical analysis of the relationships between somatic and morphometric indices and pollutants were carried out ($p < 0.05$, Tab. 2). The gonad development (GSI index) was significant positively correlated both to PAHs and Hg in *M. merluccius* tissues for all samples analysed. A general decrement in HSI was showed when Hg levels increased in fish tissue, but it was significant only in males. On the contrary, a positive and statistically significant relationship between Hg and CF was found only in males. Concerning females, they have never showed significant correlations between somatic index and pollutants.

Conclusions – The levels of PAHs and Hg were generally low in the investigated tissue samples. Relationships between somatic indexes (GSI, HSI, CF) and pollutants have been investigated in *M. merluccius* tissues, but in the majority of cases their correlation were not significant. Conversely, significant differences between males and females were observed both in contaminant levels and in their correlations with somatic indexes. A positive and significant correlation between contaminants and GSI was found in all samples, suggesting that the accumulation of contaminants increases when fish is close to spawning period and to the gonad development. A decrease of energy status of fish (HSI) was observed when high levels of Hg were recorded in their muscle, but statistically significant only in males. These preliminary results suggested that somatic indexes are good indicator of environmental stress and they could reflect the general status of fish, then should be considered to monitor environmental pollutants.

References

- CANDELMA M., DALLA VALLE L., COLELLA S., SANTOJANNI A., CARNEVALI O. (2018) - Cloning, characterization, and molecular expression of gonadotropin receptors in European hake (*Merluccius merluccius*), a multiple-spawning species. *Fish Physiol. Biochem.*, **44**: 895-910.
- CANDELMA M., MARISALDI L., BERTOTTO D., RADAELLI G., GIOACCHINI G., SANTOJANNI A., COLELLA S., CARNEVALI O. (2021) - Aspects of reproductive biology of the European hake (*Merluccius merluccius*) in the northern and central Adriatic Sea (GSA 17 - Central Mediterranean Sea). *J. Mar. Sci. Eng.*, **9** (4): 389.
- DE JONGE M., BELPAIRE C., VAN THUYNE G., BREINE J., BERVOETS L. (2015) - Temporal distribution of accumulated metal mixtures in two feral fish species and the relation with condition metrics and community structure. *Environ. Pollut.*, **197**: 43-54.
- GIROLAMETTI F., PANFILI M., COLELLA S., FRAPICCINI E., ANNIBALDI A., ILLUMINATI S., MARINI M., TRUZZI C. (2022) - Mercury levels in *Merluccius merluccius* muscle tissue in the central Mediterranean Sea: seasonal variation and human health risk. *Mar. Pollut. Bull.*, **176**: 113461.
- ŁUCZYŃSKA J., PASZCZYKA B., ŁUCZYŃSKI M.J. (2018) - Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. *Ecotox. Environ. Safe.*, **153**: 60-67.
- KLEINKAUF A., CONNOR L., SWARBRECK D., LEVENE C., WALKER P., JOHNSON P.J., LEAH R.T. (2004) - General condition biomarkers in relation to contaminant burden in European flounder (*Platichthys flesus*). *Ecotox. Environ. Safe.*, **58** (3): 335-355.
- MORADO C.N., ARAÚJO F.G., GOMES I.D. (2017) - The use of biomarkers for assessing effects of pollutant stress on fish species from a tropical river in Southeastern Brazil. *Acta Sci. Biol. Sci.*, **39** (4): 431-439.
- SINGH S., SRIVASTAVA A.K. (2015) - Variations in Hepatosomatic Index (HSI) and Gonadosomatic Index (GSI) in fish *Heteropneustes fossilis* exposed to higher sub-lethal concentration to Arsenic and Copper. *J. Ecophysiol. Occup. Health*, **15** (3-4): 89-93.

G. DENTI¹, G. FANELLI¹, P.G. TISCAR², B. PAOLETTI², J. HATTAB²,
F. MASTROTOTARO^{3,4}, F. CARELLA⁵, G. VILLARI⁵, F. MONTESANTO³,
G. CHIMIENTI^{3,4}, F. RUBINO¹

¹Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA), Consiglio Nazionale delle Ricerche, Taranto, Italy.

²Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo, Italy.

³Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Italy.

⁴CoNISMa, Roma, Italy.

⁵Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II, Italy.

fernando.rubino@irsa.cnr.it

MASS MORTALITY OF *PINNA NOBILIS* LINNAEUS, 1758 (MOLLUSCA, BIVALVIA) IN THE TARANTO AND TREMITI ISLANDS POPULATIONS: CITIZEN SCIENCE TO HELP SCIENTISTS

MORTALITÀ DI MASSA DI *PINNA NOBILIS* LINNAEUS, 1758 (MOLLUSCA, BIVALVIA) NELLE ACQUE DI TARANTO E DELLE ISOLE TREMITI: LO STRUMENTO DELLA CITIZEN SCIENCE IN AIUTO DEI RICERCATORI

Abstract - The mass mortality outbreak affecting *Pinna nobilis* populations, from Spanish Mediterranean coasts to Marmara Sea, was then observed in the Gulf of Taranto and at Tremiti Islands. In Taranto the mortality was discovered during the Summer 2018, while in the Tremiti Islands a dramatic mass mortality occurred at the end of the Summer 2019. Cytology, histopathology and molecular diagnosis revealed the presence in Taranto and Tremiti populations of two species of *Mycobacterium* Aronson and of *Haplosporidium pinnae*, described in previous reports. Citizen Science campaigns were launched to support the work of researchers in monitoring the populations of this critically endangered species. The contribution of citizen science has proven to be effective in the fast detection of the mortality event. Now, the monitoring of survived specimens of *P. nobilis* is urgently needed to further understand the pathology spreading pathway and to plan protection strategies.

Key-words: *Pinna nobilis*, *Haplosporidium pinnae*, mass mortality event, citizen science, Mediterranean.

Introduction - The fan mussel *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758, a species of Community interest under strict protection measures (e.g., Habitats Directive Annex IV EEC, 1992), has recently been classified as "Critically Endangered" in the Red List of Threatened Species by the International Union for Conservation of Nature (IUCN). This was related to the mass mortality outbreak reported since the Summer 2016 (Vázquez-Luis *et al.*, 2017) along the Mediterranean Spanish coasts and involving all the Mediterranean basin (Cabanellas-Reboredo *et al.*, 2019; Scarpa *et al.*, 2021), with an actual mortality of 99% of the populations in the open waters, leaving few internal lagoons where the population is still present. From late Spring 2018, the protozoan *Haplosporidium pinnae* sp. nov. (Catanese *et al.*, 2018), initially identified as the responsible for this tragic event, has already struck the thriving populations in the Gulf of Taranto (Tiscar *et al.*, 2022), while at Tremiti Islands Marine Protected Area, the presence of about 400 living specimens of *P. nobilis* was registered. These specimens resulted in healthy conditions, with a density of 2.19 ind./m², mainly settled within *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813 meadows, and no mortality events were observed (Chimienti, pers. comm.). Nevertheless, *H. pinnae* is not the only pathogen causing this mass mortality episodes in the Mediterranean Sea; Carella *et al.* (2019) described a mycobacterial disease involved in the pathogenesis of the mortality episodes; currently, the hypothesis is that the mass mortality events affecting *P. nobilis* might be explained by a multifactorial disease involving also other pathogens, such as *Vibrio* strains and *Perkinsus* sp. (Carella *et al.*, 2020; Scarpa *et al.*, 2021). After that, other Italian regions and Countries, like

Greece, Spain and Croatia, reported similar conditions (Scarpa *et al.*, 2021). Nowadays, observations of this phenomenon are also reported along Turkish coasts in the Sea of Marmara (Çinar *et al.*, 2021). The investigation on the mass mortality event affecting *P. nobilis* is now strengthened by specific monitoring programs based on the participation of citizens (Citizen Science surveys) and by a recent financed Mediterranean LIFE Project (LIFE PINNARCA LIFE20 NAT/ES/001265) involved in animal conservation. In the past, Citizen Science contributed to the modelling of the mass mortality events from Spanish coastal waters eastward, assuming that currents play a crucial role in the spread of the protozoan even with the absence of specific diagnosis for the haplosporidian parasite (Cabanellas-Reboredo *et al.*, 2019).

Materials and methods - The causes of mortality were investigated in two areas: the Mar Grande of Taranto and the Tremiti Islands MPA. Three moribund specimens of *P. nobilis* were collected from Mar Grande of Taranto (Fig. 1a) during the Summer 2018, when first evidence of mass mortality outbreaks occurred, while at Tremiti Islands MPA (Fig. 1b), mantle biopsies were performed on 4 asymptomatic individuals in July 2019 and a survey was carried out in late summer of the same year (Fig. 1b), to verify the health status of the populations. Following the results of this survey, four mantle biopsies were performed in September 2019 from moribund specimens (one of which already sampled in July), together with the collection of two whole individuals preserved for both light microscopy and molecular analysis.

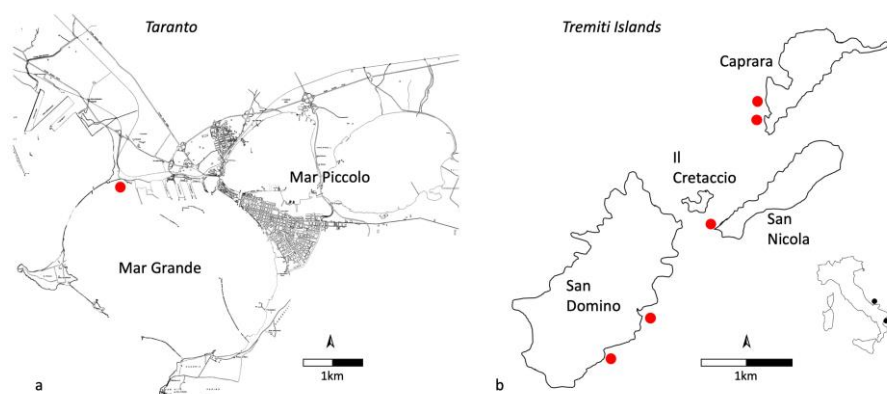


Fig. 1 - Maps of investigated areas: a) the red dot indicates the sampling site located in the Mar Grande of Taranto (August 2018); b) SCUBA diving locations at Tremiti Islands (September 2019).

Mappe delle aree di studio: a) il punto rosso indica il sito di campionamento nel Mar Grande di Taranto (agosto 2018); b) i siti di immersione alle Isole Tremiti (settembre 2019).

According to the methodology used by Tiscar *et al.* (2022), histopathological examination was performed on adductor muscle, mantle, gills and digestive gland. Only on fan mussel's samples from Taranto, cytological tests were performed on digestive gland smears. DNA from tissues from Taranto was extracted using the GenEx™ Blood, Cell, Tissue kit (GeneAll®), while for the samples from Tremiti the Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit was used. Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed using HapF1/HapR2 primers specific for rDNA of *Haplosporidium* spp. (Catanese *et al.*, 2018) and 16S rRNA of *Mycobacterium* (Carella *et al.*, 2019; Tiscar *et al.*, 2022). Obtained amplicons were sequenced (Eurofin Genomics, Germany). Beside this, since the Summer of 2018 a Citizen Science campaign (*SOS Pinna: la Subacquea aiuta la Ricerca*) was launched by CNR-IRSA of Taranto, covering the Northern Ionian Sea (Taranto's Mar

Grande and Mar Piccolo) and the Central Adriatic Sea (Abruzzo coasts) to collect data about the eventual mass mortality event affecting *P. nobilis*, while a similar activity was promoted by the Department of Biology of the University of Bari at the Tremiti Islands Marine Protected Area. Professional and amateur divers were invited to report the occurrence of *P. nobilis* specimens (dead, alive or moribund) during their SCUBA diving and snorkelling activities. The observations were carefully validated and integrated by expert scientists, when possible, with photographic evidence and complementary information (e.g., the type of substrate), to avoid mistakes as regards the species identification (the congeneric and very similar spiny fan mussel, *Pinna rudis* Linnaeus, 1758) and the health conditions of the specimens.

Results - The cytological analyses on moribund specimens from the Mar Grande (Summer 2018) revealed the presence of mononucleate and binucleate cells together with multinucleate plasmodial forms and sporocysts, i.e., structures typical of the infection by *Haplosporidium*. These findings were confirmed by the histological examination of organs where different developmental cell stages elements from digestive glands and mantles were found to be similar to those of *H. pinnae* described by Catanese *et al.* (2018). Moreover, amplicons obtained by PCR (290 bp; GenBank MK393389.1) showed high sequence homology (98%) with *H. pinnae*. An SSU rRNA 1.719 bp fragment was sequenced (GenBank MN104247.1) for future studies about the relationships existing between the different *Haplosporidium* spp. parasites. Molecular analyses also showed the presence of *Mycobacterium* (belonging to the *M. ulcerans*-*M. marinum* complex) in the Taranto samples. At Tremiti Islands, only one of the four samples (biopsies) collected from asymptomatic individuals in July 2019 resulted infected by *Mycobacterium* sp., while the other samples were all negative for the *Haplosporidium* diagnostic (Tab. 1).

Tab. 1 – Positive diagnostic results on *P. nobilis* specimens collected in 2018-2019.
Risultati diagnostici positivi su esemplari di P. nobilis raccolti nel 2018-2019.

		Taranto Summer 2018 whole individuals	Tremiti July 2019 mantle biopsies	Tremiti September 2019 whole individuals mantle biopsies
<i>Haplosporidium</i> sp.	Citology	3/3	not sampled	not sampled
	Histology	3/3	not sampled	1/2 ind 0/2 biopsies
	PCR	3/3	0/4	1/2 ind 3/4 biopsies
<i>Mycobacterium</i> sp.	Histology	0/3	not sampled	0/2 ind 2/2 biopsies
	PCR	3/3	1/4	0/2 ind 4/4 biopsies

The sequence analysis of *Mycobacterium* in Taranto, gave an identity of 100% in genebank with *M. sherrisi*, described by Carella *et al.* (2019). Following the results of the survey carried out in September 2019, when about 80% of the specimens were found dead, all the four mantle biopsies were positive for the same *Mycobacterium* sp., and three of them were infected with *H. pinnae*, including the specimen already sampled and resulted healthy in July. One of the two whole specimens collected resulted also infected by *H. pinnae* (the histological analysis showed the presence of its initial plasmodium phase, with scarce infiltrative inflammation), while none of them was positive to the mycobacteriosis. Many notifications of dead specimens were registered in Taranto area; during the first months of the citizen science campaign, approximately

100 reports arrived from different parts of the Mediterranean (*i.e.*, Greece, Slovenia, Tunisia) as well as from many regions of Italy. Most of these referred to dead individuals; anyway, a notable number of notifications about living fan mussels were registered in the same period. At date, sporadic findings of living specimens are being received from Apulia, Sicily, and Abruzzo. At the moment, no *P. nobilis* mass mortality events were observed along the Abruzzo coasts, probably due to the low number of specimens observed.

Conclusions - *Mycobacterium* belonging to different species, both demonstrated to be highly pathogenic for other animals and humans, and *Haplosporidium* might have been involved in the mortality events of *P. nobilis* in the studied areas, supporting the hypothesis of a multifactorial disease (Carella *et al.*, 2020; Scarpa *et al.*, 2021). The citizen science approach was crucial to identify the mass mortality events of *P. nobilis* as soon as the occurrence in both Ionian and Adriatic Sea. Further involvement of the citizens can surely help scientists to find surviving individuals of *P. nobilis* for conservation purposes, as well as to monitor the spread of the mass mortality event into new areas.

References

- CABANELLAS-REBOREDO M., VÁZQUEZ-LUIS M., MOURRE B., ÁLVAREZ E., DEUDERO S., AMORES Á., ADDIS P., BALLESTEROS E., BARRAJÓN A., COPPA S., GARCÍA-MARCH J.R., GIACOBBE S., GIMÉNEZ CASALDUERO F., HADJIOANNOU L., JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ S.V., KATSANEVAKIS S., KERSTING D., MAČIĆ V., MAVRIČ B., PATTI F.P., PLANES S., PRADO P., SÁNCHEZ J., TENA-MEDIALDEA J., DE VAUGELAS J., VICENTE N., BELKHAMSSA F.Z., ZUPAN I., HENDRIKS I.E. (2019) - Tracking a mass mortality outbreak of pen shell *Pinna nobilis* populations: a collaborative effort of scientists and citizens. *Sci. Rep.*, **9**: 13355.
- CARELLA F., ACETO S., POLLARO F., MICCIO A., IARIA C., CARRASCO N., PRADO P., DE VICO G. (2019) - A mycobacterial disease is associated with the silent mass mortality of the pen shell *Pinna nobilis* along the Tyrrhenian coastline of Italy. *Sci. Rep.*, **9**: 2725.
- CARELLA F., ANTUOFERMO E., FARINA S., SALATI F., MANDAS D., PRADO P., PANARESE R., MARINO F., FIOCCHI E., PRETTO T., DE VICO G. (2020) - In the wake of the ongoing mass mortality events: co-occurrence of *Mycobacterium*, *Haplosporidium* and other pathogens in *Pinna nobilis* collected in Italy and Spain (Mediterranean Sea). *Front. Mar. Sci.*, **7**: 48.
- CATANESE G., GRAU A., VALENCIA J.M., GARCÍA-MARCH J.R., VÁZQUEZ-LUIS M., ÁLVAREZ E., DEUDERO S., DARRIBA S., CARBALLAL M.J., VILLALBA A. (2018) - *Haplosporidium pinnae* sp. nov., a haplosporidan parasite associated with mass mortalities of the fan mussel, *Pinna nobilis*, in the Western Mediterranean Sea. *J. Invertebr. Pathol.*, **157**: 9-24.
- ÇINAR M.E., BİLECENOĞLU M., YOKEŞ M.B., GÜÇLÜSOY H. (2021) - The last fortress fell: mass mortality of *Pinna nobilis* in the Sea of Marmara. *Mediterr. Mar. Sci.*, **22** (3): 669-676.
- SCARPA F., SANNA D., AZZENA I., COSSU P., CASU M. (2021) - From dark to light and back again: is *Pinna nobilis*, the largest Mediterranean bivalve, on the brink of extinction? *Veterinaria*, **70** (1): 1-14.
- TISCAR P.G., RUBINO F., PAOLETTI B., DI FRANCESCO C.E., MOSCA F., DELLA SALDA L., HATTAB J., SMOGLICA C., MORELLI S., FANELLI G. (2022) - New insights about *Haplosporidium pinnae* and the pen shell *Pinna nobilis* mass mortality events. *J. Invertebr. Pathol.*, **190**: 1-12.
- VÁZQUEZ-LUIS M., ÁLVAREZ E., BARRAJÓN A., GARCÍA-MARCH J.R., GRAU A., HENDRIKS I.E., JIMÉNEZ S., KERSTING D., MORENO D., PÉREZ M., RUIZ J.M., SÁNCHEZ J., VILLALBA A., DEUDERO S. (2017) - S.O.S. *Pinna nobilis*: a mass mortality event in Western Mediterranean Sea. *Front. Mar. Sci.*, **4**: 220.

This study benefited from funding by Ente Parco Nazionale del Gargano (Research agreement with CoNISMa N. 22/2018) and the Port Authority of Taranto (Project RiPinTA - Relocation of *Pinna nobilis* in Taranto seas).

E. GRAZIOLI¹, L. BARONE², L. MORUZZI³, T. GRANATA³, F. MASSARA⁴, M. RENZI^{1,5}

¹Bioscience Research Center, Orbetello (GR), Italia.

²Poliservizi, Roma, Italia.

³Centro Elettrotecnico Sperimentale Italiano "Giacinto Motta" CESI, Milano, Italia.

⁴Terna Rete Italia, Roma, Italia.

⁵Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste, Italia.

mrenzi@units.it

SEGNALAZIONE DI MARINE LITTER DURANTE LE CAMPAGNE DI RILIEVO EFFETTUATE NEL GOLFO DI NAPOLI (MAR TIRRENO, MAR MEDITERRANEO ORIENTALE)

MARINE LITTER RECOVERIES DURING SURVEYS PERFORMED IN THE GULF OF NAPLES (THYRRENIAN SEA, EASTERN MEDITERRANEAN SEA)

Abstract - This study represents the first scientific analysis of marine debris records collected during geophysical and ROV surveys in the Gulf of Naples. We collected and analyzed data to paint a picture of marine debris (including macroplastics) along the surveyed sections. Along a total length of 47.25 NM (2-497 m depth), 0.30 objects/100 m² and 0.04 objects/100 m² were found to be contaminated with marine litter between Sorrento-Capri and Cuma-Ischia, respectively. The main source of marine litter is fishing gear (>40%), while the highest number of objects was found near Capri (#=19).

Key-words: marine litter, ROV surveys, marine pollution, MSFD.

Introduzione - La Marine Strategy Framework Directive (MSFD 2008/56/EC), ha inserito nel 2008 il *marine litter* tra gli undici descrittori utilizzati per valutare la qualità dell'ambiente marino. Tuttavia, le campagne di acquisizione dati in mare sono dispendiose dal punto di vista sia economico che umano e, ad oggi, i dati sulla sua distribuzione nei fondali marini non sono esaustivi. Per questo motivo, l'utilizzo dei rilievi geofisici e dei video ROV acquisiti nel corso delle caratterizzazioni ambientali dovute per legge, rappresentano un'opportunità importante per ottenere informazioni sulla distribuzione dei rifiuti plastici nei fondali. Il Golfo di Napoli è delimitato dalla penisola di Sorrento e dall'isola di Capri a Sud, da Capo Miseno e dalle Isole di Ischia e Procida a Nord. Bocca Grande è caratterizzata dai canyon Magnaghi (a Nord) e Dohrn (a Sud) che raggiungono profondità fino a 800 m (Canals *et al.*, 2013). La struttura geomorfologica e la grande pressione antropica rendono il Golfo di Napoli un sito di grande interesse scientifico per lo studio del *marine litter* (Mordecai *et al.*, 2011), soprattutto considerati i numerosi fattori che guidano la circolazione superficiale e profonda (Cianelli *et al.*, 2015). Sfruttando i dati di campagne di caratterizzazione ambientale precedenti è stato possibile valutare la presenza e la distribuzione del *marine litter* nei fondali marini compresi tra Capri, Sorrento, Castellamare di Stabia, Torre Annunziata e tra Ischia e Cuma. I dati di abbondanza per unità di superficie di *marine litter* sono stati ottenuti dall'analisi *post-processing* dei rilievi geofisici e dei video ROV acquisiti da "Terna Rete Italia" nell'ambito di campagne di caratterizzazione dei fondali marini effettuate a norma di legge (D.M. 1996, periodo 2011-2018) per ottenere il rilascio delle autorizzazioni alla posa di due cavi sottomarini. I progetti di riferimento riguardano l'attività "Interconnessione delle Isole Campane alla rete Nazionale di trasmissione a corrente alternata (150 kV)".

Materiali e metodi – I rilievi sono stati condotti dopo mappatura del fondale con ecoscandaglio *Multibeam* e *Side Scan Sonar*; in seguito, sono stati condotti transetti video mediante l'utilizzo di *Remotely Operated underwater Vehicle* (ROV; Fig. 1).

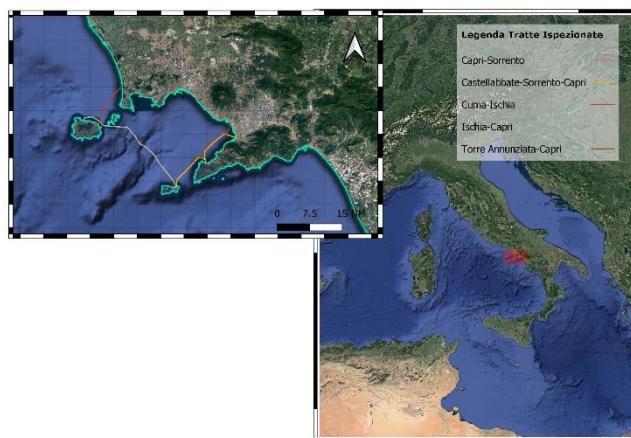


Fig. 1 - Identificazione dell'area geografica indagata (Map data ©2019 Google).
Geographical area of investigation (Map data ©2019 Google).

Lungo il percorso dei video-transetti gli oggetti individuati in precedenza, mediante le ispezioni geofisiche, sono stati verificati visivamente da tre biologi marini esperti in *litter* che hanno operato in modo disgiunto. I veicoli ROV sono stati equipaggiati di *video overlay* con sovrapposizione di profondità, bussola, coordinate geografiche e dati di navigazione, inoltre sono stati dotati di sistemi di controllo di rollio e beccheggio, videocamera a colori con sensori per la visione a basse luminosità (7 lux minimo di intensità). Le riprese video sono state condotte ad una velocità di crociera costante (velocità massima di crociera <1 nodo) lungo cinque tracciati principali (Tab. 1).

Tab. 1 - Tratte considerate e nomenclatura attribuita.
Sections considered and nomenclature attributed.

N°	Tratta	Nomenclatura	Lunghezza transetto (NM)
1	Torre Annunziata – Capri	TACA	18,00
2	Capri – Sorrento	CAPSOR	8,50
3	Castellabate – Sorrento – Capri	CASORCAP	18,00
4	Cuma – Ischia	CUIS	9,00
5	Ischia – Capri	ISCAP	26,00

L'indagine ha interessato l'identificazione di *macro-litter*, visibile ad occhio nudo dall'operatore, secondo tecniche di *visual census*. Le indagini si sono concentrate inizialmente sulla verifica dell'entità e della tipologia di oggetti identificati con le tecniche geofisiche, successivamente sono stati registrati gli oggetti di minori dimensioni rilevabili solo dall'osservazione video. Ogni operatore ha registrato e classificato gli oggetti identificati in dodici categorie standard (Tab. 2).

Tab. 2 - Categorie standard per la classificazione del *macro-litter* identificato.
Standardized categories of macro-litter identified along transects.

N°	Categorie	N°	Categorie
1	Rete a strascico	7	Ormeggio
2	Rete da pesca	8	Copertone
3	Nassa	9	Lattina (generiche)
4	Cima	10	Vetro
5	Boa	11	Reperto archeologico
6	Oggetto in plastica	12	Oggetto non identificato (N.I.)

L'origine di tali categorie è stata poi attribuita a quattro macroaree, in base alla natura stessa del *litter* (Tab. 3), in caso di ambiguità (es. cime) gli oggetti sono stati equamente distribuiti tra le stesse.

Tab. 3 - Macroaree di origine considerate.

Macro-areas of origin considered.

N°	Categorie
1	Pesca
2	Diportismo
3	Archeologia
4	Relitto
5	Oggetto non Identificato (N.I)

Risultati – In totale sono stati video ispezionati 47,25 NM lineari di fondale marino (trasetti multipli di lunghezza variabile tra 8÷15 NM ciascuno). La profondità media indagata varia al variare della tratta considerata: tra Cuma e Ischia sono state svolte indagini tra 2 e 83 m di profondità (48 m media di crociera), mentre tra Torre Annunziata e Capri, considerando anche gli approdi di Castellabate e Sorrento, sono stati visionati fondali tra 4 e 117 m (78 m media di crociera). Il transetto che collega le isole di Ischia e Capri ha altresì indagato profondità media di 123 m poiché condotto tra 3 e 497 m. L'analisi quantitativa ha evidenziato la presenza di 153 oggetti, eterogeneamente distribuiti nelle tratte considerate. Il tratto di mare compreso tra Sorrento porto e Marina Grande (Capri) è risultato il più interessato dal fenomeno del *litter* con 90 record totali (0,30 oggetti/100 m²), mentre nella tratta più settentrionale, tra Cuma ed Ischia, sono stati identificati 12 oggetti (0,04 oggetti/100 m²). Lungo il tracciato effettuato tra le Isole di Ischia e Capri gli operatori hanno rilevato 8 oggetti tra i 5 ed i 75 m di profondità (0,008 oggetti/100 m²). L'analisi qualitativa degli oggetti ha messo in evidenza una forte influenza della nautica da diporto per la dispersione del *macro-litter* (Tab. 4).

Tab.4 - Origine indagata del *litter* identificato (% oggetti/totale).

Origin of the identified litter investigated (% objects/total).

N°	Categorie	TACA	CAPSOR	CASORCAP	CUIS	ISCAP
1	Pesca	23	43	100	42	13
2	Diportismo	23	48	/	58	50
3	Archeologia	27	1	/	/	/
4	Relitto	12	1	/	/	/
5	Oggetto non Identificato (N.I)	15	7	/	/	38

Considerato il totale dei 135 oggetti identificati la maggiore influenza è rappresentata da quelli derivanti dagli attrezzi da pesca (45%) e dalla nautica da diporto (39%). Una parte minore è rappresentata da resti archeologici (6%) e da relitti (3%). Tra gli attrezzi provenienti dal settore pesca le cime sono gli oggetti più diffusi (36%; Fig. 2) seguiti da reti fantasma (26%; Fig. 3) e nasse (18%; Fig. 4).



Fig. 2 - Cime adagiate sul fondale rinvenute durante la campagna di indagine.

Ropes lying on the seabed found during the survey.



Fig. 3 - Reti fantasma rinvenute durante la campagna di indagine.
Fish net abandoned found during the survey.



Fig. 4 - Nasse abbandonate sul fondale rinvenute durante la campagna di indagine.
Fish trap abandoned on the seabed found during the survey.

Conclusioni - Questo studio rappresenta la prima restituzione nota dei dati riguardanti il *marine litter* profondo per la Penisola di Sorrento. La presenza nei siti costieri, come per Marina Grande (Capri), di gran quantità di oggetti (#=19) con una diminuzione dell'abbondanza all'aumentare della distanza dalla costa suggerisce l'influenza da parte delle attività umane in area costiera. L'abbondanza di 0,04 oggetti/100 m² aumenta di circa tre volte sotto costa (0,11 oggetti/100 m²) nel tratto Cuma-Ischia, dato questo in accordo con quanto riscontrato in letteratura (Alomar *et al.*, 2020). Quanto osservato suggerisce che le correnti presenti nel Golfo di Napoli (Cianelli *et al.*, 2015) non sono in grado di trasportare a notevole profondità il materiale localizzato vicino alla costa. Sebbene con alcuni limiti tecnici specifici, i risultati ottenuti valorizzano l'utilizzo di dati acquisiti dalle campagne di indagine ambientale per la definizione dei livelli di base di *marine litter* in sistemi costieri e profondi.

Bibliografia

- ALOMAR C., COMPA M., DEUDERO S., GUIJARRO B. (2020) – Spatial and temporal distribution of marine litter on the seafloor of the Balearic Islands (western Mediterranean Sea). *Deep-Sea Res. Pt. I*, **155**: 103178.
- CANALS M., COMPANY J.B., MARTÍN D., SÀNCHEZ-VIDAL A., RAMÍREZ-LLODRÀ E. (2013) - Integrated study of Mediterranean deep canyons: novel results and future challenges. *Prog. Oceanogr.*, **118**: 1-27.
- CIANELLI D., FALCO P., IERMANO I., MOZZILLO P., UTTIERI M., BUONOCORE B., ZAMBARDINO G., ZAMBIANCHI E. (2015) - Inshore/offshore water exchange in the Gulf of Naples. *J. Marine Syst.*, **145**:37-52.
- MORDECAI G., TYLER P.A., MASSON D.G., HUVENNE V.A.I. (2011) - Litter in submarine canyons off the west coast of Portugal. *Deep-Sea Res. Pt. II*, **58** (23-24): 2489-2496.

C. MANFRIN¹, S. CIRIACO², M. SEGARICH², M. FIORAVANTI³, P. TEDESCO³,
D. FLORIO³, F. CARELLA⁴, P.G. GIULIANINI¹, A. TERLIZZI^{1,5,6},
A. PALLAVICINI^{1,6}, M. SPOTO²

¹Dipartimento di Scienze della Vita (DSV), Università di Trieste, Italy.

²WWF AMP Miramare, Trieste, Italy.

³Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Italy.

⁴Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II, Italy.

⁵CoNiSma, Roma, Italy.

⁶Stazione Zoologica Anton Dohrn, Dipartimento di Ecologia Marina Integrata, Napoli, Italy.

cmanfrin@units.it

FIRST DETECTION OF *HAPLOSPORIDIUM PINNAE* (HAPLOSPORIDA) IN *PINNA NOBILIS* INHABITING THE GULF OF TRIESTE

PRIMO RILEVAMENTO DI *HAPLOSPORIDIUM PINNAE* (HAPLOSPORIDA) IN *PINNA NOBILIS* DEL GOLFO DI TRIESTE

Abstract - Recently, a mass mortality of specimens of *Pinna nobilis* occurred in the Gulf of Trieste. Molecular analyses revealed that the samples examined were positive for the cryptogenic parasite *Haplosporidium pinnae*, confirming its arrival in the northernmost Adriatic Sea. The co-occurrence of *Mycobacterium* was also confirmed by molecular analyses. Continuous monitoring is being conducted in an attempt to identify possible factors influencing the development of the disease and to take measures to prevent its spread. The most recent molecular surveillance of juveniles found dead in 2022 excluded *H. pinnae* infestation as a cause of death. Currently, non-invasive molecular and genetic analyses are being developed to monitor live specimens in the Gulf of Trieste, which will serve as promising baseline material for *H. pinnae* outbreak control.

Key-words: *Haplosporidium pinnae*, *Mycobacterium sp.*, Gulf of Trieste, *Pinna nobilis*, Northern Adriatic Sea.

Introduction - The fan mussel, *Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758), is the largest bivalve found in the Mediterranean Sea, occurring mainly in the infralittoral plain on sandy or rocky substrates. The importance of this species is related to its role as habitat creator and ecosystem engineer, as a natural filter of seawater, and to the symbiotic relationships that develop between the bivalve and some decapod crustaceans; by retaining large amounts of organic matter from suspended sediments, it contributes to water clarity, and its surfaces are extensively colonized, increasing the number of benthic species and specific local richness. This species has long been threatened by marine pollution, which affects the development of its larval stages, and by illegal collection (Maeder, 2008). Recently, populations of *P. nobilis* have declined sharply (Basso *et al.*, 2015), leading to the inclusion of this species as one of the protected species in the EU Habitat Directive (92/43/EEC, Annex IV), in the Protocol on Protected Areas and Biological Diversity in the Mediterranean of the Barcelona Convention (Annex II), and in the national legislation of many Mediterranean countries (Katsanevakis *et al.*, 2019). Since 2016, significant mortalities of *P. nobilis* have been reported (Cabanellas-Reboredo *et al.*, 2019) due to a protozoan of the genus *Haplosporidium* later named *Haplosporidium pinnae* (Catanese *et al.*, 2018), which is supposed to be an alien species introduced at that time (Katsanevakis *et al.*, 2019). In December 2019, *P. nobilis* status on the IUCN Red List was raised to Critically Endangered. The survival of fan mussel populations depends heavily on the survival of adults that reproduce. Currently, with almost a total of fan mussel adults decimated by this outbreak, the phenomenon of hermaphroditism and low and uneven recruitment rates make population recovery difficult and unlikely. The Marine Protected Area (MPA) of Miramare

(Trieste, Italy), in collaboration with the regional agency for environmental protection (ARPA), the Friuli Venezia Giulia (FVG) region and the main local and national research institutes, has initiated a special monitoring to verify the health status in the marine area and in general in the waters of the FVG region. Results of the ongoing monitoring are here presented.

Materials and methods - As part of the monitoring activities of MPA Miramare for the whole of 2019, a fortnightly monitoring was carried out; the protocol used required a pair of divers to check the health and reactivity of 100 specimens at a time. Reactivity was recorded when the diver approached and mechanical stimulus by percussion of the valves with a metal rod was recorded. 18 dead adult specimens were taken to the Laboratory of Applied and Comparative Genomics of the University of Trieste for molecular analyses and further 11 specimens were sent to the Laboratory of Ichthiopathology of the Department of Veterinary Sciences of the University of Bologna for histological and microbiological examinations. In 2022, 11 juveniles were found dead in the same area and analyzed by the same procedure as the specimens found in 2019. Each specimen was photographed and measured, some parts of the mantle were removed and kept in ethanol for subsequent DNA extraction or fixed (2.5% glutaraldehyde, 0.8% paraformaldehyde, 7.5% picric acid saturated in water, 1.5% sucrose, in 0.15 M PBS, pH 7.4) and placed in Embed812 / Araldite for cytological analyzes. DNA was extracted using EZNA Mollusc Kit (Omega Bio-tek) and a region of *Haplosporidium pinnæ* SSU rDNA was amplified using the Hp3 primer system presented in López-Sanmartín *et al.* (2019). The same samples were also amplified with primers, which amplify a 620 bp segment of *Mycobacterium* spp. 16S rRNA (Böddinghaus *et al.*, 1990). PCR amplifications were performed in quantitative PCR (qPCR) (CFX96, Bio Rad), with three technical replicates for each sample. Two positive samples, consisting of *H. pinnæ*-positive *P. nobilis* DNA and *Mycobacterium* sp.-positive *P. nobilis* DNA, were amplified at each PCR to always have positive comparison controls. Three technical replicates of water were used as negative samples to exclude possible environmental contamination. Each PCR reaction was performed using the following final concentrations for each reagent: AccuStart II PCR ToughMix Reagent 1X (Quantabio), 0.3 µM of each primer, Eva Green 1X (Biotium), extracted DNA at concentrations of 200-700 ng/µL). The thermal profile applied: 94° C for 2', 42 cycles at 94° C for 10", 60° C for 30" and 72° C for 30". Three µL of each PCR were run on a 1.5% agarose electrophoresis gel containing 1X GelRed (Biotium). The remaining reaction volume was purified using Omega Mag-Bind® TotalPure NGS Beads for DNA Size Selection and sent to an external Sanger sequencing center (Eurofins, Germany). Further analysis was performed to confirm the SSU rDNA region of *H. pinnæ*. Indeed, it contains a restriction site recognized by the enzyme SalI, which cuts the amplified fragment into two fragments of 356 and 709 bp, respectively. Digestion reactions with SalI (NEB) were performed according to the manufacturer's instructions with a digestion time of 1 hour at 37 °C.

Results - As part of the monitoring, conducted within the boundaries of MPA, 3200 specimens were analyzed from March to Oct. 27, 2019, the date of the first record of a mass mortality. The PCR products obtained in qPCR were amplified at a cycle range between 21.6 and 39.4, and the *H. pinnæ*- and *Mycobacterium* sp.-positive samples were amplified at cycle 31 and 39, respectively. Agarose gel of samples tested for *H. pinnæ* immediately revealed the presence of a band of approximately 1 kb in all

samples and heterogeneous bands of varying lengths from 800 to 150 bp. This initial finding was in contrast to the reference work (López-Sanmartín *et al.*, 2019), which reported that the published primers amplify for a 165 bp amplicon. We then verified *in silico* by alignment with MEGA7 software selected sequences belonging to *H. pinnae* (GenBank IDs: LC338065, MK163629, MK393389, MK142774-9) and to other species *Haplosporidium littoralis* (JX185413), *Haplosporidium costale* (KC578010), *Haplosporidium tuxtlensis* (JN368430), *Haplosporidium patagon* (KJ534587I) and primers published by López-Sanmartín *et al.* (2019). Alignment showed that the published primers did not amplify a 165 bp fragment, but amplified 1065 bp region. This finding led to an Erratum of the paper. When we then returned to the gel electrophoresis results, we focused on the presence of the 1 kb band in each sample analyzed, which corresponds to the actual product that can be amplified by the primer system used. The PCRs were purified and sent to an external Sanger sequencing center (Eurofins, Germany). The chromatograms obtained were found to be of good quality, and similarity tests (BLASTn, database redundant and to taxid 31295 corresponding to *Haplosporidium*) identified the sequenced amplicons as *Haplosporidium pinnae* with a similarity of 99% (E-value: 0.0). For further verification, the PCR products were digested with the restriction enzyme SalI and checked on an electrophoretic gel to see the digestion results. The two fragments obtained for each sample tested corresponded to the expected lengths for the 18S fragment of *H. pinnae*. The PCRs obtained with the Mycobacterium system were consistent with the expected size. Eleven juvenile found dead in the same area in 2022 did not result positive for *H. pinnae*, indicating other reasons at the basis of their recent death.

Conclusions - The analyses performed confirm the presence of *H. pinnae* in the specimens collected by MPA Miramare at different stations in the Gulf of Trieste in 2019, but this data is not confirmed on samples collected in 2022. The molecular studies aimed at detecting *Mycobacterium* sp. confirm its presence, in agreement with recent scientific literature highlighting the concurrent presence of *H. pinnae* and *Mycobacterium* sp. in *P. nobilis* (Carella *et al.*, 2020), but the corresponding cytological and histological validations are still ongoing. The planned monitoring aims to assess mortality rates of fan mussels, especially in light of the upcoming temperature increase due to the onset of spring. Cytological analyses and assessments of the most resilient individuals are underway. It is of primary urgency having tools aiming at the rapid detection of pathogens of *P. nobilis*, in order to have rapid confirmation or denial of pathogens presence. It is of utmost urgency to identify populations with natural resistance in order to determine the factors that influence the development of the disease and to implement measures to prevent its spread.

References

- BASSO L., VÁZQUEZ-LUIS M., GARCÍA-MARCH J.R., DEUDERO S., ALVAREZ E., VICENTE N., DUARTE C.M., HENDRICKS I.E. (2015) - The pen shell, *Pinna nobilis*: a review of population status and recommended research priorities in the Mediterranean Sea. *Adv. Mar. Biol.*, **71**: 109-160.
- BÖDDINGHAUS B., ROGALL T., FLOHR T., BLÖCKER H., BÖTTGER E.C. (1990) - Detection and identification of *Mycobacteria* by amplification of rRNA. *J. Clin. Microbiol.*, **28** (8): 1751-1759.
- CABANELLAS-REBOREDO M., VÁZQUEZ-LUIS M., MOURRE B., ÁLVAREZ E., DEUDERO S., AMORES Á., ADDIS P., BALLESTEROS E., BARRAJÓN A., COPPA S., GARCÍA-MARCH J.R., GIACOBBE S., GIMÉNEZ CASALDUERO F., HADJIOANNOU L., JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ S.V., KATSANEVAKIS S., KERSTING D., MAČIĆ V., MAVRIČ B., PATTI F.P., PLANES S., PRADO P., SÁNCHEZ J., TENA-MEDIALDEA J., DE VAUGELAS J., VICENTE N., BELKHAMSSA F.Z., ZUPAN I., HENDRIKS I.E. (2019) - Tracking a mass mortality outbreak of pen shell *Pinna nobilis* populations: a collaborative effort of scientists and citizens. *Sci. Rep.*, **9**: 13355.

- CARELLA F., ANTUOFERMO E., FARINA S., SALATI F., MANDAS D., PRADO P., PANARESE R., MARINO F., FIOCCHI E., PRETTO T., DE VICO G. (2020) - In the wake of the ongoing mass mortality events: co-occurrence of *Mycobacterium*, *Haplosporidium* and other pathogens in *Pinna nobilis* collected in Italy and Spain (Mediterranean Sea). *Front. Mar. Sci.*, **7**: 48.
- CATANESE G., GRAU A., VALENCIA J.M., GARCÍA-MARCH J.R., VÁZQUEZ-LUIS M., ÁLVAREZ E., DEUDERO S., DARRIBA S., CARBALLAL M.J., VILLALBA A. (2018) - *Haplosporidium pinnae* sp. nov., a haplosporidan parasite associated with mass mortalities of the fan mussel, *Pinna nobilis*, in the Western Mediterranean Sea. *J. Invertebr. Pathol.*, **157**: 9-24.
- KATSANEVAKIS S., TSIRINTANIS K., TSAPARIS D., DOUKAS D., SINI M., ATHANASSOPOULOU F., KOLYGAS M.N., TONTIS D., KOUTSOUBAS D., BAKOPOULOS V. (2019) - The cryptogenic parasite *Haplosporidium pinnae* invades the Aegean Sea and causes the collapse of *Pinna nobilis* populations. *Aquat. Invasions*, **14** (2): 150-164.
- LÓPEZ-SANMARTÍN M., CATANESE G., GRAU A., VALENCIA J.M., GARCÍA-MARCH J.R., NAVAS J.I. (2019) - Real-Time PCR based test for the early diagnosis of *Haplosporidium pinnae* affecting fan mussel *Pinna nobilis*. *PLoS ONE*, **14** (2): e0212028.
- MAEDER F. (2008) - Sea-silk in Aquincum: first production proof in antiquity. In: Alfaro C., Karali L. (eds), *Purpureae Vestes II. Vestidos, textiles y tintes. Estudios sobre la producción de bienes de consumo en la antigüedad*. Universitat de Valencia: 109-118.

M. PACINI¹, A. BONIFAZI¹, J. GIAMPAOLETTI¹, E. CASOLI²,
G. MANCINI², T. VALENTE^{2,3}, D. VENTURA²

¹Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", Italy.

²Dipartimento di Biologia Ambientale ed Evoluzionistica Università di Roma "La Sapienza", Italy.

³ISPRA, Roma, Italy.

daniele.ventura@uniroma1.it

PRELIMINARY DATA CONCERNING MICROPLASTIC CONTAMINATION AMONG JUVENILE FISH OF SPARID SPECIES: EVIDENCE FROM GUT CONTENTS ANALYSIS

RISULTATI PRELIMINARI RIGUARDANTI L'INQUINAMENTO DA MICROPLASTICHE NEI GIOVANILI DI SPARIDI: PRIME PROVE DERIVANTI DALL'ANALISI DEI CONTENUTI STOMACALI

Abstract - A total of 216 individual of four juvenile fish sparid species (*Sarpa salpa*, *Diplodus sargus*, *D. puntazzo*, *D. vulgaris*) were examined for ingested microplastics (MPs). A total of 194 MPs were found. MPs were recovered from the gut content of all the examined species. The frequency of occurrence of ingested MPs was 51% in juveniles and *D. puntazzo* showed the highest frequency of microplastic ingestion (89%). Microplastic abundance ranged from 1.6–2.5 items/individual. Fibres were the most common morphotypes of plastics (91%), and most of them were black and blue. Such MPs possibly came from textile remains which have been entangled among the algae occurring on the sea-bottom where the juveniles fed. Results can be used to set baseline levels for the assessment of microplastic pollution in nursery areas of the Tyrrhenian Sea.

Key-words: MPs, nursery areas, juvenile fish, Sparidae, Central Tyrrhenian Sea.

Introduction - By plastics we mean synthetic organic polymers that derive from the polymerization of monomers extracted from non-renewable resources such as crude oil, coal and natural gas (Cole *et al.*, 2011). To date, global plastics production is estimated at around 300 million tons per year, and is steadily increasing. As a direct consequence of the massive use of plastics in modern society, plastic waste is accumulating around urbanized areas and often ends up in waterways where it is eventually transported to the sea. Indeed, despite plastic being an internationally recognized type of pollution, it is estimated that up to 10% of the plastics produced end up in the marine environment, where they can accumulate and persist for centuries, making their remediation one of the greatest challenges for the human being (Oliveira *et al.*, 2013). Microplastics (MPs) come from a wide variety of sources and can be classified as: 1) primary, *i.e.* all plastic fragments or particles which, before entering the environment, already have dimensions equal to or less than 5 mm. These include clothing microfibers, microspheres, and plastic pellets; 2) secondary, *i.e.* small pieces resulting from the fragmentation and degradation of larger objects, both at sea and on land, due to ultraviolet radiation, physical agents and hydrolysis (Lönnstedt and Eklöv, 2016). Despite their resistance, plastic objects generally fragment in the aquatic environment, and mainly along the coastal stretches, where hydrodynamism is intense (Andrady, 2011). Debris of plastic origin were found in the benthic and pelagic habitats of all oceans, and even in remote locations such as the Arctic, the Southern Ocean and the abyssal plains (Eerkes-Medrano *et al.*, 2015). The interactions of plastics with biota are relatively well known but the effects of small plastic particles (*i.e.*, plastic debris with the size of 1–5000 µm) becoming available for a wide range of organisms, both in the planktonic and

benthic domain, have only recently been investigated (Oliveira *et al.*, 2013). The accumulation of MPs could affect the functioning of marine organisms and ecosystems; however, the mechanisms by which such effects will occur have not yet been identified (Lönnstedt and Eklöv, 2016). This aspect is particularly effective for juvenile stages of many coastal fish species which are particularly vulnerable as they are subjected to strong natural selection, often mediated by anti-predatory behaviors which are in turn connected to other complex ecological factors, such as swim capabilities, feeding habits, and growth (Lönnstedt *et al.*, 2012).

Materials and methods - The samplings were carried out along the eastern coast of the Giglio Island (Tuscany Archipelago, Italy; 42.348676 N, 10.925042 E). This stretch of coast is highly heterogeneous, with the alternation of rocky promontories and cliffs, pebble coves, artificial structures and beaches. This environmental variability was considered a good indicator for the presence of nursery areas ideal for sampling sparid juveniles. Five nursery areas were considered: Cala Cupa, Cala Ficaia, Capo Marino, Caldane and Torricella. The samplings were carried out from the beginning of February to the end of June 2018, during the settlement periods of the four studied species: *Sarpa salpa* (Linnaeus, 1758), *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758), *D. puntazzo* (Walbaum, 1792), *D. vulgaris* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817). The samplings were performed by means a beach seine with a 0.5 mm mesh size. To detect the MPs, the fish were immediately frozen. In the laboratory, the fishes were first measured; then, they underwent dissection and extraction of the digestive system. By using a stereomicroscope, the stomach contents of the juveniles were analyzed, then the MPs, separated from the rest of the organic content, were counted and classified according to the shape (filament, fragment, sheet, foam, granule and pellet) and color (white, black, red, blue, green, other color), as recommended within the 2008/56/EC Marine Strategy Framework Directive. Specific precautions to avoid secondary contamination of the samples were adopted such as the use of nitrile gloves and 100% cotton laboratory coat other than cleaning the working surface area with 70% ethanol prior to starting the analysis.

Results - The total number of individuals sampled was 216, of which 51% were found to have ingested MPs. A total of 194 MPs were found in the stomach contents of juveniles of all four species (Tab. 1). The highest numbers of MPs per individual were found in *Diplodus puntazzo* (2.5 ± 0.69 items/individual) and in *Sarpa salpa* (1.86 ± 0.15 items/individual). *D. sargus* and *D. vulgaris* juveniles showed a lower abundance of ingested MPs with 1.17 ± 0.12 and 1.06 ± 0.07 items/individual, respectively.

Tab. 1 - Total number of juveniles and number of MPs for species.

Numero totale di individui e numero di microplastiche per specie.

Species	N° Individuals	N° Individuals with MPs (%)	Total number of MPs
<i>Sarpa salpa</i>	131	63 (48%)	119
<i>Diplodus sargus</i>	30	12 (40%)	12
<i>Diplodus puntazzo</i>	19	17 (89%)	44
<i>Diplodus vulgaris</i>	36	18 (50%)	19
Total	216	110 (51%)	194

The MPs found in the stomach contents of juveniles showed diverse morphologies: filaments, microbeads and fragments of various shapes (Fig. 1). The clearly more abundant MPs present in all four juvenile species belonged to the filamentous form (176 filaments, corresponding to 91% of the total MPs), followed by microbeads (11), while only 7 MPs were found at fragment shape. The different types of MPs were also diversified according to color. Among the filaments, the black and blue colors were clearly the most abundant (respectively 33% and 31%); otherwise, the microbeads resulted only in transparent and white colors, equally represented as a percentage; finally, the fragments, although found in low numbers, presented a wide chromatic diversification (Fig. 1).

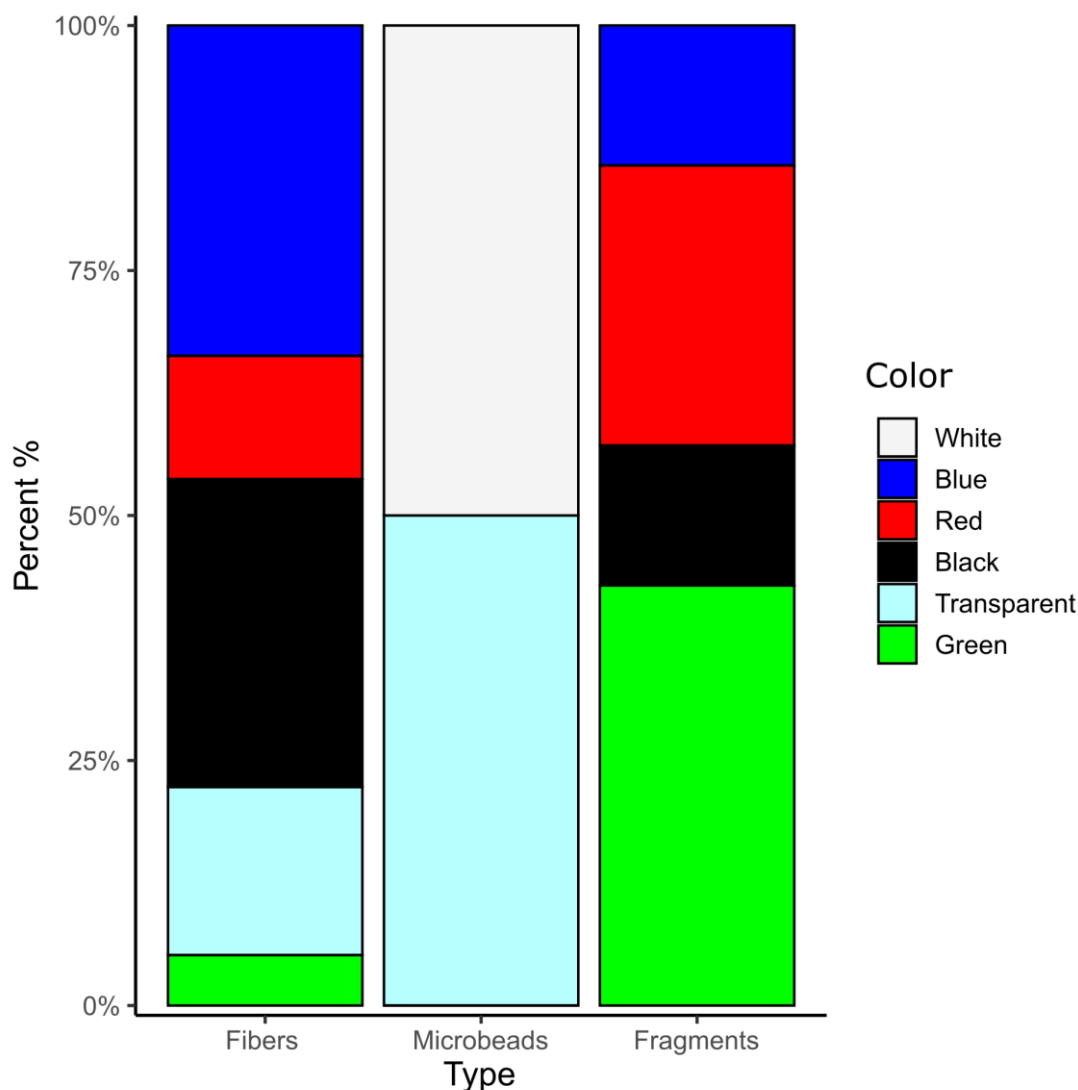


Fig. 1 - Percentage composition of the different colors in relation to the various forms of MPs found in the stomach of the juveniles of sparids (Total number of filaments=176; Total number of microbead=11; Total number of fragments=7).

Composizione percentuale dei diversi colori in relazione alle varie forme di microplastiche rinvenute nei contenuti stomacali dei giovanili di sparidi (Numero totale di filamenti=176; Numero totale di microbead=11; Numero totale di frammenti=7).

Conclusions - This study confirm, that even in a small Island far from the coast, with semi pristine habitats, such as Giglio Island the MPs pollution can affect wild species. The presence of MPs reported in the stomach contents of juvenile species of *Diplodus puntazzo*, *Sarpa salpa*, *D. sargus* and *D. vulgaris* clearly highlighted how

nursery habitats located in shallow coastal sheltered areas may act as concentration areas of such pollutants. Blue- and black-colored filament is the most common type of microplastic found in the stomach contents of juveniles. It is well known that the increase in the world production of synthetic textile fibers has as a direct consequence the release in nature of filamentous MPs (Henry *et al.*, 2019). The high number of filaments found in the stomach contents of the fish analyzed in this study can be hypothesized to be due to the large amount of textile fiber residues that remain entangled between arborescent algal thalli of Corallinales and Pheophyceae. Photophilic algal communities often characterize hard bottoms of nursery habitats, constituting a key substratum during feeding activities of juvenile fish, increasing the likelihood of MPs ingestion. The chromatic differentiation found in the fragments can be linked to the fragmentation of large plastic objects, commonly found along coasts. Finally, the microbeads presence can be mainly due to their use in cosmetic products, which cannot be intercepted by treatment systems of urban waste (Sun *et al.*, 2020). Further studies, aimed at detecting contamination by plastic filaments both in benthic microhabitats and in the water column, will open new insights on the effects MPs pollution, helping to address one of the main challenges for the fight against marine ecosystem degradation.

Acknowledgments: We are indebted to Prof. Gian Domenico Ardizzone, P.I. and scientific coordinator of the "Environmental restoration and long-term monitoring plan after Costa Concordia disaster", and Dr. Maria Flavia Gravina, Department of Biology - University of Rome "Tor Vergata", who supported and shared this study.

References

- ANDRADY A.L. (2011) - Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.*, **62** (8): 1596-1605.
- COLE M., LINDEQUE P., HALSBAND C., GALLOWAY T.S. (2011) - Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Mar. Pollut. Bull.*, **62** (12): 2588-2597.
- EERKES-MEDRANO D., THOMPSON R.C., ALDRIDGE D.C. (2015) - Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Res.*, **75**: 63-82.
- HENRY B., LAITALA K., KLEPP I.G. (2019) - Microfibres from apparel and home textiles: prospects for including microplastics in environmental sustainability assessment. *Sci. Total Environ.*, **652**: 483-494.
- LÖNNSTEDT O.M., EKLÖV P. (2016) - Environmentally relevant concentrations of microplastic particles influence larval fish ecology. *Science*, **352** (6290): 1213-1216.
- LÖNNSTEDT O.M., McCORMICK M.I., MEEKAN M.G., FERRARI M.C.O., CHIVERS D.P. (2012) - Learn and live: predator experience and feeding history determines prey behaviour and survival. *Proc. R. Soc. B - Biol. Sci.*, **279** (1736): 2091-2098.
- OLIVEIRA M., RIBEIRO A., HYLLAND K., GUILHERMINO L. (2013) - Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecol. Indic.*, **34**: 641-647.
- SUN Q., REN S.-Y., NI H.-G. (2020) - Incidence of microplastics in personal care products: an appreciable part of plastic pollution. *Sci. Total Environ.*, **742**: 140218.

This work was carried out within the framework of the project "Eyes in the sky for fish: drone shooting as a new tool in the fight against plast" thanks to the EC-173R-18 grant provided by the National Geographic Society (NGS).

M. PICCARDO^{1,2}, L. PITTURA³, S. GORBI³, A. TERLIZZI^{1,2}, P. SORDINO², V. LAUDET⁴

¹Dipartimento di Scienze della Vita (DSV), Università di Trieste, Italy.

²Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italy

³Di.S.V.A., Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.

⁴Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer, France.

manuela.piccardo@units.it

PLASTICNEMO: FIRST ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF NANOPLASTICS IN THE CLOWNFISH AMPHIPRION OCELLARIS (CUVIER, 1830)

PLASTICNEMO: PRIMA VALUTAZIONE ECOTOSSICOLOGICA DI NANOPLASTICHE NEL PESCE PAGLIACCIO AMPHIPRION OCELLARIS (CUVIER, 1830)

Abstract - This study aims to increase the knowledge on the toxicity of nanoparticles (NP) in marine fish by performing the first ecotoxicological evaluation of 100 nm PS-COOH NPs in juvenile *Amphiprion ocellaris*. Clownfish were tested in a 7-day waterborne exposure at 3 concentrations (low=0.02, medium=0.2; high=2 mg/L) using a multidisciplinary approach including biochemical responses and gene expression analyses. While the activity of catalase, GST and GR was not significantly altered, integrated analysis of such biomarkers (IBRV2 index) showed a reduction in the overall health of fish exposed to NP. Low concentrations elicited higher toxicogenomic responses (110 DEGs; 27 enriched GOs) than medium and high concentrations. A greater change in transcript levels were factors involved in viral infections and inflammatory responses. In conclusion, a minor response to oxidative stress and a first understanding of the cascade of molecular events activated by NPs in fish was presented.

Key-words: polystyrene, toxicity, clownfish, oxidative stress, transcriptomic.

Introduction - Laboratory evidence show that the formation of nanoscale particles (NPs) from bigger plastic items is very plausible. Ter Halle *et al.* (2017) first reports the occurrence of plastic nano-fraction (<1 µm) in environmental samples. Currently, given the absence of protocols of extraction and detection in wild organisms, the only possible effects of NPs interaction with biological systems are confined in a laboratory context. Nano PS distribution and accumulation has been studied at different developmental stages in zebrafish (Pitt *et al.*, 2018) highlighting the ability to localize in different tissues. Lab experiments demonstrate their trophic transfer from primary producers to fishes (Cedervall *et al.*, 2012). Weight loss, behavioural disorders, locomotor deficits, inhibition of AChE and genotoxic effects are some of the effects recorded in different fish species (Chae and An, 2017; Chae *et al.*, 2018). Clownfish is an iconic and highly diverse group of coral reef fishes, subjected to different anthropogenic stresses included plastic pollution. The aim of this study is to test if the exposure to environmentally relevant concentrations of PS-COOH NPs induces oxidative stress or molecular responses in clownfish juveniles.

Materials and methods - 100 nm fluorescent carboxylated polystyrene nanoparticles (PS-COOH NPs) were purchased from Polysciences Inc. The COOH end should simulate the age effect due to weathering. Particle characterization was performed in MilliQ water and in artificial sea water (ASW) by Dynamic Light Scattering (Zetasizer) at 0, 1 and 24h. Juveniles of *Amphiprion ocellaris* (8.8±0.6 mm st. lgth, 27.7±6.0 mg wt) were bred in the facility of the Observatoire Océanologique the Banyuls sur Mer. During all the test, temperature, photoperiod, NO₂- levels was controlled (26.3±0.1 °C, 13/11h light/dark, <0.5 mg/L, respectively) and a gentle

aeration was supplied. Fishes were subjected to 24h of acclimatization. The exposure consisted in 4 experimental groups: 0 mg/L, 0.02 mg/L, 0.2 mg/L and 2 mg/L; each group composed by 6 jars with 6 animals per jar (N=144) and 0.5 L of ASW. Exposure lasted 7 days (80% of daily water renewal). Fishes were fed twice a day *ad libitum*. Mortality were checked every day and dead animals removed. At the end of the exposure 24 juveniles were randomly sampled and euthanized in MS-222 for analyses of biomarkers (Catalase; Glutathione S-transferases; Glutathione reductase) and Total Oxyradical Scavenging Capacity (TOSC) assay was performed (Gorbi *et al.*, 2012). At the end of the exposure 24 juveniles were randomly sampled, euthanized with thermal shock and stored in Trizol at -80°C . At the moment of the analysis, the whole specimen was homogenized for the phenol-chloroform based RNA extraction and the final RNA quality and concentration checked by electrophoresis, Nanodrop and Bionalyzer System (Agilent 2100). Four samples per treatment were destined for RNA-seq analysis. Next Generation Sequencing experiments were performed by Genomix4life S.R.L. (Baronissi, Salerno, Italy). To integrate results from the different biomarkers, the Integrated Biomarker Response version 2 (IBRv2) index was calculated according to Sanchez *et al.* (2013).

Results - DLS analysis showed an optimal dispersion of PS-COOH NPs in MilliQ, with Z-average of 122 nm and PdI <0.1 with meaningless differences over the time. On the contrary, NPs in ASW showed higher Z-average (1863 nm) and PdI (>0.5) indicative of a particular aggregation pattern with microscale assemblages. The size of such aggregates seems to change over the 24h but the quality of DLS results, with samples with so high PdI, is scarce. Thus, a proper frequency distribution at 24h was not possible. Higher mortality (21%) was recorded in low-treated animals. No statistically relevant differences emerged from a biochemical point of view, neither considering the single enzyme nor the ROS scavenging potential. Clownfish exposed to NPs show a global deterioration in health status respect to controls, as highlighted by IBRv2 values that were 2.43, 2.53 and 1.83 for low, medium and high groups, respectively (Fig. 1).

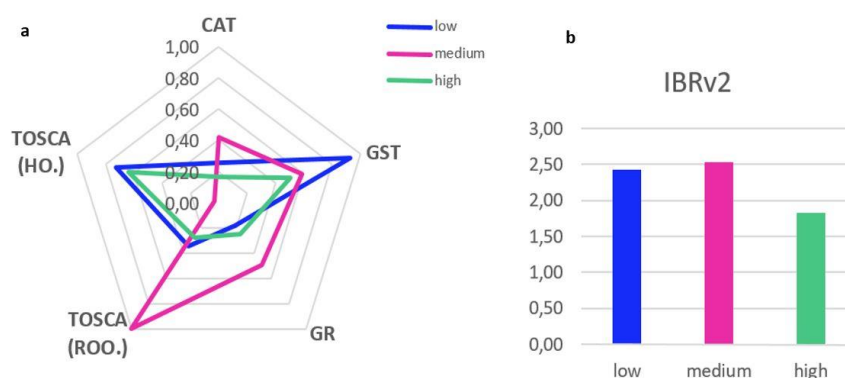


Fig. 1 - a) Star plot based on the reference deviation of each investigated biomarker: CAT=catalase; GST=glutathione S-transferase; GR=glutathione reductase; TOSCA (ROO.)=Total Oxydoradical Scavenging Capacity Assay (peroxylic); TOSCA (HO.)=Total Oxydoradical Scavenging Capacity Assay (hydroxylic); b) IBRv2 values for each concentration of PS NPs.

a) Grafico a stella basato sulla deviazione di riferimento di ciascun biomarcatore studiato: CAT=catalasi; GST=glutathione S-transferasi; GR=glutathione reductasi; TOSCA (ROO.)=Saggio totale della capacità di scavenging dell'ossidoradical (perossilico); TOSCA (HO.)=test di capacità di scavenging ossidoradical totale (idrossilico); b) valori IBRv2 per ciascuna concentrazione di PS NP.

Lower and medium concentration of NPs seemed to represent more stressful conditions than higher treatment. Low and high concentration treatments seem to modulate the activation of biomarkers in a more similar way with respect to the medium group which appears to be characterized by a different biochemical response. Exposure to lower concentration of NPs (0.02 mg/L) resulted in higher amount of differentially expressed genes (DEGs, fold change > |1.5|, FDR p-value ≤0.05): 110 (49% upregulated), while 0.2 mg/L exposures resulted in 17 DEGs (59% upregulated) and 2 mg/L in 31 DEGs (58% upregulated) (Fig. 2). Not considerable overlap between all treatments was evident, with only 1 DEG (LOC111570902, uncharacterized gene) up-regulated in all three experimental fish groups. Besides, 13 DEGs were in common between low and high, and 2 DEGs between low and medium.

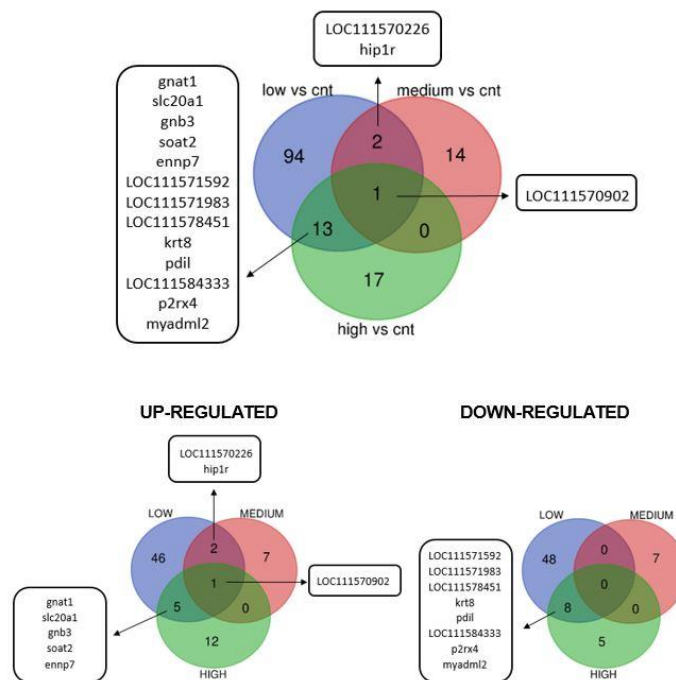


Fig. 2 - Venn diagrams indicating overlap among all differentially expressed genes between treatments, between up-regulated DEGs, between down-regulated DEGs (generated using the Bioinformatics and Evolutionary Genomics custom Venn Diagram generator). Gene names in common are specified.

Diagrammi di Venn che indicano la sovrapposizione tra tutti i geni differenzialmente espressi tra i trattamenti, tra DEGs sovraregolati, tra DEG sottoregolati (generati utilizzando il Bioinformatics and Evolutionary Genomics custom Venn Diagram generator). Vengono specificati i nomi dei geni in comune.

In agreement with the differential analysis, GO enrichment test on low group revealed 27 enriched pathways, the majority of which (44%) related to biological processes such as platelet degranulation (10 DEGs, down-regulated), visual perception and post-translational protein modification (6 DEGs, both up-regulated), adaptive immune response (5 DEGs, down-regulated), response to calcium ion, bacterium, cold-induced thermogenesis (4 DEGs), endocytosis, gene expression, negative regulation of osteoblast differentiation and lipid metabolism (4 DEGs). Cellular component-related GO (33%) was dominated by intra- and extracellular region and molecular function (22%) with significant enrichment in calcium ion binding (10 DEGs). Animals exposed to medium and high concentrations of NPs did not show enrichment in pathways related

to biological processes, rather to cellular component such as extracellular region (up-regulated in medium; down-regulated in high), intracellular membrane-bounded organelle, Golgi apparatus and membrane.

Conclusions - Results from DLS are in accordance with those found in other studies (Manfra *et al.*, 2017) and represent a fundamental key in nanoparticle behaviour studies. 21% of mortality in 0.02 mg/L treatment (0% mortality in control), though not statistically different, could represent a subtle stress induced by NPs exposure. Longer exposure could confirm this hypothesis. Bioaccumulation evaluation on tested fishes was not possible. This could partially explain the lack of effects detected. Analyzing biomarker for biomarker, our findings did not identify statistically relevant differences. On the contrary, the integrated analysis of biomarker responses has proved to be a quick, useful and informative approach especially in discriminating against any differences between treatments that cannot be identified by statistical analysis on individual biomarkers. The findings of our transcriptomics analysis in a marine fish suggest novel mechanisms that had not been linked to NP exposure previously. The results of this study show a robust relationship with DEGs that are key components in the innate and adaptive immune response to bacterial and, namely, viral infections, and in anti- and pro-inflammatory mechanisms. Remarkably, we did not observe dysregulation of canonical immune and inflammatory genes such as chemokines, cytokines and toll-like receptors. Of course, validation of these results by qRT-PCR analyses will start in a short term. These findings led us to propose that the NPs at low concentration elicit higher toxicogenomic response than medium and high concentrations, likely due to NP aggregations occurring in sea water. Remarkably, the viral infection-specific molecular response may reflect the degree of physical similarity between NPs, as those used in this work (100 nm), and viruses (20-300 nm), thus indicating a broad commonality in the way NPs and viruses are perceived by the cells.

References

- CEDERVALL T., HANSSON L.-A., LARD M., FROHM B., LINSE S. (2012) - Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. *PLoS ONE*, **7** (2): e32254.
- CHAE Y., AN Y.-J. (2017) - Effects of micro- and nanoplastics on aquatic ecosystems: current research trends and perspectives. *Mar. Pollut. Bull.*, **124** (2): 624-632.
- CHAE Y., KIM D., KIM S.W., AN Y.-J. (2018) - Trophic transfer and individual impact of nano-sized polystyrene in a four-species freshwater food chain. *Sci. Rep.*, **8**: 284.
- GORBI S., BOCCHETTI R., BINELLI A., BACCHIOCCHI S., ORLETTI R., NANETTI L., RAFFAELLI F., VIGNINI A., ACCORONI S., TOTTI C., REGOLI F. (2012) - Biological effects of palytoxin-like compounds from *Ostreopsis cf. ovata*: a multibiomarkers approach with mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, **89** (5): 623-632.
- MANFRA L., ROTINI A., BERGAMI E., GRASSI G., FALERI C., CORSI I. (2017) - Comparative ecotoxicity of polystyrene nanoparticles in natural seawater and reconstituted seawater using the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Ecotox. Environ. Safe.*, **145**: 557-563.
- PITT J.A., KOZAL J.S., JAYASUNDARA N., MASSARSKY A., TREVISAN R., GEITNER N., WIESNER M., LEVIN E.D., DI GIULIO R.T. (2018) - Uptake, tissue distribution, and toxicity of polystyrene nanoparticles in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.*, **194**: 185-194.
- SANCHEZ W., BURGEOT T., PORCHER J.-M. (2013) - A novel "Integrated Biomarker Response" calculation based on reference deviation concept. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **20** (5): 2721-2725.
- TER HALLE A., JEANNEAU L., MARTIGNAC M., JARDÉ E., PEDRONO B., BRACH L., GIGAULT J. (2017) - Nanoplastic in the North Atlantic subtropical gyre." *Environ. Sci. Technol.*, **51** (23): 13689-13697.

The research leading to these results received funding, or partial funding, from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 730984, ASSEMBLE Plus project.

G. SANNA¹, F. SANNA², C. PIGA¹, J. CULURGIONI¹, R. DICIOTTI¹,
N. FOIS¹, R. FLORIS¹

¹AGRIS-Sardegna Agenzia per la Ricerca in Agricoltura, Servizio Ricerca Prodotti Ittici, Olmedo (SS), Italy.

²AGRIS, Servizio Ricerca Studi Ambientali, Difesa delle Colture e Qualità delle Produzioni, Cagliari, Italy.
gabsanna@agrisricerca.it

FILLET METAL CONTENT OF WILD MULLET FROM A MEDITERRANEAN COASTAL LAGOON (SANTA GIUSTA, WESTERN SARDINIA) ALONG DIFFERENT SEASONS

CONTENUTO IN METALLI NEL FILETTO DI MUGGINI PROVENIENTI DA UNA LAGUNA COSTIERA MEDITERRANEA (SANTA GIUSTA, SARDEGNA OCCIDENTALE) IN DIFFERENTI STAGIONI

Abstract - Ca, Mg, Na, K, P, S, B, Zn, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Co, Pb, Cd concentrations were quantified in muscles of 41 fish belonging to the species *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758, *Chelon ramada* (Risso, 1827), *Chelon labrosus* (Risso, 1827), *Chelon saliens* (Risso, 1810), *Chelon auratus* (Risso, 1810) caught in a Sardinian lagoon in late September 2018, February and July 2019 and May 2021, using an optical system ICP. Significant variations were observed: Na, Ca and B, increased in February, K and Fe in May while Cu was quantified at the highest concentrations during July. Pb was found in two fillets in May while Cd in one fish in July, although their quantities were lower than stated by the International Standard Guidelines (IEC 1881/2006 and amendments). The micro and macro element concentrations reported represent a new contribution to the knowledge of mullets fillet chemistry sampled in a coastal lagoon of Sardinia.

Key-words: heavy metals, trace elements, fillet, Mugilidae.

Introduction - Fish are considered as sentinel species of metallic contamination in aquatic environments by many authors (Diop *et al.*, 2016) and can directly affect human health, being often at the top of trophic chains (Yilmaz, 2009). Grey mullets are representative of fish-fauna in Sardinian lagoons and flathead grey mullet *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 has widely been considered a good indicator of metallic pollution (Khemis *et al.*, 2017). Transitional ecosystems such as marine lagoons are subjected to direct and indirect anthropogenic activities which can determine the release of metals, pathogenic germs, pesticides, etc., which, in turn, can reflect on fish fauna which regulate food web dynamics and nutrient balance. Santa Giusta lagoon is an area with an important naturalistic and productive value, subjected to high environmental fluctuations and human impacts during the last 60 years (Sechi *et al.*, 2001); for this reason several environmental campaigns have been carried out in order to monitor and to preserve the area. The aim of this work is to add new insights on the biomonitoring frame of this lagoon by analysing the variations of trace metal contents of grey mullets muscle in the course of time.

Materials and methods - In September 27th 2018, February 19th and July 10th 2019 and May 18th 2021, forty-one mullets belonging to the species *Mugil cephalus* (7), *Chelon ramada* (Risso, 1827) (15), *Chelon labrosus* (Risso, 1827) (11), *Chelon saliens* (Risso, 1810) (4), *Chelon auratus* (Risso, 1810) (4) were captured in Santa Giusta lagoon, an 8 km² area with a mean depth of about 1 m (Lat 39°52'N, Long 8°35'E; T: 12.5-28 °C; Sal: 28-44 ppm). Fish body weight and total length were measured, the fillet portions were sampled from each fish and stored at -80 °C before processing. Samples were lyophilized, grinded by a mixer milling ZM200 (Retsch) and mineralized through a wet process in microwave Mars-5 (CEM). Ca, Mg, Na, K, P, S, B, Zn, Cu, Fe,

Cr, Ni, Mn, Co, Pb, Cd determinations were performed in duplicate by optical system ICP (Perkin Elmer OPTIMA 7300 DV). Principal components analyses (PCA) and ANOVA were performed by R software (vers. 3.4.1) to test the differences between metal concentrations through time. The Fulton's condition index expressed as $K = \text{weight}/\text{length}^3$ was also considered in the PCA for determining the relationships between fish weight-length and metal concentrations.

Results - Fish size ranged from 23 to 48 cm length, and from 106 to 1031 g weight. The mean concentration of 16 elements detected in the fillets are shown in Tab. 1.

Tab. 1 - Mulletts metal contents during time (mg kg⁻¹ fresh weight).

Contenuto in metalli nei muggini nel tempo (mg kg⁻¹ peso fresco).

	Sep. 2018		Feb. 2019		Jul. 2019		May 2021	
	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd
Ca	134.42 ^a	73.52	283.79 ^b	108.54	141.50 ^a	53.78	200.16 ^c	63.44
Mg	364.50 ^a	15.10	344.32 ^b	22.55	346.94 ^{ab}	41.11	374.06 ^a	36.09
Na	323.40 ^a	42.99	405.13 ^b	47.09	238.84 ^a	30.57	278.57 ^a	53.88
K*	5.14 ^a	0.20	4.91 ^b	0.18	4.37 ^d	0.50	5.69 ^c	0.68
P*	2.60 ^a	0.10	2.79 ^b	0.14	3.60 ^c	0.40	3.28 ^c	0.38
S*	2.97	0.24	2.95	0.14	3.05	0.32	3.11	0.33
B	0.00 ^c	0.00	1.92 ^a	0.52	0.63 ^b	0.37	0.00 ^c	0.00
Zn	5.05 ^a	1.35	3.83 ^b	0.27	9.02 ^c	4.69	7.67 ^{ac}	5.35
Cu	0.25 ^a	0.08	0.22 ^a	0.11	6.70 ^c	8.30	0.46 ^b	0.08
Fe	7.78 ^a	2.28	4.98 ^b	1.61	9.06 ^d	3.83	13.85 ^c	5.30
Cr	0.23	0.10	0.24	0.23	0.11	0.06	0.40	0.43
Ni	0.09 ^a	0.04	0.12 ^a	0.11	0.00 ^b	0.00	0.40 ^a	0.43
Mn	0.21 ^a	0.15	0.00 ^b	0.00	0.00 ^b	0.00	0.08 ^{ab}	0.13
Co	0.00 ^a	0.00	0.00 ^a	0.00	0.65 ^b	0.75	0.23 ^b	0.19
Pb	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05
Cd	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.00	0.00

*=g kg⁻¹ fresh weight. Values within rows not sharing a common superscript are significantly different ($p < 0.05$).

*=g kg⁻¹ peso fresco. I valori nelle righe non mostranti una stessa lettera sono significativamente diversi ($p < 0,05$).

The results of ANOVA showed that Ca, Na, B, increased significantly their concentrations in February 2019, while K and Fe were detected at the highest quantities in fish sampled in May 2021 ($p < 0.05$). It was interesting to note that Cu concentration increased significantly in July 2019 ($6.70 \text{ mg kg}^{-1} \pm 8.30$); Co was found only in July 2019 and in May 2021, while no significant variations were observed for S and Cr contents among the different periods of study. No Pb was detected in all the samples with the exception of two fish in May 2021 ($0.02 \text{ mg kg}^{-1} \pm \text{sd } 0.11$) while Cd was quantified at low level (0.01 mg kg^{-1}) only in one fish sampled in July 2019. The PCA of the data gathered the analysed fillets into different groups for each period of study. Fig. 1 showed that along both the first (F1) and the second components (F2), the fish sampled in July (Su19) and February 2019 (Wi19) and the majority of fillets collected in May 2021 (Sp21) were clearly separated. The mulletts captured in September 2018 (Au18) were not well differentiated from the others. On the other hand no grouping based on different species was highlighted by PCA. Fulton's condition index ranged from 0.00364 to 0.0120.

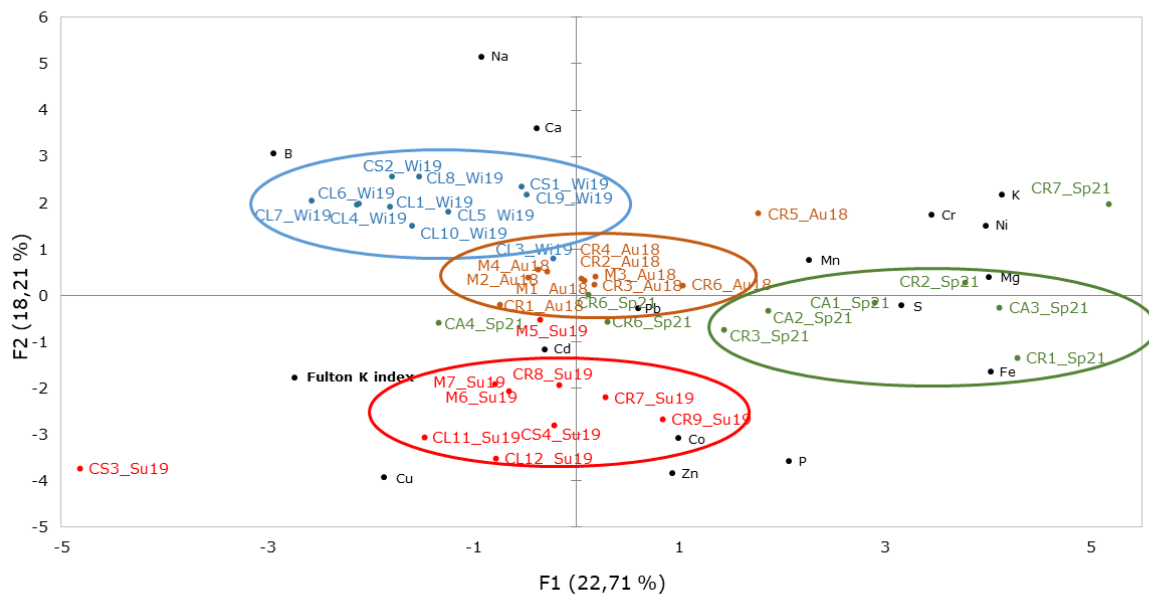


Fig. 1 - PCA on grey mullets metal contents detected in late September (Au18), February (Wi19), July (Su19) and May (Sp21). *C. ramada* (CR), *M. cephalus* (M), *C. labrosus* (CL), *C. saliens* (CS), *C. auratus* (CA).

PCA sul contenuto in metalli nei muggini misurato in settembre (Au18), febbraio (Wi19), luglio (Su19) e maggio (Sp21). *C. ramada* (CR), *M. cephalus* (M), *C. labrosus* (CL), *C. saliens* (CS), *C. auratus* (CA).

Conclusions - In this work we analysed the fillet metal content of grey mullets which are the most ubiquitous teleost families in the planet coastal waters and the most common fish species present in Sardinian lagoons. The statistical analyses (ANOVA) detected a different metal content composition of the mullets along the various sampling periods and PCA indicated that the most discriminant factor of this variation was the seasonality (explained for the 41% by the fillet metal contents). Fish sampled in February, July and May, formed very distinct groups with respect to the September catches in the PCA. This can be caused by the very instable weather conditions (rains, temperature, salinity etc.) occurring especially in Autumn and Spring which can have influenced the mullets fillet metal composition. Moreover, the variations on chemical composition observed in the present work can be the reflection of different mullets feeding regimens, metabolic activity other than environmental conditions, which change significantly during the course of time at Santa Giusta Lagoon, as well as in other Mediterranean transitional ecosystems (Ouali *et al.*, 2018). Ihunwo *et al.*, 2020 reported a mean concentration of Cu levels ($32.98 \pm 3.13 \text{ mg kg}^{-1}$) on grey mullet muscles from contaminated creek in Nigeria, much higher than what reported in this work (mean highest value $6.7 \pm 8.3 \text{ mg kg}^{-1}$ in Summer). However, this study indicated that the level of Cu, Zn, Cr were higher while Mn and Ni were lower than what found in the studies of Esposito *et al.*, 2012 on *M. cephalus*. Ouali *et al.*, 2018 explained this as the consequence of the composition of sediment in different sampling sites, especially for detritus feeders as grey mullets. Furthermore, the present study indicated that Zn and Cu increased in July, when water temperature picked. Studies on Brazilian fish species, from an eutrophic coastal lagoon, also registered the highest Zn levels in dry season, but with mean concentrations ($13.0 \pm 4.5 \text{ mg kg}^{-1}$ and $15.0 \pm 3.0 \text{ mg kg}^{-1}$) higher than

the Zn values found in the present work ($9.02 \pm 4.69 \text{ mg kg}^{-1}$) (Beraldi *et al.*, 2019). On the other hand, the same authors reported Cu mean values in *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) and *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) muscles of 0.53 ± 0.13 and $0.56 \pm 0.22 \text{ mg kg}^{-1}$, respectively, which were lower than the mean Cu quantities (6.7 mg kg^{-1}) detected in July. As a matter of fact, Cu plays an essential role in the fish growth although high Cu concentration inhibits the hatching. As regards the trace metals Cd and Pb, they resulted lower than the fixed values (0.10 , 0.30 kg^{-1} fresh weight, respectively), stated by the International Standard Guidelines (UE 1881/2006 and amendments). If considering fish species, the PCA did not differentiate the fillets, however, we were not able to sample the same mullet species in the various seasons and it was not possible to correlate this factor in this study. Fulton's condition index indicated that the increasing of Cu was related with fish weight and length in July when the mullets displayed the greatest size. In conclusion, we can affirm that the fillet metal content appeared to be influenced by different environmental variables, characterised by clear seasonal dynamics (*e.g.*, meteorological conditions, temperature, salinity and nutrients) and is an useful indicator of metallic pollution. On the basis of these results the analysed fish can be considered healthy for human consumption and, as sentinel species, they seem to live in an environment not contaminated by the analysed metal. The present study represents a new contribution to the knowledge of mullets fillet chemistry sampled in a critical and instable aquatic environment of Sardinia.

Acknowledgements: The authors thank the Cooperativa Pescatori Santa Giusta for providing fish.

References

- BERALDI G.Q.F., DE REZENDE C.E., DE ALMEIDA M.G., CARVALHO C., DE LACERDA L.D., DE FARIAS R.N., VIDAL M., SOUZA M.D.P., MUSSI MOLISANI M. (2019) - Assessment of a coastal lagoon metal distribution through natural and anthropogenic processes (SE, Brazil). *Mar. Pollut. Bull.*, **146**: 552-561.
- DIOP M., HOWSAM M., DIOP C., GOOSSENS J.F., DIOUF A., AMARA R. (2016) - Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Mar. Pollut. Bull.*, **103** (1-2): 339-343.
- ESPOSITO M., MAGLIO P., HAUBER T., MIEDICO O., SERPE F.P., CHIARAVALLE E.A. (2012) - Studio sulla contaminazione da metalli in prodotti ittici provenienti dall'area marina di Crotona. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, **1**: 7-15.
- IHUNWO O.C., DIBOFORI-ORJI A.N., OLOWU C., IBEZIM-EZEANI M.U. (2020) - Distribution and risk assessment of some heavy metals in surface water, sediment and grey mullet (*Mugil cephalus*) from contaminated creek in Woji, southern Nigeria. *Mar. Pollut. Bull.*, **154**: 111042.
- KHEMIS I.B., ARIDH N.B., HAMZA N., M'HETLI M., SADOK S. (2017) - Heavy metals and minerals contents in pikeperch (*Sander lucioperca*), carp (*Cyprinus carpio*) and flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) from Sidi Salem Reservoir (Tunisia): health risk assessment related to fish consumption. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **24**: 19494-19507.
- OUALI N., BELABED B.-E., CHENCHOUNI H. (2018) - Modelling environment contamination with heavy metals in flathead grey mullet *Mugil cephalus* and upper sediments from North African coasts of the Mediterranean Sea. *Sci. Total Environ.*, **639**: 156-174.
- SECHI N., FIOCCA F., SANNIO A., LUGLIÈ A. (2001) - Santa Giusta Lagoon (Sardinia): phytoplankton and nutrients before and after waste water diversion. *J. Limnol.*, **60** (2): 194-200.
- YILMAZ F. (2009) - The comparison of heavy metal concentrations (Cd, Cu, Mn, Pb, and Zn) in tissues of three economically important fish (*Anguilla anguilla*, *Mugil cephalus* and *Oreochromis niloticus*) inhabiting Köycegiz Lake-Mugla (Turkey). *Turk. J. Sci. Technol.*, **4** (1): 7-15.

S. SUSMEL¹, E. DANISO¹, M. COCCHI², F. TULLI¹¹Dipartimento Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università di Udine, Italy.²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione territoriale di Udine (SCT4),
Basaldella di Campoformido (UD), Italy.
enrico.daniso@uniud.it

IMMUNOASSAY OPTIMISATION FOR OKADAIC ACID DETECTION IN MUSSELS

OTTIMIZZAZIONE DI UN SAGGIO IMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE DI ACIDO OKADAICO IN MITILI

Abstract - The increase in frequency and intensity of potential risks concerning the exposure of seafood to diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins raises the attention to develop easy to use and cheap test for measuring okadaic acid for the implementation of a point-of-care (POC) systems. An immunoaffinity reaction utilizing commercially available antibody has been optimized and validated while compared to currently available enzymatic inhibition tests for the detection of okadaic acid in mussel extracts.

Key-words: Okadaic acid, DSP, ELISA, antibodies, *Mytilus galloprovincialis*.

Introduction - In the last few years, the intensity, the frequency and the geographic distribution of harmful algae blooms has increased also in the Adriatic sea, showing a greater number of marine products contaminated with algae toxins. Several factors, such as eutrophication due to industrial production and urban wastewater, unusual climates due to climate change, and other practices deriving from human activities led to the greater presence of these toxic algae (Dubois *et al.*, 2010). These toxins can contaminate seafood and represent a potential threat for human health. The okadaic acid (OA) and the structurally-related dinophysistoxins (DTXs) are lipophilic, heat-resistant, phytotoxins produced by several Dinoflagellates species. They represent one of the most frequent toxins worldwide (Corriere *et al.*, 2021). In Italy, monitoring plans are performed by the official authority in order to guarantee the food safety of commercial products, using a liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS) as an official test. In Friuli Venezia Giulia region, a self-monitoring plan integrated/alternatively performed with/other than official controls is carried out based on an immunoenzymatic test, as well. The chosen OkaTest method fulfils the requirements of Chapter III A (4) a, b, and c of Annex III to Regulation (EC) 2074/2005 and can be used as supplementary method to EU-RL LC/MS/MS method (An *et al.*, 2010). LC-MS requires specialised labs and skilled personnel, due to the time consuming sample preparation and due to the features of this method/technique. In this scenario, the availability of easy-to-use and cheap tests and their optimisation is always a challenge. Over the years, several immuno-kits based on the use of antibodies were released on the market and their reliability was confirmed by several tests and measurement campaigns (Turner *et al.*, 2015). Despite this, very few antibody-based kits for measuring okadaic acid are commercially available in the face of an increasing frequency of mussels' contamination by OA. The aim of the present study was to optimize an ELISA assay using commercially available antibodies and toxins to analyze okadaic acid in mussels extracts. The assay results were validated by carrying out currently available enzymatic inhibition tests.

Materials and methods - OA was purchased from Santa Cruz Biotechnology Inc. (USA) whereas 7-O-Palmitoyl Okadaic Acid, Domoic Acid, Saxitoxin, Yessotoxin,

Tetrodotoxin and Dinophysis family toxins (DTX1, DTX2, DTX3) were purchased from Cifga Laboratories s.a. (SP). "ReadiLink™ KLH Conjugation Kit (mckLH)" was purchased from AAT Bioquest Inc. (USA). Primary monoclonal antibodies Anti-Okadaic Acid (Mab-AO) were obtained from Creative Diagnostic (USA) while secondary antibodies labelled with horseradish peroxidase enzyme (PAb-HRP) were obtained from Merck (De). 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) was purchased by Merck spa (De).

OA-KLH conjugation

The OA toxin was conjugated with the mariculture keyhole limpet hemocyanin (mckLH) carrier using the ReadiLink™ KLH Conjugation Kit. Briefly, a volume of 200 µl of MilliQ water is added to mckLH carrier to obtain a 10 mg/ml solution. Subsequently, 200 µg of OA was dissolved in 100 µl of DMSO and added to 350 µl of Conjugation Buffer available in the kit. This solution (450 µl) was added with 200 µl of mckLH solution. Finally, a volume of 50 µl of EDC (10 mg ml⁻¹) was added and left to react at room temperature for 2 hours. The solution was then placed in a resin column and centrifuged at 1000 g for 2 minutes for desalting and the eluate ie mckLH-OA conjugate was aliquoted and stored at -20 °C until use.

ELISA protocol optimisation

Corning microtitre plates (USA) at 96 wells were used to optimise the assay (Fig. 1) following this protocol: each wall was coated overnight at 37 °C with OA-KLH dissolved in 100 µl of Tris 0.1 M pH 9.6 (Fig. 1 step A). After 2 washing steps each of them performed with 200 µl of PBS Tween 20 (0.1%), defatted milk at 2% in PBS 0.1 M at pH 7.4 was used for surface blocking (1h at 37 °C) (Fig. 1 step w₁). Again, 2 washing steps are performed with 200 µl of PBS Tween (0.1%), then 100 µl of Mab Anti-AO was added and incubated for 1h at 37 °C (Fig. 1 step B). Two more washing steps (Fig. 1 step w₂) were performed as before, and 100 µl of PAb-HRP was left to react for 1h at 37 °C (Fig. 1 step C). After 2 more washing steps, 100 µl of 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) solution, the substrate for HRP, was added to react for 8 min. The enzymatic reaction was stopped by adding 50 µl of H₂SO₄ 2 M (Fig. 1 step C). When the assay have to be developed, samples contaminated with toxin are added at this step C. The Tecan Sunrise Magellan [Tecan, Ltd (CH)] plate reader was used at 450 nm.

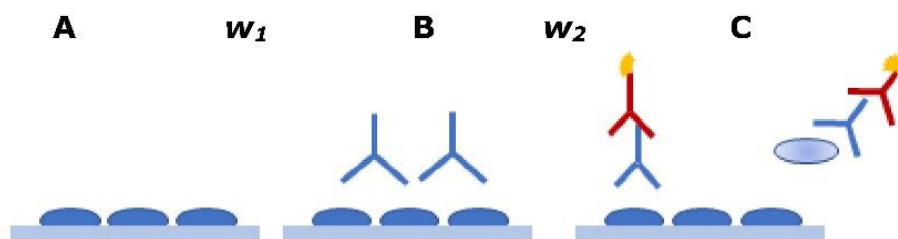


Fig. 1 - Competitive indirect assay.

Rappresentazione del test immunoenzimatico competitivo.

Optimisation of OA-mckLH, primary MAb, and secondary PAb antibodies concentrations

In different tests, the wells were coated with 2 ng ml⁻¹, 1 ng ml⁻¹ and 0.5 ng ml⁻¹ of OA-mckLH, respectively. Serial dilutions by 2 of Mab-AO were tested starting from 1:1000 to 1:64000 while PAb-HRP was always used in dilutions 1:2000 and 1:4000. With this scheme, a 96 well plate was used every time. Moreover, the optimised protocol was adopted to confirm the selectivity of the Mab-OA in the presence dinophysistoxins (DTX1, DTX2, DTX3) Domoic Acid, Saxitoxin, Yessotoxin and Tetrodotoxin.

Real samples analysis and assay validation

Five g- of soft part of mussels harvested in the northern of the Adriatic sea (Gulf of Trieste, Friuli Venezia Region) were homogenised in 20 ml of methanol. The extracts were diluted in PBS in different ratio (v/v). A commercially available kit [OKATEST, ZeuLab (SP)] based on enzymatic inhibition inhibitory activity against phosphatases was used to test samples of mussels harvested in the same area during a period of algal bloom (2021) and the results used to compare the performances of the antibody-based assay here optimised.

Results - The optimised concentration and dilutions to carry out the assay were 0.5 ng ml⁻¹ of mCKHL-OA to coat the wells, 1:2000 the dilution for Mab-OA and 1:3000 for PAb-HRP, respectively. To obtain the calibration curves, OA was added to carry out the enzymatic reaction (step C in Fig. 1). The competition is taking place between the okadaic acid immobilised and those free in solution, for reacting with the specific monoclonal antibody. As foreseen the signal decreases with the increase of the concentration of OA in solution, because Mab more easily reacts with OA in solution, instead with OA immobilised and it is washed away. The calibration curve (not shown) was obtained using mussels spiked with concentrations of 10 - 7.5 - 5 -2.5 - 1 ng/ml of OA. These concentrations were selected in consideration of the limit by law of OA in shellfish of 160 µg Kg⁻¹ [EU 853/2004 and (EFSA, 2009)(EFSA, 2009)(EFSA, 2009)(EFSA, 2009)(EFSA, 2009)(EFSA, 2009)]. Moreover, the performance of the protocol of extraction was to test and optimise. One of the aim of this study was in fact to obtain a quantitative extraction of OA using an easy and rapid extraction protocol as much as possible environmentally friendly. The protocol we tested was based on the use of a mix of PBS and methanol whose effect on the structural stability of the antibody was to confirm. Several ratios were tested and the optimal composition in terms of both extraction efficiency and antibody stability was PBS added with 10% of methanol. Finally, mussels contaminated by OA as by the results of the enzymatic kit (OkaTest) and removed from the trade because out of limits were used to validate our assay Ab-based. In Fig. 2 the same samples analysed with the OkaTest kit (blu bar) and the proposed assay (orange bar) are compared. It seems that the immunoassay in general measures apparently higher value of toxin vs the inhibition tests, however positive samples and negative samples of extracts from mussels respect to the target value of 160µg Kg⁻¹ were always correctly discriminated.

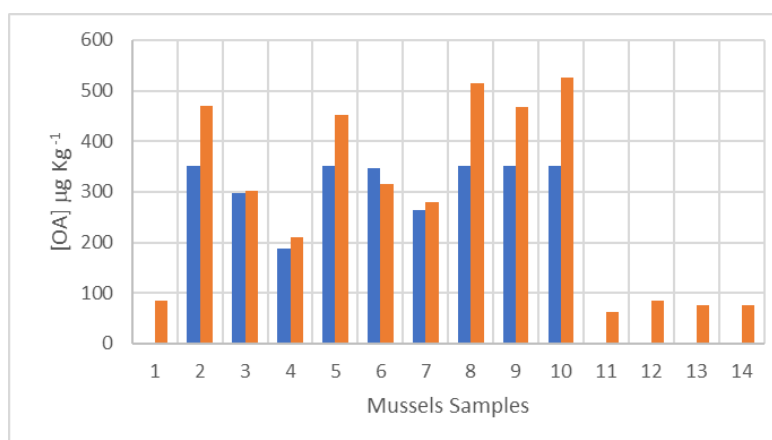


Fig. 2 - Same sample of mussels analysed with ZEU kit (blue) and immunoassay (orange) for validation purposes.

Comparazione degli stessi campioni di cozze analizzati con il Kit enzimatico della ZEU (in blu) e con il test immunoenzimatico (in arancione) per la validazione di quest'ultimo.

In this work, we also addressed the problem of the chemical status of OA when metabolised by bivalves. It has been reported (Torgersen *et al.*, 2008) that OA can occur as fatty acid esters, particularly palmytolic fatty acid and for this reason in several procedures of extraction an acid/base hydrolysis steps is performed at high temperature. This step is not easy to perform in the field and facilities are still required. The analyses we carried out confirmed that for the enzymatic assay (OkaTest) the hydrolysis is required due to the importance of the conformation of OA for the inhibition of the enzyme phosphatase (Takai *et al.*, 1992), so to the inhibition test to carry out. On the contrary, we observed that the antibody we used seems to be unaffected by the eventual presence of the OA linked to palmytoleic fatty acid. We argued that the epitope (the reacting part of the OA which is recognised by MAb) was still available to form the immunocomplex with less interference coming from the structural rearrangement of the molecule esterified.

Conclusions - A protocol to perform an indirect competitive colorimetric assay to detect the OA in mussels was performed. Several issues were addressed concerning the sample extraction procedure and the reliability of the test which was validated comparing the results with those offered by the enzymatic kit. Due to the low stability over time of the antibody, as future works other approaches are considered with the aim of developing in filed devices, user friendly and cost effective.

References

- AN T., WINSHELL J., SCORZETTI G., FELL J.W., REIN K.S. (2010) - Identification of okadaic acid production in the marine dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum* from Florida Bay. *Toxicon*, **55** (2-3): 653-657.
- CORRIERE M., SOLIÑO L., COSTA P.R. (2021) - Effects of the marine biotoxins okadaic acid and dinophysistoxins on fish. *J. Mar. Sci. Eng.*, **9** (3): 293.
- DUBOIS M., DEMOULIN L., CHARLIER C., SINGH G., GODEFROY S.B., CAMPBELL K., ELLIOTT C.T., DELAHAUT P. (2010) - Development of ELISAs for detecting domoic acid, okadaic acid, and saxitoxin and their applicability for the detection of marine toxins in samples collected in Belgium. *Food Addit. Contam. A*, **27** (6): 859-868.
- EFSA (2009) - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cadmium in food. *The EFSA Journal*, **980**: 1-139.
- TAKAI A., MURATA M., TORIGOE K., ISOBE M., MIESKES G., YASUMOTO T. (1992) - Inhibitory effect of okadaic acid derivatives on protein phosphatases. A study on structure-affinity relationship. *Biochem. J.*, **284** (2): 539-544.
- TORGERSEN T., WILKINS A.L., RUNDBERGET T., MILES C.O. (2008) - Characterization of fatty acid esters of okadaic acid and related toxins in blue mussels (*Mytilus edulis*) from Norway. *Rapid Commun. Mass Sp.*, **22** (8): 1127-1136.
- TURNER A.D., HIGGINS C., HIGMAN W., HUNGERFORD J. (2015) - Potential threats posed by tetrodotoxins in UK waters: examination of detection methodology used in their control. *Mar. Drugs*, **13** (12): 7357-7376.

The study was funded by TOXIPOC project, Regione Friuli Venezia Giulia (POR FESR 2014-2020. Attività 1.3.b. DGR n. 1489/2017).

M. VIT¹, S. BEN AISSA^{1,2}, F. TULLI³, S. SUSMEL¹¹Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Lab. Chimica BioAnalitica – Sezione Acquacoltura e Gestione della Fanua Selvatica, Università di Udine, Italy.²Chemistry Department, Imperial College of London, UK.³Dip. Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Lab. Acquacoltura, Università di Udine, Italy. sabina.susmel@uniud.it

OKADAIC ACID (OA) DETECTION: OPTIMISATION OF AN ELECTROCHEMICAL APTASENSOR

OTTIMIZZAZIONE DI UN APTASENSORE ELETTROCHIMICO PER IL RILEVAMENTO DI ACIDO OKADAICO (AO)

Abstract - The activity aims to optimise an electrochemical aptasensor (E-aptasensor) for okadaic acid (OA) based on a specific aptamer "OA63". Okadaic Acid is part of a toxin family produced by phytoplankton, concentrated by shellfish for their natural filter-feeding activity, whose ingestion by humans leads to diarrhetic shellfish poisoning (DSP) syndrome. Together with the socio-economical impacts, the increasing occurrence of Harmful Algal Blooms (HABs) phenomena produces effects also for ecosystems and marine fauna. Devices for early detection and quick test are so of interest. We carried out the preliminary optimisation of an aptasensor for OA detection to obtain a reliable protocol for aptasensor preparation and preliminary trials detected OA the range 5-200 nM with a DL of 2.5 nM (Blank signal $\pm 3 \sigma$ vs maximum permissible level in bivalves of 180 nM as by EC Regulation 2004). Further tests are necessary to confirm the aptamer selectivity and the E-aptasensor reliability in contaminated real samples.

Key-words: okadaic acid, aptamer, biosensor, DSP, electrochemical.

Introduction - Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins are a relevant group, among others, of phytoplanktonic toxins. Phytoplankton abundance, composition, bloom events, as well as increase of toxin production by harmful algae can influence the food web structure, as well as seafood for human consumption (Lipizer *et al.*, 2017). Besides health effects, the Harmful Algal Blooms (HABs) toxic outbreaks can have socio-economic impacts for major costs *i.e.*, due to the detrimental effects for aquaculture (*e.g.*, mussels farming), costs increase for monitoring and management and negative impacts on tourism in coastal areas. HABs are a natural phenomenon, although their frequency, intensity and geographic distribution are territorial-related. A survey performed by Lipizer *et al.* (2017) on the variability and abundance of phytoplankton cells in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea) over the past 30 years showed changes in their abundance and community composition. After a general decrease, an increase was observed in recent years, particularly in dinoflagellates, among which potentially toxin-producing species were recognised (*i.e.*, the most frequent belonging to the genus *Dinophysis* and *Alexandrium*). The authors also highlighted the need for monitoring due to the dynamicity of the North Adriatic (Giani *et al.*, 2012). Events as anthropization of the coastal areas, increased utilization of marine water, nutrients abundance or unbalance due to domestic, industrial and agricultural waste are some of the causes concurring in phytoplankton fluctuations. Overall, HABs occurrence results from complex interactions among different processes operating at different spatio-temporal scales in the marine environment with consequences also affecting the marine habitats (Corriere *et al.*, 2021). Okadaic acid and its analogs dinophysistoxins (DTXs) are produced by Dinoflagellates principally by *Prorocentrum* (mainly *P. lima*) and *Dinophysis* (mainly *D. acuta* and *D. acuminata* in Europe and *D. fortii* in Japan). OA is the main representative of DSP-family toxins, which can induce severe gastrointestinal disturbances due to the

hyper-phosphorylation of ion channels in intestinal cells. Moreover, the increased phosphorylation of cytoskeletal or junctional elements that regulate solute permeability are resulting in passive loss of fluids. Overall, the water balance is impaired. OA is also investigated as tumor promoter due to the ability of selectively inhibiting serine/threonine protein phosphatases type 1 (PP1) and 2A (PP2A) (Lin *et al.*, 2021). Data of in field-observations available so far indicate that okadaic acid can affect marine fish at different life stages from embryo to adults, either exposed via food chain or via toxins dissolved in seawater (Corriere *et al.*, 2021). As mentioned, particular attention is to be given to mussels since bivalves preconcentrate toxins from contaminated waters. The maximum permissible level of OA in the European Union is $160 \mu\text{g kg}^{-1}$ in bivalve molluscs, *i.e.*, 180 nM, according to Regulation (EC) N. 853/2004. The official detection method [Regulation (EC) No. 2074/2005] uses liquid chromatography equipped with mass spectrometry (LC-MS/MS) and ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) and protein phosphatase inhibition (PPIA) assays are also available. These methods, though, present some drawbacks *i.e.*, expensive and complex equipment requiring skilled operators, stable and cost effective assays. So inexpensive and easy-to-use measurement systems, eventually suitable for in-field application are still required. Biosensors optimisation for OA measurements attracted the interest of the researchers. A biosensor is a small analytical device in which a biomolecule, immobilised at a transducer surface, interacts with its target. The transducer converts the biochemical reaction into a measurable signal. Recently, aptamers are gaining popularity over conventional bioreceptor (*e.g.*, antibodies) because they are very cost effective, chemically stable and small in size (Lim *et al.*, 2010) and also thanks to their lack of immunogenicity. These short synthetic sequences of single stranded DNA or RNA (ssDNA, ssRNA), showed selectively toward the specific targets (*i.e.*, proteins, peptides, carbohydrates, toxins, etc.). The aptamers length and the nucleic sequences within them are the driving forces for the target's recognition, binding and are tuning their selectivity. It is a process involving the 3D aptamer shape-mobility and the hydrophobic interactions, base-stacking and intercalation with the target analyte. For biosensing purposes, as general scheme, the aptamer is immobilised at the transducer surface and it is then left to "fish" the target molecule in solution. In literature only a few examples of electrochemical aptasensor for okadaic acid detection are so far reported (*e.g.*, Eissa *et al.*, 2013). They are based on aptamers of different length, 63 and 34 nucleic bases, respectively and were able to detect OA with a DL of 0.087 nM (Eissa *et al.*, 2013), 1.24 nM. Our group is interested in electrochemical sensors and biosensors optimisation and recently started to investigate parameters of interest for marine environment (Figueredo *et al.*, 2021). In this frame we have undertaken the optimization of an electrochemical aptasensor (E-aptasensor) for okadaic acid detection in mussels.

Materials and methods - The following materials and reagents were obtained from Sigma (Milan, IT): Aptamer OA63 (5'-CCGGGTGGGTGGGTGTGGTCTTGTATTTGATTATGTCTGTCGGCGCTTTTTGGCCCCTTCGTT - 3') modified with $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ on the 3' end designed upon request, capture probe P63-8 (5'-AACGAAGG-3'), modified with thiol on the 3' end, 1,4-dithiothreitol (DTT), magnesium chloride, trizma hydrochloride (Tris), nuclease-free water - Okadaic acid (OA), from CIFGA manufacture (Spain, ES) - Screen printed electrodes in graphite gold modified (Au-SPCEs), obtained from Ecobioservices (Italy, IT). All solutions were prepared with Milli-Q water, DNase free. *Procedures* - Aliquots of all reagents were

prepared in Milli-Q water, brought to desired volume and pH and preserved in refrigerator at 4 °C when not in use. The aptamer and probes solutions were prepared under a PCR hood in nuclease-free water to prepare a stock concentration of 100 pmol/ μ mol (100 μ M), OA was prepared under a hood and diluted to 9.3 μ M. Aliquotes of these solutions were kept in the dark at -20 °C and used once. To immobilise the aptamer at the electrode surface two protocols were tested: a) P63-8 is added with DTT (5 μ L of a 2.5:25 μ M P63-8: DTT solution) and left overnight in contact with the electrode surface. The electrode was washed with Tris buffer (pH 7.5) and incubated at room temperature for 3 hours with the OA63 aptamer solution (5 μ L of a 5 μ M OA63 solution) to hybridize it to the probe; b) the probe P63-8 and OA63 (2.5:5 μ M) are left to hybridized in solution at 90 °C for different times, then the affinity complex is left to react with the electrode surface overnight at 25 °C by adding 25 μ M DTT. At the end of each protocol (either a or b), a washing step with Tris buffer is performed and the E-aptasensor is placed in contact with OA for the specific reaction to take place. OA is analysed in the range of concentration from 5-200 nM. The measurements were performed with a CHI 730 potentiostat/galvanostat working station using Cyclic Voltammetry (CV), Differential Pulse Voltammetry (DPV) techniques. All electrochemical measurements were performed using Au-SPCEs with a volume of 50 μ l.

Results - The aptamer is immobilised at the electrode surface through a short, purposely designed complementary probe sequence (P63-8). P63-8 brings on its 3' side a thiol group, as chemisorption of -SH on gold is the chemistry chosen for immobilisation. This bond is stable, it is obtained in mild conditions, and it prevents desorption of DNA probe monolayer from the electrode surface. Meanwhile, it ensures a good vertical orientation of the ssDNA/dsDNA probe grafted onto the electrode surface, resulting in high hybridization efficiency of the aptamer. In both protocols, DTT is used to activate the thiol group to enhance the S-Au binding as well as the electrode is washed with buffer after each step and the signals are recorded via DPV and CV. The signal is by the electroactive tagging molecule, ferrocene ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$), linked to the 5' side of aptamer. The variation of its redox state is a known electrochemical reversible process which is measured in DPV as oxidation process at +0.4 V and in reduction at -0.4 V with peaks of current intensity (I_p) concentration-related (Fig. 1a). The presence of these signals confirms that OA63 is properly anchored at the electrode surface. The heterogenous protocol a) was tested several times but poor reliability was achieved leading, thus, to apply protocol b). The aim was to form the hybrid "aptamer-thiol capture probe" in homogenous phase before the step of immobilisation at the electrode surface. A first attempt with this new protocol was made at 90 °C for 1 hour, the electrochemical signal was then recorded via DPV, confirming that the aptamer was successfully hybridised and then immobilised at the electrode surface because both signal (anodic and cathodic) showed the expected redox process of ferrocene. In anodic DPV an I_p of 2.2 μ A at +0.4 V was measured and also in DPV in reduction an I_p of -1.9 μ A at -0.4 V was evident. It is argued that these conditions were more profitable for hybrid formation in consideration of the fact that the short length of probe-arm introduces sterical constrains especially if linked on one side at the electrode surface. Since the hybridization in these new conditions was successful, the time for hybrid formation was investigated and in Tab. 1 the results are summarised. Among the experimental trials the first protocol (90 °C \times 1 hour) and the third one (90 °C \times 10 minutes), although showing the electrochemical peaks of ferrocene, were characterized by lower signals and low reproducibility. It is argued that 10 min is not a sufficient time

for OA63 to hybridise with Thiol-capture probe in low amount and on the contrary in 60 min, the aptamer could tightly interact with the thiol-capture to become less available for interacting with the surface of the electrode and OA then. So 30 min of incubation offered good results in term of signal intensity and reliability. Finally, OA was left to react with E-aptasensor for 5 minutes (Fig. 1a) and a calibration curve was prepared (σ of 25% for 5-10-35 nM and 12% for 75-150-200 nM) (Fig. 1b).

Tab. 1 - I_p values at different reaction times with hybridization at 90 °C.

Valori I_p a tempi di reazione diversi con ibridazione a 90 °C.

Protocol	90 °C × 1 hour	90 °C × 30 minutes	90 °C × 10 minutes
I_p anodic	2.2 μ A (\pm 15%)	5.27 μ A (\pm 8%)	2.8 μ A (\pm 12%)
I_p cathodic	-1.9 μ A	-5.12 μ A	-2.3 μ A

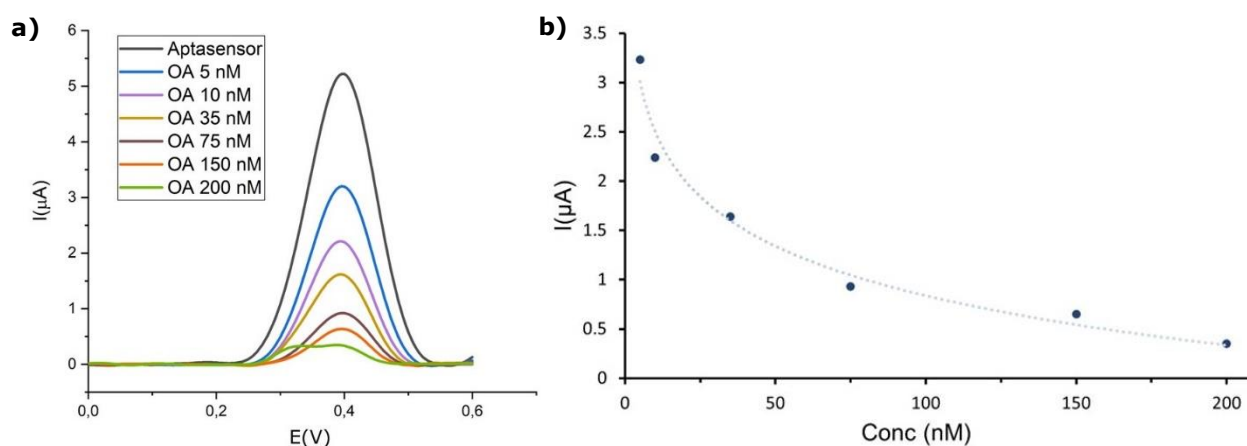


Fig. 1 - a) DPV anodic sweep of 90 °C x 30 minutes hybridization protocol; b) calibration curve.

a) Sweep anodico/catodico in DPV con protocollo di ibridazione 90 °C x 30 minuti; b) curva di calibrazione.

Conclusions - Preliminary steps of optimisation of an electrochemical aptasensor for OA detection were carried out; the protocol for the E-aptasensor preparations was defined and successfully applied. More measurements are now in progress to investigate the role of the length/structure of the aptamer, its selectivity and finally to confirm the ability of measuring in real samples made of methanol extracts of mussels.

References

- CORRIERE M., SOLIÑO L., COSTA P.R. (2021) - Effects of the marine biotoxins okadaic acid and dinophysistoxins on fish. *J. Mar. Sci. Eng.*, **9** (3): 293.
- EISSA S., NG A., SIAJ M., TAVARES A.C., ZOUROB M. (2013) - Selection and identification of DNA aptamers against okadaic acid for biosensing application. *Anal. Chem.*, **85** (24): 11794-11801.
- FIGUEREDO F., GIROLAMETTI F., ANEGGI E., LEKKA M., ANNIBALDI A., SUSMEL S. (2021) - Plastic electrode decorated with polyhedral anion tetrabutylammonium octamolybdate $[N(C_4H_9)_4]_4Mo_8O_{26}$ for nM phosphate electrochemical detection. *Anal. Chim. Acta*, **1161**: 338469.
- GIANI M., DJAKOVAC T., DEGOBBIS D., COZZI S., SOLIDORO C., FONDA UMANI S. (2012) - Recent changes in the marine ecosystems of the northern Adriatic Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **115**: 1-13.
- LIM Y.C., KOUZANI A.Z., DUAN W. (2010) - Aptasensors: a review. *J. Biomed. Nanotechnol.*, **6** (2): 93-105.
- LIN P., LU Z., ZHANG Y., LIAO X., HE L., GUO Y., ZHOU C., QIAN Z.-J., HONG P., LIANG Y.-Q., REN L., SUN S., LI C. (2021) - Do polystyrene nanoplastics aggravate the toxicity of single contaminants (okadaic acid)? Using AGS cells as a biological model. *Environ. Sci. Nano*, **8** (11): 3186-3201.
- LIPIZER M., CABRINI M., FORNASARO D., KRALJ M., GIANI M., MOSETTI R. (2017) - Harmful algal frequency over the last 30 years in the Gulf of Trieste. *Biol. Mar. Mediterr.*, **24** (1): 43-48.

M. ALIENDE¹, A. BUSSELO¹, M. NARÉ¹, M.A. SAHUQUILLO¹, G. IACONO¹,
C. IACONO¹, A. MICCIO¹, M.C. GAMBI²

¹Area Marina Protetta "Regno di Nettuno", Ischia-Procida-Vivara (NA), Italy.

²Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale - OGS, Trieste, Italy.
mgambi@ogs.it

**ABUNDANCE AND SIZE STRUCTURE OF *PATELLA* SPP.
(MOLLUSCA, GASTROPODA) UNDER OCEAN ACIDIFICATION
CONDITIONS AT CO₂ VENTS (ISCHIA ISLAND, ITALY)**

**ABBONDANZA E STRUTTURA DI TAGLIA DI *PATELLA* SPP.
(MOLLUSCA, GASTROPODA) IN CONDIZIONI DI ACIDIFICAZIONE MARINA
IN VENTS DI CO₂ (ISOLA D'ISCHIA)**

Abstract - Abundance and size structure of *Patella* spp. were studied at Ischia Island (Tyrrhenian Sea) in two populations living at CO₂ vents off Castello Aragonese, under natural ocean acidification (OA) conditions (pH 7.4-7.9), and three control populations in sites characterized by normal pH conditions (pH 8.1). Both CO₂ vent populations had 95% of heavily corroded shells and significant lower abundances than control populations, while the size structure showed individuals of higher dimensions (>2 cm), fewer small specimens (0-1 cm) and lack of new recruits in the vent's populations subjected to OA conditions. These results confirm that, although with low densities, limpets thrive under OA conditions, and exhibit larger sizes, than in control areas, but a reduced recruitment of juveniles. This fact suggests a habitat selection only by adult specimens likely more robust to OA than juveniles, and the potential influence of other indirect factors, such as the amount and quality of the plant food (higher N content), which seems higher under OA conditions, or a reduced predation, that can explain the larger limpet's size.

Key-words: limpets, ocean acidification, CO₂ vents, size structure, Tyrrhenian Sea.

Introduction - Changes in the sea water carbonate chemistry and pH, due to ocean acidification (OA), affect the biology and geochemistry processes of marine ecosystems and organisms, especially those with calcareous skeletons, more susceptible to dissolution in acidic waters. However, some calcifiers may appear robust to OA, or have mixed responses, and thriving under OA conditions may occur at the expenses of other processes, e.g. calcification rate, mineralogy or growth-size (Garilli *et al.*, 2015). To study the effects of OA, natural CO₂ vents from volcanic origin, such as the vents of the Castello Aragonese on the island of Ischia (Tyrrhenian Sea), represent suitable natural laboratories which mimic today the possible future scenarios of OA (Foo *et al.*, 2018). Limpets (Mollusca, Gastropoda, Patellidae) occupy rocky intertidal environments, from the supratidal to the shallow subtidal zone in temperate waters of the Mediterranean and East Atlantic Ocean (Henriques *et al.*, 2017; Vafidis *et al.*, 2020), and, as sedentary herbivores, they exert a very important role in the intertidal ecosystems, through direct grazing and indirect processes (Vafidis *et al.*, 2020). Limpets occur also under natural acidification conditions at the CO₂ vents of the Castello-Ischia with mainly two species, *Patella ulyssiponensis* Gmelin, 1791 and *P. caerulea* (L., 1758) (Hall-Spencer *et al.*, 2008; Foo *et al.*, 2018). Here they also show adaptation to OA in their calcification features (Langer *et al.*, 2014). In this pilot study, conducted as a student's training stage within the MARE project of the Marine Protected Area "Regno di Nettuno" (Ischia, Procida and Vivara islands), we investigated the abundance pattern and the size structure of individuals inhabiting the low pH areas of the south and north sides of the Castello vents, in comparisons with individuals living in three control sites characterized by normal pH conditions.

Materials and methods - Sampling was conducted in June-July 2021 by snorkeling at low tide at 5 selected sites. Two stations were located at the south and north sides of the Castello vents in areas subjected to high and medium gas emissions from the bottom, indicated in various studies as S2-S3 on the south, and N2-N3 on the north (Foo *et al.*, 2018). In these areas the mean pH varies from >7.4 to 7.9 , on the basis of many previous measures summarized in Foo *et al.* (2018). Three control sites were located outside the vents, where the pH showed normal values (8.10): Castello control located 200 m far from the vents on the Castello rocky islet, Sant'Anna rocks at 600 m from the south Castello vents, and San Pietro Point at approx. 4 km from the Castello area. Since species identification of the genus *Patella* involves also the analyses of the soft parts, in order to not displace limpets and potentially affect their integrity and survival, especially at the vent populations, limpets were not removed when counted or measured, and thus indicated as *Patella* spp. In each site 40 m of coast were considered and 30 quadrats 25×25 cm were counted for limpet's density, while in 20 of them, the shell length of each individual was measured with a caliper (0.1 mm resolution) to estimate population size structure. Differences in size-frequency distribution among populations were tested with the non-parametric Kolmogorov-Smirnov test (K-S, SPSS package).

Results - A total of 2154 limpets were counted in all replicates (30×5 sites): South vents 262 individuals; North vents 392; Castello control 497; Sant'Anna 482; San Pietro 521. The 95% of limpets at the vent's sites showed heavy shell corrosion, with a pearly appearance (Fig. 1), due to low pH, and enhanced by the fact that *Patella* is lacking the periostracum that protect more the shell from corrosion. The mean density values (in 25×25 cm surface) were: south side 8.7 individuals (± 5.1 s.d.), north side 13.0 (± 5.4); Castello control 16.5 (± 7.6), S. Anna 16.6 (± 7.6); S. Pietro 17.3 (± 12.9).



Fig. 1 - A specimen of *Patella* sp. from the Ischia Castello vents (south side) with a pearly, eroded shell (photo: P. Vassallo).

Un individuo di Patella sp. dai vents di Ischia (lato sud) con la conchiglia madreperlacea corrosa (foto: P. Vassallo).

Both vent populations had significant lower density values respect to all control populations (Student t-test; $p > 0.05$), and density at the south vent side was even lower than at the north side (t-test; $p > 0.05$). On the contrary, among the control populations there were not significant differences in density. For size analysis, a total of 682 specimens were measured in all replicates (20×5 sites): South vents 102 individuals measured; North vents 114; Castello control 140, San Pietro 155; Sant'Anna 171. Size-structure analysis of both vents populations showed a wide size range, but with very few limpets in the classes 0-1 cm, and lack of recruits on the north side, where a few quite large individuals also occurred (< 4 cm) (Fig. 2). In the three control populations,

on the contrary, the smallest classes 0-1 cm were well represented (12%-18% of individuals), and individuals larger than 2 cm were scarce (Fig. 2). The non-parametric K-S test showed no differences in size/frequency distribution between the two vents populations, and among the three control sites, while significant differences were detected between each of the control vs each of the vent populations ($p=0.0001$; $\alpha<0.01$).

Conclusions - These results confirm that limpets thrive under OA conditions, although with lower densities (almost half values) respect to control zones, and confirm the trend observed in a previous study at the Castello vents, where limpets, counted in 2006, showed comparable densities (Hall-Spencer *et al.*, 2008), thus demonstrating the relatively long persistence of these organisms in the area of the vents.

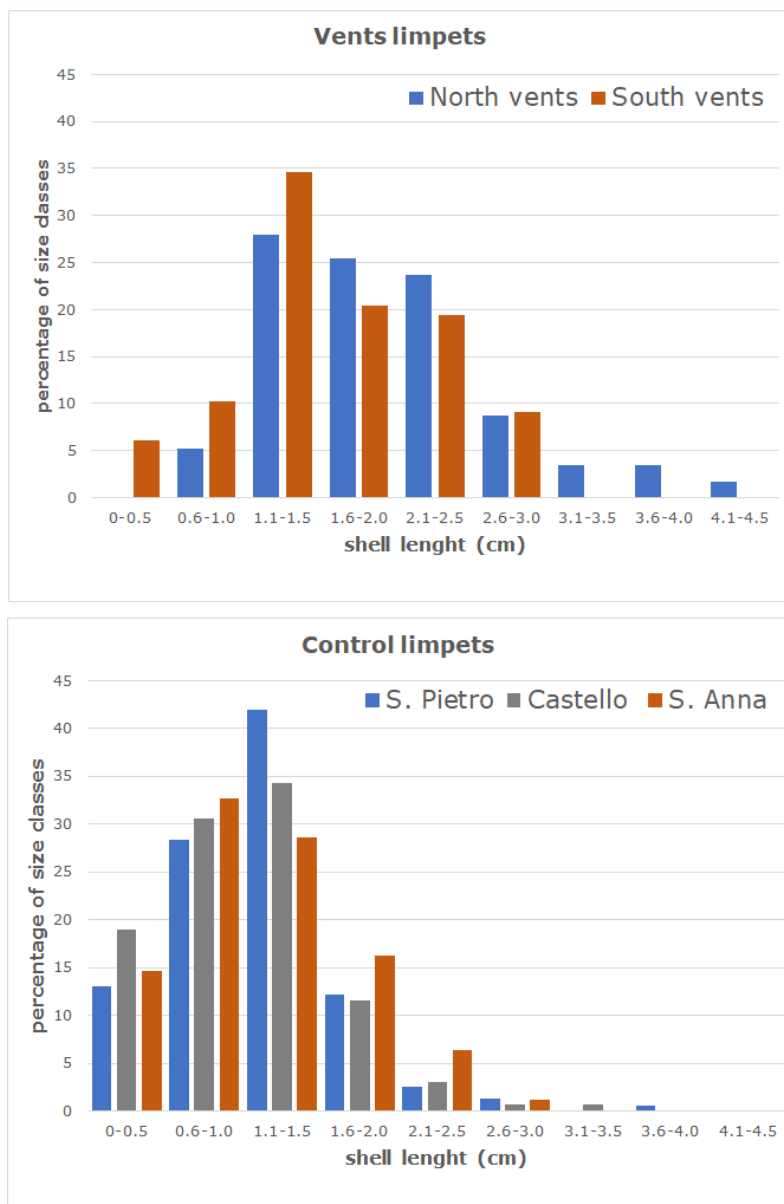


Fig. 2 - Size frequency distribution of *Patella* spp. populations studied at Ischia: South vents: 102 individuals measured; North vents: 114; Castello control: 140, San Pietro: 155, Sant’Anna: 171. *Distribuzione taglia/frequenza di Patella spp. nelle popolazioni studiate ad Ischia: vents Sud: 102 individui misurati; vents Nord: 114; Castello controllo: 140; San Pietro: 155; Sant’Anna: 171.*

Our study shows for the first time that limpets under OA exhibited larger sizes, than in control areas, but a reduced recruitment of juveniles. This fact suggests a habitat selection only by adult specimens likely more robust to OA than juveniles. Our results differ with observation in other invertebrates in Ischia and other vent’ systems where a

size reduction was detected in some species of polychaetes and molluscs as a consequence of different energy allocation due to OA stress (Calosi *et al.*, 2013; Garilli *et al.*, 2015). Therefore, we can hypothesize the influence of other indirect factors, such as the amount and quality of available plant food which seems higher under OA conditions (Ramajo *et al.*, 2016; Connell *et al.*, 2017). The Castello vents are dominated by macroalgae and the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813 (Foo *et al.*, 2018) which show inside the Castello vents higher N contents in the tissues than outside the vents (Ricevuto *et al.*, 2015). Therefore, the potential food items of limpets within the vents may also have a higher energetic values, which can favour the growth of these grazers and compensate for the stress due to OA. However, we cannot exclude also the effects of a reduction of the potential predators of the limpets in the vent's area, or a reduced competition with other organisms living in the intertidal which show reduced occurrence in the vents [(e.g., the gastropod *Phorcus turbinatus* (Von Born, 1778) (Gambi M.C., pers. observ.)]. These results highlight the complex interactions of direct and indirect factors in explaining the survival and adaptations of organisms thriving under natural OA conditions. Studies are in progress to investigate also the eco-physiological basis of the acclimation/adaptation mechanisms of limpets to OA at the Castello vents.

Acknowledgements: This work was conducted by M.A., A.B., M.N. and M.A.S during their training stage at the Marine Protected Area of "Regno di Nettuno" at Ischia; we wish to thank the project MARE for stage assistance and organization.

References

- CALOSI P., RASTRICK S.P.S., LOMBARDI C., DE GUZMAN H.J., DAVIDSON L., JAHNKE M., GIANGRANDE A., HARDEGE J.D., SCHULZE A, SPICER J.I., GAMBI M.C. (2013) - Adaptation and acclimatization to ocean acidification in marine ectotherms: an *in situ* transplant experiment with polychaetes at a shallow CO₂ vent system. *Phil. Trans. R. Soc. B*: **368** (1627): 20120444.
- CONNELL S.D., DOUBLEDAY Z.A., HAMLIN S.B., FOSTER N.R., HARLEY C.D.G., HELMUTH B., KELAHER B.K., NAGELKERKEN I., SARÀ G., RUSSELL B.D. (2017) - How ocean acidification can benefit calcifiers. *Curr. Biol.*, **27** (3): 95-96.
- FOO S.A., BYRNE M., RICEVUTO E., GAMBI M.C. (2018) - The carbon dioxide vents of Ischia, Italy, a natural system to assess impacts of ocean acidification on marine ecosystems: an overview of research and comparisons with other vent systems. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **56**: 237-310.
- GARILLI V., RODOLFO-METALPA R., SCUDERI D., BRUSCA L., PARRINELLO D., RASTRICK S.P.S., FOGGO A., TWITCHETT R.J., HALL-SPENCER J.M., MILAZZO M. (2015) - Physiological advantages of dwarfing in surviving extinctions in high-CO₂ oceans. *Nat. Clim. Change*, **5**: 678-682.
- HALL-SPENCER J.M., RODOLFO-METALPA R., MARTIN S., RANSOME E., FINE M., TURNER S.M., ROWLEY S.J., TEDESCO D., BUIA M.C. (2008) - Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature*, **454**: 96-99.
- HENRIQUES P., DELGADO J., SOUSA R. (2017) - Patellid limpets: an overview of the biology and conservation of keystone species of the rocky shores. In: Ray S. (ed), *Organismal and molecular malacology*. IntechOpen, London: 71-95.
- LANGER G., NEHRKE G., BAGGINI C., RODOLFO-METALPA R., HALL-SPENCER J.M., BIJMA J. (2014) - Limpets counteract ocean acidification induced shell corrosion by thickening of aragonitic shell layers. *Biogeosciences*, **11** (24): 7363-7368.
- RAMAJO L., PÉREZ-LEÓN E., HENDRIKS I.E., MARBÀ N., KRAUSE-JENSEN D., SEJR M.K., BLICHER M.E., LAGOS N.A, OLSEN Y.S., DUARTE C.M. (2016) - Food supply confers calcifiers resistance to ocean acidification. *Sci. Rep.*, **6**: 19374.
- RICEVUTO E., VIZZINI S., GAMBI M.C. (2015) - Ocean acidification effects on stable isotope signatures and trophic interactions of polychaete consumers and organic matter sources at a CO₂ shallow vent system. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **468**: 105-117.
- VAFIDIS D., DROSOU I., DIMITRIOU K., KLAODATOS D. (2020) - Population characteristics of the limpet *Patella caerulea* (Linnaeus, 1758) in Eastern Mediterranean (Central Greece). *Water*, **12**(4): 1186.

A. AZZOLA, C.N. BIANCHI, S. MANGRAVITI, C. REDOANO, A. VARENNE,
C. MORRI, A. OPRANDI, M. MONTEFALCONE

Dipartimento di Scienze della Terra, dell' Ambiente e della Vita (DiSTAV), Università di Genova, Italy.
annalisa.azzola@edu.unige.it

**A NOVEL DRIVER OF CHANGE FOR BENTHIC COMMUNITIES:
THE MUCILAGINOUS EVENT OF SUMMER 2018
AT PORTOFINO (LIGURIAN SEA)**

**UN NUOVO AGENTE DI CAMBIAMENTO PER LE COMUNITÀ BENTONICHE:
L'EVENTO MUCILLAGINOSO DELL'ESTATE 2018
A PORTOFINO (MAR LIGURE)**

Abstract - Among the effects of climate change, increased frequency and duration of mucilaginous events are affecting sessile benthic communities on rocky reefs. Effects of mucilaginous blooms on several taxa in many different Mediterranean areas have already been reported. In the Portofino Marine Protected Area (NW Italy) a strong mucilaginous event occurred from June to October 2018 in coincidence with a hot summer. Rocky reef benthic communities were analysed through photographic samplings at different depths (10 m, 20 m, 30 m, and 40 m) at the beginning of the mucilaginous event (June) and at the end of the event (October). Although the seasonal variability in sea surface temperature is expected to be the major driver of change in shallow water rocky reef communities, the greatest changes from June to October occurred at 20 m depth, where the highest cover of mucilage was observed. Mucilaginous blooms linked to global warming represent a novel driver of change for rocky reefs sessile benthos.

Key-words: climate change, mucilage, rocky reefs, sessile benthos, depth zonation.

Introduction - Climate change is affecting marine ecosystems globally in many different ways (Henson *et al.*, 2017). In the Mediterranean Sea, since the second half of the 1980s, the increased sea surface temperatures (Bianchi *et al.*, 2019) enhanced the frequency and the duration of mucilaginous events, thus demonstrating a positive relationship between these events and global warming (Danovaro *et al.*, 2009). Mucilage consists of organic material aggregations of vegetal origin with colloidal properties (Piazzi *et al.*, 2018). In the Ligurian Sea the mucilage aggregates are mainly formed by the species *Acinetospora crinita* (Carmichael) Sauvageau, 1899 but also include Phaeophyceae and Chrysophyceae (Schiaparelli *et al.*, 2007). Massive developments of mucilage are considered an ecological threat to marine ecosystems (Piazzi *et al.*, 2018), as they may cause mortality of benthic populations (Innamorati *et al.*, 2001). Covering wide areas of the substrate, mucilage limits light penetration, suffocates sessile filter organisms and alters chemical and physical environment, determining anoxic conditions (Misic *et al.*, 2011). Signs of necrosis due to mucilaginous events have been described for several benthic taxa in many different Mediterranean areas (Schiaparelli *et al.*, 2007; Piazzi *et al.*, 2018), but little is known about the effect of mucilage on the seasonal evolution of sessile benthic communities. The aim of this study is to explore the impact of the mucilaginous event of summer 2018 on the rocky reefs of the Marine Protected Area of Portofino (Ligurian Sea). Here, the mucilaginous event of 2018 started in June with the formation of aggregates just below the summer thermocline (~20 m depth). The maximum expansion was reached in July and August, when the mucilage had completely covered the seafloor at about 20 m depth. In August, the appearance of a second thermocline at <10 m depth allowed the development of mucilage also in shallow waters. At the end of September through October, most mucilage fell down to 30 m and 40 m depth, entangling arborescent gorgonian species

but not covering the substrate. We hypothesise that, should the mucilage have not had a significant impact, the seasonal differences of epibenthic communities would be greater in shallow water, where temperature variations (a proxy for seasonality) are expectedly wider. Conversely, the mucilage impact would have implied a major change in the benthic communities at 20 m, where substrate cover by the mucilaginous aggregates reached 100% (Bianchi *et al.*, 2019).

Materials and methods - Wire-frame photographs (each covering a surface of 1 m²) were collected in June 2018 and October 2018 at four different depths (10 m, 20 m, 30 m, and 40 m) in four sites within the Portofino Marine Protected Area (Altare, Colombara, Faro, and Torretta). The percentage cover of sessile taxa (identified to the lowest possible taxonomic level) and of mucilage has been visually estimated on photoquadrats. Weekly underwater visual surveys have also been carried out in the period between June and October 2018 at Portofino to record data on the water temperature at the four depths using diving computers, and to monitor the presence of mucilage. Change in the benthic community composition between June and October at each depth has been evaluated through multivariate analysis (nMDS), after arcsine $\sqrt{(x/100)}$ transformation of cover data. Time-trajectories have been visualised on the nMDS plot as the distances between the centroids of June and October at each depth.

Results - Multivariate analysis (nMDS) on cover data of sessile benthic taxa ordered photoquadrat points along two roughly perpendicular gradients: a spatial one along the 1st (horizontal) axis, and a temporal one along the 2nd (vertical) axis (Fig. 1).

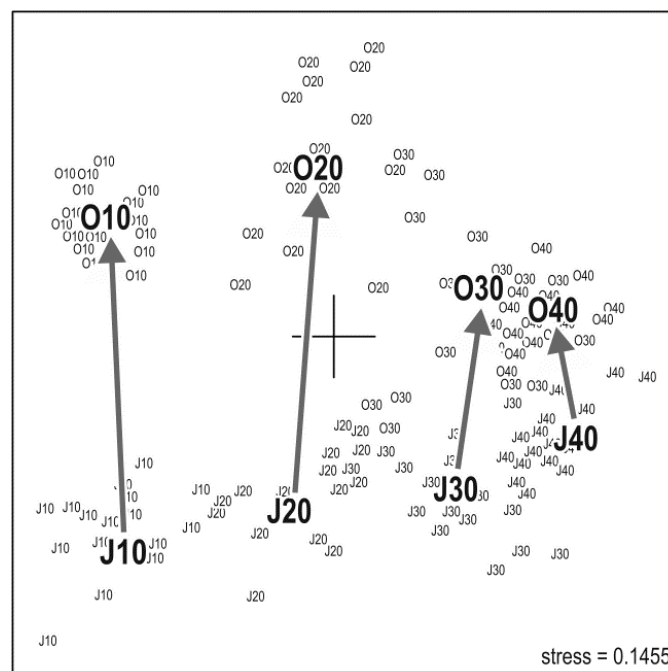


Fig. 1 - Ordination model of nMDS performed on photoquadrat cover data of sessile benthic taxa at Portofino. Small characters represent individual replicates, large ones the centroids: J=June; O=October; 10, 20, 30, and 40 are depths in meters. Arrows show the time trajectories at the four depths.

Modello di ordinamento del nMDS eseguito sui dati di copertura dei taxa sessili bentonici nei fotoquadrati a Portofino. I caratteri piccoli rappresentano le singole repliche, quelli grandi i centroidi: J=giugno; O=ottobre; 10, 20, 30, e 40 sono le profondità in metri. Le frecce indicano le traiettorie temporali alle quattro profondità.

The spatial gradient was an expression of increasing depth from the left (10 m) to the right (40 m) of the 1st axis. The location of the depth centroids along the first axis was extremely regular and nearly identical in both June and October, suggesting that bathymetry remained the major driver of change in epibenthic communities notwithstanding seasonal variations. The temporal gradient was expressed along the 2nd axis, with the points of June separated from those of October. At 40 m depth the separation between June points and October points was less marked, consistent with the expected lower seasonal variability of deeper waters. Accordingly, the time trajectories at 10 m and 20 m depth, virtually parallel to the 2nd axis, were distinctly longer than those at 30 m and 40 m. However, the highest difference in the 2nd axis scores of June and October centroids was not found at 10 m, as expected according to seasonal variation, but at 20 m depth, just below the summer thermocline (Fig. 2). The maximum summer water temperature decreased exponentially with depth, with the highest value reached at 10 m and the lowest at 40 m depth. The mucilage reached its maximum cover value in June at 20 m depth, and then at 30 m depth (Fig. 2). In all, the depth profile of community change (as expressed by the nMDS 2nd axis scores) closely mirrored that of mucilage cover, visibly differing from the depth profile of water temperature.

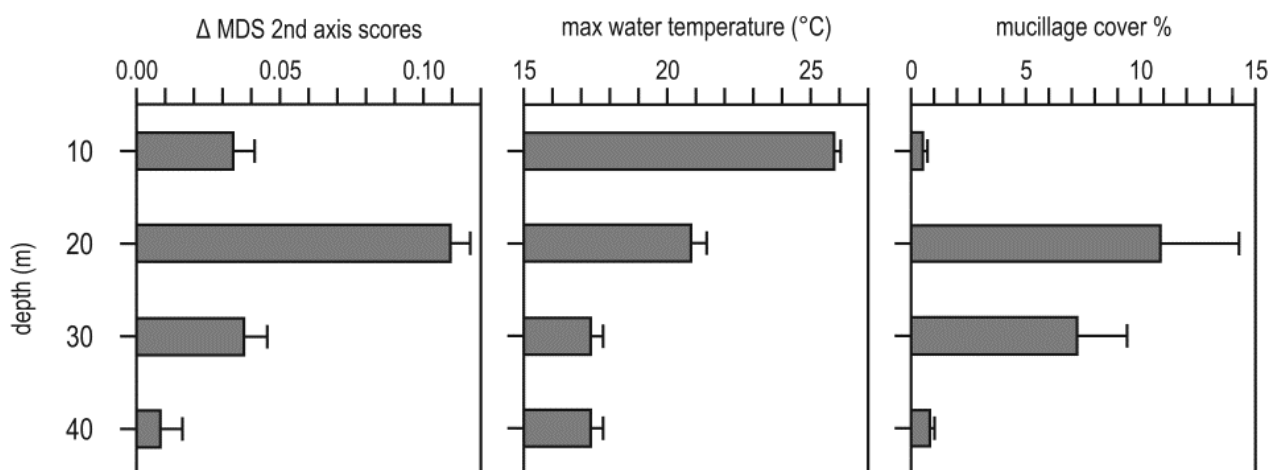


Fig. 2 - Mean (\pm se) difference in the second nMDS axis scores between June and October photoquadrat points at each depth (10 m, 20 m, 30 m, and 40 m) (left panel); mean (\pm se) maximum water temperature during summer at each depth (central panel); mean (\pm se) mucilage cover values in June at each depth (right panel).

Differenza media (\pm es) nel punteggio del secondo asse del nMDS tra i punti dei fotoquadrati di giugno e di ottobre a ciascuna profondità (10 m, 20 m, 30 m, e 40 m) (sinistra); valore medio (\pm es) della temperatura massima dell'acqua durante l'estate a ogni profondità (centro); valori medi (\pm es) della copertura percentuale della mucillagine a giugno ad ogni profondità (destra).

Conclusions - Depth zonation was the prime component of differentiation among the epibenthic communities at Portofino, as typical for Mediterranean rocky reefs (Bianchi and Morri, 2001); the depth zonation pattern remained identical in June and October. Beside depth, seasonal variability in sea water temperature (in turn changing with depth) is expected to be the major driver of change in rocky reefs benthic communities, but at Portofino the major changes in community composition did not occur at 10 m depth, where temperature variability was the greatest; they occurred at 20 m depth, where the highest cover of mucilage was observed (Bianchi *et al.*, 2019). Such a result provides suggestive evidence that the impact of a mucilaginous event can overwhelm the effects of seasonal variation on rocky reef communities. Mucilaginous aggregates represent a threat to marine ecosystems and must be considered as a novel

driver of change in sessile benthic communities linked to global warming. Although increased temperature is not the only factor causing mucilage development (Misic *et al.*, 2011), the most important mucilaginous events at Portofino (Schiaparelli *et al.*, 2007; Bianchi *et al.*, 2019) occurred in warm years, characterized by heat waves in summer. Increased frequency of these events may be expected under the present trend of sea water warming, and should therefore be numbered among the effects of global change on marine ecosystems.

References

- BIANCHI C.N., MORRI C. (2001) - L'approccio bionomico per la caratterizzazione e la zonazione dell'ambiente marino costiero: una rassegna introduttiva. *Atti Assoc. It. Oceanol. Limnol.*, **14**: 401-434.
- BIANCHI C.N., AZZOLA A., BERTOLINO M., BETTI F., BO M., CATTANEO-VIETTI R., COCITO S., MONTEFALCONE M., MORRI C., OPRANDI A., PEIRANO A., BAVESTRELLO G. (2019) - Consequences of the marine climate and ecosystem shift of the 1980-90s on the Ligurian Sea biodiversity (NW Mediterranean). *Eur. Zool. J.*, **86** (1): 458-487.
- DANOVARO R., FONDA UMANI S., PUSCEDDU A. (2009) - Climate change and the potential spreading of marine mucilage and microbial pathogens in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE*, **4** (9): e7006.
- HENSON S.A., BEAULIEU C., ILYINA T., JOHN J.G., LONG M., SÉFÉRIAN R., TJIPUTRA J., SARMIENTO J.L. (2017) - Rapid emergence of climate change in environmental drivers of marine ecosystems. *Nat. Commun.*, **8** (1): 1-9.
- INNAMORATI M., NUCCIO C., MASSI L., MORI G., MELLEY A. (2001) - Mucilages and climatic changes in the Tyrrhenian Sea. *Aquat. Conserv.*, **11** (4): 289-298.
- MISIC C., SCHIAPARELLI S., COVAZZI HARRIAGUE A. (2011) - Organic matter recycling during a mucilage event and its influence on the surrounding environment (Ligurian Sea, NW Mediterranean). *Cont. Shelf Res.*, **31** (6): 631-643.
- PIAZZI L., ATZORI F., CADONI N., CINTI M.F., FRAU F., CECCHERELLI G. (2018) - Benthic mucilage blooms threaten coralligenous reefs. *Mar. Environ. Res.*, **140**: 145-151.
- SCHIAPARELLI S., CASTELLANO M., POVERO P., SARTONI G., CATTANEO-VIETTI R. (2007) - A benthic mucilage event in North-Western Mediterranean Sea and its possible relationships with the summer 2003 European heatwave: short term effects on littoral rocky assemblages. *Mar. Ecol.*, **28** (3): 341-353.

M. CANESSA¹, G. BAVESTRELLO¹, E. TRAINITO², A. NAVONE³, R. CATTANEO-VIETTI¹

¹Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova, Italia.

²Genova Marine Centre - Stazione Zoologica Anton Dohrn,
Istituto Nazionale di Biologia, Ecologia e Biotecnologie Marine, Genova, Italia.

³AMP Tavolara Punta Coda Cavallo, Olbia (SS), Italia.
marti.canessa@gmail.com

STABILITÀ DEL SUBSTRATO E STRUTTURA DELLE COMUNITÀ BENTONICHE IN MICROAMBIENTI CONFINATI

SUBSTRATE STABILITY AND BENTHIC COMMUNITIES STRUCTURE IN CONFINED MICRO-HABITATS

Abstract - Seawater acidification is becoming more and more rapidly an important environmental stressor for marine organisms and its effects on healthy ecosystems need to be deeply investigated. Here we propose the confined microhabitat present under submerged boulders as a possible model to study the effect of pH reduction on the development of benthic communities. It is in fact possible that in these habitats, where respiration is strongly prevailing on photosynthesis, the environment can be prone to pH reduction. We hypothesise that communities settled under limestone may be less structured than those present under granite, due to the high chemical stability of this last one. Occurrence and coverage of several sessile species, growing on the dark face, coralline-free, of sublittoral limestone and granite boulders were compared in the Tavolara MPA (Mediterranean Sea) to test for difference according to lithology. The analysis of photographic samples demonstrated significant differences in term of species composition and coverage, according to the substrate factor. Moreover, limestone boulders were widely bare, while the bio-coverage was almost total on granite. The leading cause of this evidence can be the different level of stability of the two types of rocks due also to pH local conditions. Limestone has, in fact, a higher rate of dissolution than granite, and consequently, a more unstable surface.

Key-words: seawater acidification, species occurrence, lithology, structural stability, Mediterranean Sea.

Introduzione - Lo studio delle comunità bentoniche insediate sotto i massi sommersi è stato raramente affrontato. Questi microambienti confinati hanno caratteristiche molto peculiari a causa della ridotta intensità luminosa e dello scarso ricambio di acqua e ospitano comunità che ricordano quelle presenti nelle grotte (Harmelin *et al.*, 1985), anche se parzialmente influenzate dalle caratteristiche faunistiche dei popolamenti circostanti (Bellan-Santini, 1962). Un aspetto fino ad oggi poco considerato riguarda il fatto che in questi microambienti, dove la respirazione prevale nettamente sulla fotosintesi, il pH del mezzo potrebbe andare incontro a significativi abbassamenti, come accade, durante il ciclo giornaliero, negli anfratti delle scogliere coralline (Price *et al.*, 2012). La riduzione di pH potrebbe risolversi in una solubilità della superficie dei substrati carbonatici con conseguenti ripercussioni sulle comunità su di essi insediate. In questo caso lo studio di questi popolamenti potrebbe rappresentare un utile e diffuso modello per prevedere gli effetti dell'acidificazione degli oceani. In questo studio abbiamo affrontato questa tematica confrontando le comunità insediate sotto massi di diversa natura litologica, calcarei e granitici, presenti nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo (Sardegna Nord-Orientale). L'ipotesi che si è voluta testare è che le comunità insediate sotto i massi calcarei siano meno strutturate di quelle osservabili sotto i massi granitici, a causa di una diversa stabilità del substrato (Coombes, 2011).

Materiali e metodi - La superficie inferiore di 72 massi, in cui la copertura vegetale risultava assente, è stata indagata in sei siti, tre carbonatici (Archetto, Cala Cicale, Occhio di Dio) e tre granitici (Mezzo Canale, Isola Rossa, Punta Arresto) nell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo (Sardegna Nord-Orientale) mediante

campionamento fotografico. Gli organismi zoobentonici sessili sono stati classificati e la loro capacità di ricoprimento percentuale è stata misurata a livello di gruppi tassonomici principali. Quando l'identificazione specifica o generica non è stata possibile, sono state adottate altre unità tassonomiche e morfologiche (OTUs). Inoltre, è stata stimata la percentuale di superficie di substrato nudo presente sul lato oscuro dei massi. I valori di occorrenza relativa per calcari e graniti sono stati calcolati per ogni specie/OTUs, come presenza percentuale nelle 12 fotografie scattate per sito (Tab. 1).

Tab. 1 - Ricorrenza percentuale media per ciascuna specie/OTUs, rispettivamente su calcare e granito.

*=specie rinvenute su entrambi i substrati; †=specie esclusivamente rinvenute su calcare; #=specie esclusivamente rinvenute su granito. Ricoprimento percentuale dei principali gruppi tassonomici e superficie di substrato nudo, rispettivamente per calcare e granito.

Mean per cent recurrence of each species/OTUs, respectively on limestone and granite.

*=species recorded on both the substrates; †=species recorded only on limestone; #=species recorded only on granite. Per cent coverage of the main taxonomic groups and surface of bare substrate for limestone and granite, respectively.

Specie/OTUs	Calcare	Granito	Specie/OTUs	Calcare	Granito
FORAMINIFERI			CNIDARI		
<i>Miniacina miniacea</i> *	77,7±7,3	80,6±12,1	<i>Balanophyllia europea</i> #	8,3±4,8	---
SPUGNE			<i>Caryophyllia inornata</i> †	---	16,7±12,7
<i>Acanthella acuta</i> †	2,8±2,8	---	Sclerattinie*	13,9±2,7	2,8±2,8
<i>Hemimyscale columella</i> #	16,7±12,7	---	BRIOZOI		
<i>Ircinia</i> sp.*	2,8±2,8	2,8±2,8	<i>Beania magellanica</i> †	---	2,8±2,8
<i>Chondrosia reniformis</i> *	2,8±2,8	5,5±5,5	<i>Myriapora truncata</i> †	---	52,7±18,2
<i>Clathrina</i> sp.†	---	13,9±10	<i>Patinella radiata</i> †	---	2,8±2,8
<i>Cliona celata</i> #	5,5±5,5	---	<i>Reptadeonella violacea</i> *	8,3±4,8	16,6±8,3
<i>Cliona rhodensis</i> #	22,2±13,8	---	<i>Reteporella</i> sp.†	---	11,1±11,1
<i>Cliona schmidtii</i> #	5,5±5,5	---	Briozoi incrostanti*	72,2±7,4	97,2±2,7
<i>Cliona viridis</i> #	2,8±2,8	---	BRACHIOPODI		
<i>Cliona</i> sp.#	38,9±5,5	---	<i>Novocrania anomala</i> *	5,5±2,7	22,2±7,3
<i>Corticium candelabrum</i> #	5,5±2,7	---	POLICHETI		
<i>Haliclona fulva</i> *	5,5±5,5	8,3±4,8	Serpulidi*	88,8±7,3	97,2±2,7
<i>Haliclona mucosa</i> *	33,3±20,9	22,2±7,3	Terebellidae*	8,33	5,6±5,6
<i>Oscarella lobularis</i> #	2,8±2,8	---	ASCIDIE		
<i>Petrobiona massiliana</i> *	---	11,1±7,3	Didemnidae*	5,5±2,8	19,4±10
<i>Petrosia ficiformis</i> *	2,8±2,8	25±8,3	<i>Halocynthia papillosa</i> #	2,8±2,8	---
<i>Phorbas tenacior</i> †	2,8±2,8	16,7±4,8	<i>Polycitor adriaticus</i> #	2,8±2,8	---
<i>Spirastrella cunctatrix</i> †	---	19,4±10	<i>Phallusia fumigata</i> †	---	5,5±2,7
<i>Terpios fugax</i> *	5,6±5,6	19,4±2,7			
Spugne massive*	8,3±4,8	13,9±10			
Spugne incrostanti*	72,2±2,7	94,4±2,7			

Ricoprimento percentuale		
	Calcare	Granito
Substrato nudo	70,6±3,9	0,5±0,4
Spugne	7,4±2,4	49,1±4,2
Briozoi	6,8±1,4	37,4±3,9
Serpulidi	12,4±2,2	9,0±1,5
Tunicati	2,9±0,8	2,0±0,4
Area media dei massi (cm ²)	455,5±39,0	515,6±38,3

L'analisi multivariata (PERMANOVA) è stata effettuata secondo un disegno sperimentale a due fattori (sito, sei livelli, random, "nested" in substrato, fisso, due livelli) per testare possibili differenze significative (Tab. 2). La SIMPER ha permesso di quantificare il contributo percentuale dei singoli descrittori alla dissimilarità tra i due substrati (Tab. 3).

Risultati - In totale, sono state registrate 39 specie/OTUs, 26 su granito e 29 su calcare, di cui 9 e 12 esclusive, rispettivamente per i due substrati. Il numero di specie/OTUs trovate sul granito variava da 15 a 22 per immagine e da 12 a 24 sul calcare. Il 43,5% delle specie è stato trovato in comune tra i due substrati. 22 specie/OTUs erano occasionali o rare, registrate solo in meno del 10% dei campioni. Le spugne sono state il gruppo tassonomico più rappresentato (21 OTUs) (Tab. 1).

PERMANOVA ha mostrato significative differenze in accordo con il substrato, sia in termini di occorrenza sia di ricoprimento percentuale ($p < 0,01$) (Tab. 2).

Tab. 2 - PERMANOVA per i dataset di ricorrenza e ricoprimento. Indice di Bray-Curtis usato per la costruzione della matrice di similarità; n permutazioni=9999. Test Monte Carlo applicato per numero insufficiente di permutazioni. Valori significativi in grassetto.

PERMANOVA performed on occurrence and coverage datasets. Bray-Curtis similarity index used for the resemblance matrix construction; permutation n=9999. Monte Carlo test applied for insufficient unique permutations. Significant values are in bold.

	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique Perm	P(MC)
Substrato	1	8663,3	8663,3	4,0656	0,0963	10	0,0065
Sito (Substrato)	4	8523,5	2130,9	2,3892	0,0001	9882	0,0008
Res	66	58863	891,87				
Totale	71	76050					
Ricoprimento							
Substrato	1	96581	96581	76,001	0,1026	10	0,0001
Sito (Substrato)	4	5083,1	1270,8	1,7505	0,0674	9914	0,0764
Res	66	47914	725,97				
Totale	71	1,50E+05					

Cliona spp. Grant, 1826, *Hemimycale columella* (Bowerbank, 1874), *Corticium candelabrum* Schmidt, 1862, *Oscarella lobularis* (Schmidt, 1862), *Acanthella acuta* Schmidt, 1862 sono state trovate solo su calcare, mentre *Petrobiona massiliana* Vacelet & Lévi, 1958 e *Spirastrella cunctatrix* Schmidt, 1868 hanno mostrato preferenza per il granito. Tra i briozoi invece spicca la marcata preferenza per il granito, in particolare, da parte di *Myriapora truncata* (Pallas, 1766). Considerando invece la copertura percentuale dei principali gruppi tassonomici, SIMPER evidenzia come sia determinante il contributo della porzione di substrato nudo nel differenziare i due substrati (46,29%), seguito da quello delle spugne (27,51%) e dei briozoi (20,19%) (Tab. 3).

Tab. 3 - Contributi percentuali per calcare e granito dei principali gruppi tassonomici, in termini di ricoprimento e di substrato nudo.

Per cent contributions for limestone and granite of the main taxonomic groups, in terms of coverage and bare substrate.

	Calcare	Abbond. Media	Granito	Abbond. Media	Av. Diss	Cum.%
Substrato nudo		70,58		0,47	35,42	46,29
Spugne		7,42		49,06	21,05	73,80
Briozoi		6,81		37,42	15,45	93,99
Serpulidi		12,42		9,00	3,64	98,75
Tunicati		2,89		1,97	0,96	100,00

Conclusioni - I due substrati considerati hanno mostrato significative differenze, sia in termini di occorrenza relativa delle specie sia di ricoprimento percentuale. Dal punto di vista della composizione specifica, tali dissimilarità sono riconducibili ad una intrinseca affinità di diverse specie per le due litologie, come già evidenziato in altre condizioni ambientali (Bavestrello *et al.*, 2000, 2018; Canessa *et al.*, 2019, 2020). Tale pattern non è facilmente spiegabile, se non nel caso delle specie bioerosive, capaci di penetrare esclusivamente i calcari. D'altra parte, le differenze di ricoprimento suggeriscono come i substrati calcarei siano decisamente più instabili e quindi limitino fortemente l'insediamento e lo sviluppo di comunità maggiormente strutturate. Queste limitazioni non sono state evidenziate sotto i massi granitici, dove il substrato non è soggetto a dissoluzione (Fig. 1). È pertanto plausibile ipotizzare che sul lato buio dei massi, in assenza di attività fotosintetica, la riduzione del pH del mezzo possa favorire un processo di dissoluzione dei calcari. Oltre ad una dissoluzione di tipo chimico i substrati carbonatici sono soggetti ad un processo di dissoluzione batterica (Golubić and Schneider, 1979) e ad un'intensa bioerosione determinata dai poriferi (Schneider and Torunski, 1983). Nei nostri campioni le diverse specie di *Cliona* sono gli organismi più

frequentemente trovati solo sui substrati calcarei. Una situazione completamente diversa si verifica osservando il lato illuminato dei massi dove i substrati carbonatici mostrano comunità decisamente più ricche di quelli granitici (Canessa *et al.*, 2020). Questo fatto potrebbe essere determinato anche dalla maggiore affinità delle alghe corallinacee incrostanti per questo tipo di rocce, costituendo un substrato secondario particolarmente adatto ad un successivo insediamento.



Fig. 1 - a) Esempio di lato inferiore di un masso carbonatico, dove il substrato è in gran parte nudo o colonizzato principalmente da spugne perforanti (*C. celata*); b) esempio di lato inferiore di masso granitico, dove le spugne incrostanti e serpulidi risultano particolarmente abbondanti.

a) Example of the lower side of a carbonatic boulder, the substrate is mainly bare or mainly colonized by boring sponges (*C. celata*); b) example of the lower side of a granitic boulder, where encrusting sponges and serpulids result particularly abundant.

Bibliografia

- BAVESTRELLO G., BIANCHI C.N., CALCINAI B., CATTANEO-VIETTI R., CERRANO C., MORRI C., PUCE S., SARÀ M. (2000) - Bio-mineralogy as a structuring factor for marine epibenthic communities. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **193**: 241-249.
- BAVESTRELLO G., BO M., BETTI F., CANESSA M., GAGGERO L., RINDI F., CATTANEO-VIETTI R. (2018) - Differences in composition of shallow-water marine benthic communities associated with two ophiolitic rock substrata. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **200**: 71-80.
- BELLAN-SANTINI D. (1962) - Etude du peuplement des "dessous des blocs non ensablés" de la partie supérieure de l'étage infralittoral. *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **27** (42): 185-196.
- CANESSA M., BAVESTRELLO G., BO M., BETTI F., GAGGERO L., CATTANEO-VIETTI R. (2019) - The influence of the rock mineralogy on population density of *Chthamalus* (Crustacea: Cirripedia) in the Ligurian Sea (NW Mediterranean Sea). *Eur. Zool. J.*, **86** (1): 389-401.
- CANESSA M., BAVESTRELLO G., BO M., TRAINITO E., PANZALIS P., NAVONE A., CARAGNANO A., BETTI F., CATTANEO-VIETTI R. (2020) - Coralligenous assemblages differ between limestone and granite: a case study at the Tavolara-Punta Coda Cavallo Marine Protected Area (NE Sardinia, Mediterranean Sea). *Reg. Stud. Mar. Sci.*, **35**: 101159.
- COOMBES M.A. (2011) - *Biogeomorphology of coastal structures: understanding interactions between hard substrata and colonising organisms as a tool for ecological enhancement*. PhD Thesis, University of Exeter: 1-591.
- GOLUBIĆ S., SCHNEIDER J. (1979) - Chapter 2.4 Carbonate Dissolution. In: Trudinger P.A., Swaine D.J. (eds), Biogeochemical cycling of mineral-forming elements. *Stud. Environ. Sci.*, **3**: 107-129.
- HARME LIN J.-G., VACELET J., VASSEUR P. (1985) - Les grottes sous-marines obscures: un milieu extrême et un remarquable biotope refuge. *Téthys*, **11** (3-4): 214-229.
- PRICE N.N., MARTZ T.R., BRAINARD R.E., SMITH J.E. (2012) - Diel variability in seawater pH relates to calcification and benthic community structure on coral reefs. *PLoS ONE*, **7** (8): e43843.
- SCHNEIDER J., TORUNSKI H. (1983) - Biokarst on limestone coasts, morphogenesis and sediment production. *Mar. Ecol.*, **4** (1): 45-63.

G. CHIMIENTI^{1,2}, A. LISCO¹, A. BOTTALICO¹, F. MASTROTOTARO^{1,2}

¹Department of Biology, University of Bari Aldo Moro, Italy.

²CoNISMa, Roma, Italy.

giovanni.chimienti@uniba.it

EFFECTS OF MASSIVE MACROALGAL EPIBIOSIS ON THE RED GORGONIAN *PARAMURICEA CLAVATA* (CNIDARIA, ANTHOZOA)

EFFETTI DI EPIBIOSI MACROALGALI MASSIVE SULLA GORGONIA ROSSA *PARAMURICEA CLAVATA* (CNIDARIA, ANTHOZOA)

Abstract - This study reports the massive overgrowth of macroalgae on living colonies of the red gorgonian *Paramuricea clavata* at Tremiti Islands Marine Protected Area (Adriatic Sea). Colonies density was reduced of 40-50% on both the top and the slope of the studied shoal from 2014 to 2019, and the *P. clavata* population was severely covered by the erect macroalgae *Sporochnus pedunculatus* and *Pylaiella littoralis*. Although the causes of such unusual phenomenon needs to be assessed, it is hypothesized that the increasing of water temperature and the occurrence of massive and persistent benthic mucilaginous blooms registered in these years could have severely stressed the gorgonians, increasing their vulnerability to algal epibionts.

Key-words: Anthozoa, mass mortality event, mesophotic, Tremiti Islands, Mediterranean Sea.

Introduction - Forest-forming corals, as antipatharians and alcyonaceans, are among the most important 3-D habitat formers of the Mediterranean mesophotic and aphotic zones, representing Vulnerable Marine Ecosystems (FAO, 2009). The red gorgonian *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) is a peculiar constituent of the coralligenous habitat and can form extensive forests of high aesthetic value and great ecological importance (Chimienti *et al.*, 2017; Ponti *et al.*, 2018). These sensitive habitats are threatened by mechanical damages (e.g. contact with fishing gears, anchorages, recreational diving), increased water turbidity and sedimentation rates, mucilaginous benthic aggregates, as well as heat waves and other climate change-related disturbances (Garrabou *et al.*, 2019). These stresses are driving mass mortality events all over the basin, resulting in a general regression of the populations of this slow-growing and low-resilience species (Ponti *et al.*, 2018 and references therein). To date, information about mass mortality events of *P. clavata* are still fragmentary, despite the understanding of the phenomenon is crucial to guide any possible conservation strategy. This contribution reports the occurrence of a massive colonization of macroalgae on living *P. clavata* colonies in 2019, that are causing a mass mortality of this species at the Tremiti Islands Marine Protected Area (MPA).

Materials and methods - The study area is represented by Tremiti Islands MPA, located in the Adriatic Sea at 12 nautical miles north of the Gargano promontory (Apulia Region, Southern Italy). The area is characterized by a high aesthetic value due to the diversity of natural landscapes and cultural evidences, and its lush population of *P. clavata* makes this small archipelago one of the most appreciated diving sites of the Apulia Region (Chimienti *et al.*, 2017). An extensive forest of *P. clavata* at the Punta Secca shoal of Caprara Island (42°8.481'N - 15°31.564'E) was surveyed by scuba diving. Underwater video transects of 20 m in length and 1.5 m in width were carried out during July 2014 and August 2019 at the top of the shoal (32-35 m depth, transect 1), at the slope of the shoal (35-38 m depth, transect 2) and on the vertical wall of the shoal (38-40 m depth, transect 3), with three replicates each (A, B, C). Sampling units

of $2 \pm 0.2 \text{ m}^2$ were defined during the video analysis of each transect according to the minimal area proposed by Weinberg (1978) based on species–area curves for sessile invertebrates in the coralligenous community of the Mediterranean Sea. Colonies density of *P. clavata* (colonies m^{-2}) was calculated for each sampling unit, and expressed as mean \pm standard deviation for each transect. The colonies affected by epibiosis were also quantified as colonies m^{-2} and the following macro-categories of epibionts were distinguished: mucilages, macroalgae and others (e.g. invertebrates and eggs). In September 2019, the 20 cm long apical portion of two colonies was sampled on the top and on the slope of the shoal. Moreover, several green-brown mats were collected directly from the gorgonians in all the sites in order to identify the epibionts.

Results - Colonies that were healthy in 2014 resulted densely covered by an abundant green-brown mat in 2019 mostly composed by macroalgae. The *P. clavata* density showed a clear decreasing trend between the two years (Fig. 1).

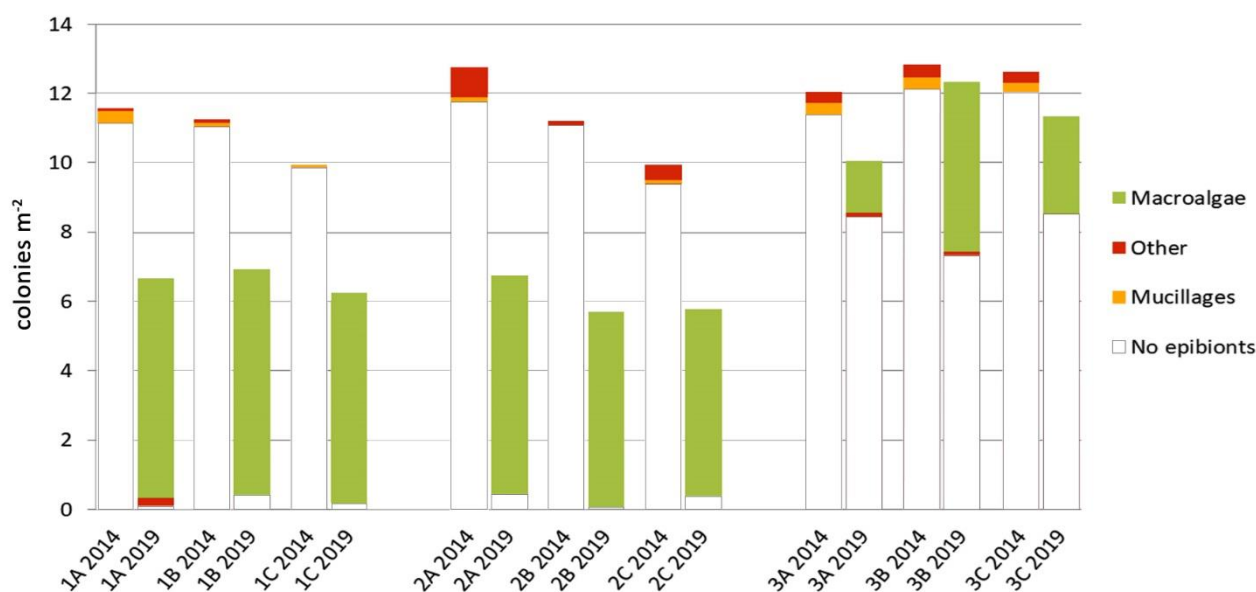


Fig. 1 - Density of *P. clavata* (colonies m^{-2}) along the examined transects (1=32-35 m; 2=35-38 m; 3=38-40 m) with quantification of the colonies covered by mucilage, macroalgae and other epibionts on the three portions of the surveyed shoal during 2014 and 2019.

Densità di P. clavata (colonie m^{-2}) nei transetti esaminati (1=32-35 m; 2=35-38 m; 3=38-40 m) con quantificazione delle colonie ricoperte da mucillagini, macroalghe e altri epibionti presso le tre porzioni della secca indagata durante il 2014 e il 2019.

At the top of the shoal, the mean density decreased from 10.92 ± 2.96 colonies m^{-2} in 2014 to 6.62 ± 2.56 colonies m^{-2} in 2019, when 45.9% of the colonies was dead and the great majority of the living ones (94.6%) was covered by macroalgal skein. Same scenario at the slope of the shoal where the density decreased from 11.54 ± 4.14 to 6.09 ± 2.06 colonies m^{-2} , 46.9% of the colonies was dead and macroalgae assemblages covered most of the remaining living colonies of *P. clavata* (96.2%). On the vertical wall of the shoal the mortality was lower (4.9%), the mean density resulted of 12.48 ± 2.49 colonies m^{-2} in 2014 and 11.24 ± 2.98 colonies m^{-2} in 2019, and only 27.3% of the living colonies were covered by macroalgae (Fig. 1). A total of 33 macroalgae was identified living on the collected portions of *P. clavata* (27 Rhodophyta, 2 Chlorophyta and 4 Ochrophyta-Phaeophyceae), including seven alien species such as *Antithamnionella elegans* (Berthold) J.H. Price & D.M. John, *A. spirographidis* (Schiffner) E.M. Wollaston, *Asparagopsis armata* Harvey, *Ceramium bisporum* D.L. Ballantine, *Pylaiella littoralis*

(Linnaeus) Kjellman, *Polysiphonia atlantica* Kapraun & J.N. Norris and *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R.E. Norris. The erect algae *Sporochnus pedunculatus* (Hudson) C. Agardh and *P. littoralis* were the most abundant species settled on the living portions of *P. clavata*, representing the 53% and 16% of the biomass, respectively. Other algae and bryozoans (mainly belonging of the genus *Savignyella*) were recorded growing as epibionts on these two main algal species. The macroalgal colonization seems to start from the apical part of the gorgonians and gradually covers the whole colony.

Conclusions - The loss of habitat complexity caused by extensive mass mortalities of *P. clavata* is rising a wide concern among scientists because it could lower species diversity and alter ecosystem functioning, with the concomitant losses of ecological goods and services (Ponti *et al.*, 2018). The global warming and the increasing of nutrients in the water due to both natural and anthropogenic events are the main responsible of microalgal blooms, including those of mucilage-forming species (Moore *et al.*, 2008). In 2018, the Tremiti Islands MPA experienced a massive production of mucilages due to a multispecific assemblage of Bacillariophyceae (Piazza *et al.*, 2019) that entirely covered the population of *P. clavata* to such an extent that it was not possible to quantify the mortality with visual techniques since all the colonies were covered and the seabed was uniform. Despite the causes of this bloom are difficult to assess clearly, it is likely that this massive mucilaginous bloom severely affected the population of *P. clavata*, causing the mortality of some of the colonies. These disturbance episodes could have acted as a stressing agent, compromising the overall health of *P. clavata* toward macroalgae colonisation. However, it is noteworthy the unusual invasive behaviour of *S. pedunculatus*, a species already recorded in the study area (Cormaci *et al.*, 2000) but never observed as epibiont of gorgonians. Colonies affected by overgrowth of *S. pedunculatus* seemed to show necrosis of the living tissues that became more susceptible to colonisation by other epibionts (*e.g.* bryozoans and other algae, including alien species). The thalli of *S. pedunculatus* collected on *P. clavata* were sporophytes, while the microscopic ectocarpoid gametophytes occurs in the winter period. This succession of asexual (macro-sporophyte) and sexual (micro-gametophyte) stages could allow the gorgonians recovery during winter, despite the damages caused by the sporophyte can be irreparable, representing a permanent threat. On the other hand, the co-occurring *P. littoralis* is a common fast-growing epilithic and epiphytic brown alga that dominates during spring and early summer, and starts to detach and decay in mid-summer. This species, like other Ectocarpales, produces polysaccharides and humic acids (Leppard, 1973) normally involved in mucilage production, and its negative effects have been already observed on fish egg survival and on the recruitment of the kelp *Fucus vesiculosus* Linnaeus (Råberg *et al.*, 2005). Mechanism by which *S. pedunculatus* and *P. littoralis* impair *P. clavata* could be various, from the physical effects of overgrowth and tissue necrosis to allelopathic interactions, and are likely to occur in already stressed populations. In fact, the colonies present on the wall of the shoal were less affected by mucilages in 2018 (Piazza *et al.*, 2019) and resulted overall healthier than those on the top and the slope of the shoal, as well as less affected by macroalgae epibionts. Their deeper occurrence and their position on a vertical substrate can reduce the entity of the stress, including a minor light availability for algal growth and a less trapping of mucilaginous masses, as well as, possibly, a higher exposure to epibiont removal by currents. Further studies are needed to better understand the dynamics driving the massive colonization of macroalgae affecting the gorgonians and the consequent mortality event, that could occur in further areas of the basin.

References

- CHIMIENTI G., STITHOU M., DALLE MURA I., MASTROTOTARO F., D'ONGHIA G., TURSI A., IZZI C., FRASCHETTI S. (2017) - An explorative assessment of the importance of Mediterranean coralligenous habitat to local economy: the case of recreational diving. *J. Environ. Account. Manag.*, **5** (4): 315-325.
- CORMACI M., FURNARI G., ALONGI G., CATRA M., SERIO D. (2000) - The benthic algal flora on rocky substrata of the Tremiti Islands (Adriatic Sea). *Plant Biosyst.*, **134** (2): 133-152.
- FAO (2009) - International guidelines for the management of deep-sea fisheries in the high seas. FAO, Rome: 73 p.
- GARRABOU J., GÓMEZ-GRAS D., LEDOUX J.-B., LINARES C., BENSOUSSAN N., LÓPEZ-SENDINO P., BAZAIRI H., ESPINOSA F., RAMDANI M., GRIMES S., BENABDI M., BEN SOUISSI J., SOUFI E., KHAMASSI F., GHANEM R., OCAÑA O., RAMOS-ESPLÀ A., IZQUIERDO A., ANTON I., RUBIO-PORTILLO E., BARBERA C., CEBRIAN E., MARBÀ N., HENDRIKS I.E., DUARTE C.M., DEUDERO S., DÍAZ D., VÁZQUEZ-LUIS M., ALVAREZ E., HEREU B., KERSTING D.K., GORI A., VILADRICH N., SARTORETTO S., PAIRAUD I., RUITTON S., PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., ROUANET E., TEIXIDÓ N., GATTUSO J.-P., FRASCHETTI S., RIVETTI I., AZZURRO E., CERRANO C., PONTI M., TURICCHIA E., BAVESTRELLO G., CATTANEO-VIETTI R., BO M., BERTOLINO M., MONTEFALCONE M., CHIMIENTI G., GRECH D., RILOV G., TUNEY KIZILKAYA I., KIZILKAYA Z., TOPÇU N.E., GEROVASILEIOU V., SINI M., BAKRAN-PETRICIOLI T., KIPSON S., HARMELIN J.G. (2019) - Collaborative database to track mass mortality events in the Mediterranean Sea. *Front. Mar. Sci.*, **6**: 707.
- LEPPARD G.G. (1973) - Secretion of acid polysaccharides by the brown alga *Pilayella littoralis*. *Can. J. Bot.*, **51** (5): 957-965.
- MOORE S.K., TRAINER V.L., MANTUA N.J., PARKER M.S., LAWS E.A., BACKER L.C., FLEMING L.E. (2008) - Impacts of climate variability and future climate change on harmful algal blooms and human health. *Environ. Health*, **7** (2): S4.
- PIAZZA G., BUZZI F., CARONNI S., CITTERIO S., PROVERA I., CHIMIENTI G. (2019) - Prime osservazioni sul *bloom* mucillaginoso dell'estate 2018 sui fondali a coralligeno delle Isole Tremiti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **26** (1): 320-321.
- PONTI M., TURICCHIA E., FERRO F., CERRANO C., ABBIATI M. (2018) - The understory of gorgonian forests in mesophotic temperate reefs. *Aquat. Conserv.*, **28** (5): 1153-1166.
- RÅBERG S., BERGER-JÖNSSON R., BJÖRN A., GRANÉLI E., KAUTSKY L. (2005) - Effects of *Pilayella littoralis* on *Fucus vesiculosus* recruitment: implications for community composition. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **289**: 131-139.
- WEINBERG S. (1978) - The minimal area problem in invertebrate communities of Mediterranean rocky substrata. *Mar. Biol.*, **49**: 33-40.

This study benefited from funding by the Italian Ministry of Education, University and Research (PON 2014-2020, AIM 1807508, Attività 1, Linea 1), the Ente Parco Nazionale del Gargano (Research agreement with CoNISMa N. 21/2018) and the National Geographic Society (Grant EC-176R-18).

C. DENTICO, M. GIANI, L. URBINI, M. KRALJ, F. RELITTI, M. BAZZARO,
C. FABBRO, C. DE VITTOR

Sezione di Oceanografia, Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale, Trieste, Italia.
mgiani@inogs.it

CAMBIAMENTI CLIMATICI E ACIDIFICAZIONE NELLE ACQUE COSTIERE DEL GOLFO DI TRIESTE (MAR ADRIATICO)

CLIMATIC CHANGES AND ACIDIFICATION IN THE COASTAL WATERS OF THE TRIESTE GULF (ADRIATIC SEA)

Abstract - *The analysis of the monthly time series of temperature, salinity, and of the carbonate system measured in the Gulf of Trieste LTER station C1 (2011-2019) allowed to evidence some relevant changes occurring in the coastal waters such as warming of the whole water column and seawater acidification.*

Key-words: *seawater warming, ocean acidification, coastal acidification, Gulf of Trieste, Adriatic Sea.*

Introduzione - L'incremento della quantità di anidride carbonica assorbita dagli oceani a seguito della Rivoluzione Industriale ha causato, su scala globale, un processo noto come acidificazione degli oceani. Gli effetti negativi di tale fenomeno potrebbero risultare amplificati in ecosistemi costieri, quali il Golfo di Trieste (GoT) caratterizzati da ampia variabilità meteorologica e idrologica. Ci sono evidenze che il Mediterraneo (Kapsenberg *et al.*, 2017; Hassoun *et al.*, 2019), così come l'Adriatico settentrionale, sia soggetto al processo di acidificazione. La comparazione dei dati di pH relativi alle acque dense formatesi nell'Adriatico settentrionale negli inverni del 1982-1983 e 2007-2008 ha permesso di evidenziare una diminuzione di pH_T di $-0,063$ unità, corrispondente a $-0,0025$ unità pH_T /anno (Luchetta *et al.*, 2010). Un altro processo che condiziona l'acidificazione è il riscaldamento delle acque superficiali. Misure satellitari della temperatura superficiale del mare indicano che dal 1982 al 2018 le acque dell'intero Mediterraneo hanno subito un riscaldamento pari a $0,041$ °C/anno (Pisano *et al.*, 2020). Il GoT è altresì fortemente influenzato dalla presenza di apporti fluviali altamente variabili (fiume Isonzo, costa nord-ovest del golfo) che condizionano la salinità, il sistema carbonatico, l'apporto di nutrienti inorganici e la produttività primaria. Il sistema riceve inoltre intrusioni di acque oligotrofiche nell'area sud-orientale attraverso la corrente adriatica orientale (EAC). Dall'analisi dei dati di nutrienti e di clorofilla *a*, emerge che il GoT, così come l'Adriatico settentrionale, risulta anche soggetto a una generale tendenza alla riduzione della biomassa fitoplanctonica, presumibilmente connessa alla perdurante riduzione del fosforo reattivo (Giani *et al.*, 2012; Kralj *et al.*, 2019). Nel presente lavoro vengono presi in esame i dati relativi ad una serie temporale ancora limitata (8 anni, da marzo 2011 a febbraio 2019) di misure mensili del sistema carbonatico basate su pH e alcalinità totale, contestualmente alle misure di temperatura, salinità, clorofilla *a*, nutrienti ed ossigeno su scale temporali più lunghe (dal 1987 al 2019). I campioni sono stati raccolti presso il sito LTER-C1 (Fig. 1, profondità del fondale: 17,5 m), stazione di monitoraggio ecologico a lungo termine dal 1970. Lo scopo del lavoro è ricercare eventuali tendenze temporali del sistema carbonatico e dei principali parametri che lo influenzano.

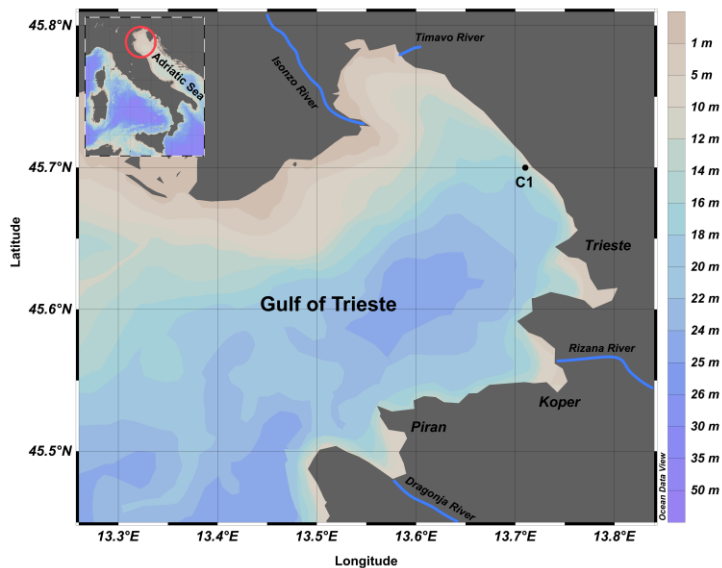


Fig. 1 - Area di studio, stazione C1-LTER nel Golfo di Trieste, Mare Adriatico settentrionale.
Study area, C1-LTER site in the Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea.

Materiali e metodi - Mensilmente, salinità e temperatura sono state misurate mediante sonda multiparametrica CTD e campioni di acqua di mare sono stati raccolti a 0,5, 5, 10 e 15 m di profondità, per la determinazione di pH, alcalinità totale, ossigeno disciolto, clorofilla *a* e nutrienti. Il pH è stato determinato su campioni raccolti direttamente in cuvette cilindriche mediante spettrofotometro a doppio raggio utilizzando l'indicatore purificato meta cresolo viola. Il risultato è stato espresso su scala totale (pH_T), con una precisione di $\pm 0,002$ unità di pH_T . L'alcalinità totale (A_T) è stata determinata su campioni prefiltrati con filtri in fibra di vetro (Whatman GF/F) precombusti (450 °C, 4 ore) attraverso titolazione potenziometrica in cella aperta. L'accuratezza della misura è stata determinata utilizzando materiale certificato di riferimento ed è risultata inferiore a $\pm 2,0 \mu\text{mol kg}^{-1}$. L'ossigeno disciolto è stato determinato secondo il metodo Winkler mediante titolatore automatico. I campioni per l'analisi di clorofilla *a* sono stati filtrati su filtri in fibra di vetro (Whatman GF/F) e analizzati per via spettrofluorimetrica. I nutrienti inorganici disciolti (nitriti, nitrati, ammonio, fosfati e silicati) sono stati prefiltrati su filtri in fibra di vetro (Whatman GF/F) precombusti (450 °C, 4 ore) e analizzati con metodo colorimetrico standard mediante autoanalyzer.

Risultati - L'analisi dei dati relativi al periodo marzo 2011 - febbraio 2019 permette di evidenziare una tendenza alla riduzione del pH_T ($-0,0042$ unità pH_T/anno , Fig. 2). Tale diminuzione risulta più elevata delle stime ricavate sulla base delle misurazioni effettuate da Luchetta *et al.* (2010) nell'ambito di due crociere invernali nell'alto Adriatico ($-0,0025$ unità pH_T/anno), e rispetto a quanto evidenziato nel Mediterraneo occidentale ($-0,0028$ unità pH_T/anno , Kapsenberg *et al.*, 2017). La diminuzione di pH_T evidenziata nel golfo è tuttavia inferiore a quella osservata nelle acque superficiali del bacino orientale del Mediterraneo ($-0,0082$ unità/anno, Hassoun *et al.*, 2019). Tali variazioni rientrano comunque nell'intervallo di variabilità stagionale dei valori di pH_T nel GoT che, nel corso di un anno, può raggiungere le 0,4 unità, ma che può essere anche maggiore in caso di fenomeni di risalita di acque ipossiche, evidenziati in concomitanza ad eventi di bora nel periodo tardo estivo (Kralj *et al.*, 2019). La breve serie temporale permette anche di identificare una significativa tendenza alla diminuzione dell'alcalinità ($r = -0,114$, $p < 0,1$) ed una concomitante tendenza all'aumento della salinità ($r = 0,148$, $p < 0,01$), dovuta probabilmente a minori apporti di

acque dolci e a variazioni della salinità nelle acque che entrano nel golfo attraverso l'EAC. Similmente a quanto osservato nel Mediterraneo, un intenso riscaldamento ha interessato il GoT nel corso degli ultimi decenni (0,046 °C/anno, Fig. 3). Tale incremento di temperatura risulta più marcato rispetto alla tendenza centennale rilevata nel bacino (1,1-1,3 °C/100 anni, Raicich e Colucci, 2019), come evidenziato anche da Kralj *et al.* (2019) relativamente al periodo estivo. La tendenza al riscaldamento è in accordo con le osservazioni (0,045±0,007 °C/anno) da telerilevamento effettuate per l'Adriatico in generale (Pisano *et al.*, 2020) e per le acque al largo dell'Adriatico settentrionale (0,01-0,06 °C/anno; Vilibić *et al.*, 2019). Contestualmente, l'analisi delle serie temporali relative al periodo 1987-2019 consente di evidenziare una significativa ($p < 0,005$) tendenza lineare alla riduzione della clorofilla *a*, dell'ossigeno disciolto e dei fosfati.

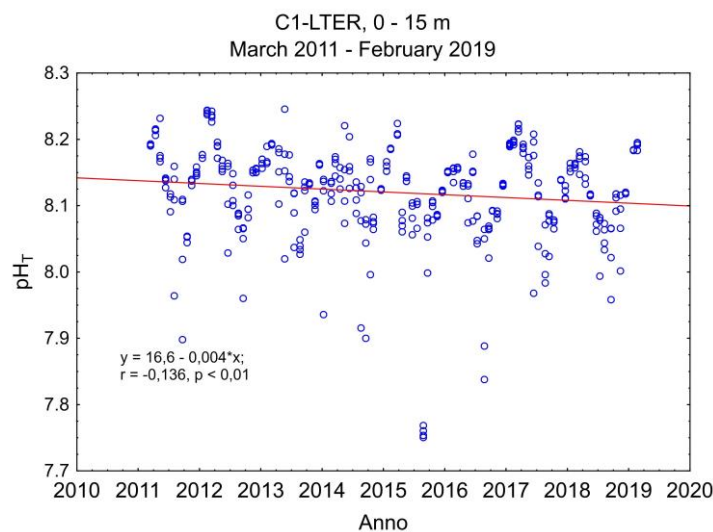


Fig. 2 - Valori di pH_T in colonna d'acqua misurati mensilmente nella stazione C1-LTER a 0, 5, 10 e 15 m di profondità. La linea continua rappresenta la regressione lineare.

Monthly measurements of seawater pH_T at C1-LTER site at the depths of 0, 5, 10 and 15 m. The solid line represents the linear regression.

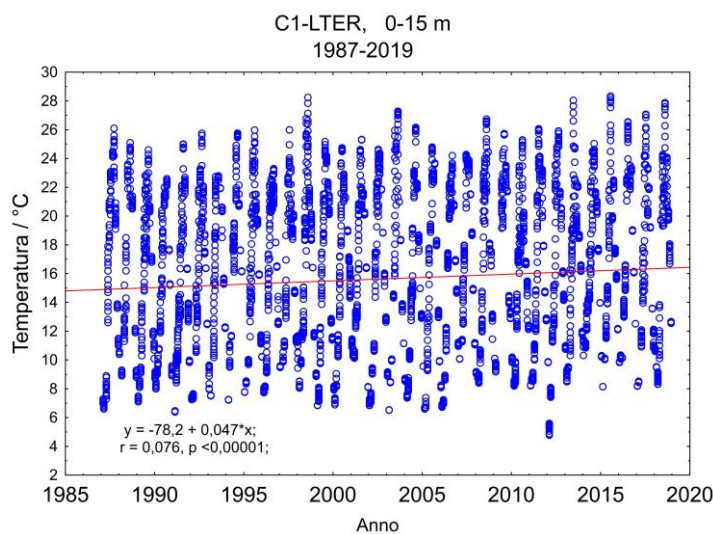


Fig. 3 - Temperatura della colonna d'acqua misurata mensilmente nella stazione C1-LTER. La linea continua rappresenta la regressione lineare.

Monthly measurements of seawater temperature at C1-LTER site. The solid line represents the linear regression.

Conclusioni - Nonostante il Golfo di Trieste sia soggetto all'elevata variabilità del forzante atmosferico, che caratterizza la regione, dell'apporto delle acque continentali e di quelle meridionali che causano notevoli variazioni delle caratteristiche della massa d'acqua, l'analisi della serie temporale del sistema carbonatico permette di evidenziare una tendenza alla progressiva acidificazione delle acque più costiere. Le forzanti di tali variazioni risultano essere l'incremento della dissoluzione della CO₂ atmosferica, l'aumento della temperatura, che favorisce la dissociazione dell'acido carbonico, e gli eventi di *upwelling* di acque ipossiche nel periodo tardo estivo. Parallelamente, l'analisi della più lunga serie storica relativa a clorofilla, ossigeno e nutrienti inorganici conferma la tendenza alla riduzione della biomassa fitoplanctonica. La tendenza ad un aumento dell'oligotrofia, pertanto, potrebbe agire sinergicamente al processo di acidificazione.

Bibliografia

- GIANI M., DJAKOVAC T., DEGOBBIS D., COZZI S., SOLIDORO C., FONDA UMANI S. (2012) - Recent changes in the marine ecosystems of the northern Adriatic Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **115**: 1-13.
- HASSOUN A.E.R., FAKHRI M., RAAD N., ABOUD-ABI SAAB M., GEMAYEL E., DE CARLO E.H. (2019) - The carbonate system of the Eastern-most Mediterranean Sea, Levantine Sub-basin: variations and drivers. *Deep Sea Res. Pt. II*, **164**: 54-73.
- KAPSENBERG L., ALLIOUANE S., GAZEAU F., MOUSSEAU L., GATTUSO J.-P. (2017) - Coastal ocean acidification and increasing total alkalinity in the northwestern Mediterranean Sea. *Ocean Sci.*, **13** (3): 411-426.
- KRALJ M., LIPIZER M., ČERMELJ B., CELIO M., FABBRO C., BRUNETTI F., FRANCÉ J., MOZETIČ P., GIANI M. (2019) - Hypoxia and dissolved oxygen trends in the northeastern Adriatic Sea (Gulf of Trieste). *Deep Sea Res. Pt. II*, **164**: 74-88.
- LUCHETTA A., CANTONI C., CATALANO G. (2010) - New observations of CO₂-induced acidification in the northern Adriatic Sea over the last quarter century. *Chem. Ecol.*, **26** (Suppl. 1): 1-17.
- PISANO A., MARULLO S., ARTALE V., FALCINI F., YANG C., LEONELLI F.E., SANTOLERI R., BUONGIORNO NARDELLI B. (2020) - New evidence of Mediterranean climate change and variability from sea surface temperature observations. *Remote Sens.*, **12** (1): 132.
- RAICICH F., COLUCCI R.R. (2019) - A near-surface sea temperature time series from Trieste, northern Adriatic Sea (1899-2015). *Earth Syst. Sci. Data*, **11** (2): 761-768.
- VILIBIĆ I., ZEMUNIK P., ŠEPIĆ J., DUNIĆ N., MARZOUK O., MIHANOVIĆ H., DENAMIEL C., PRECALI R., DJAKOVAC T. (2019) - Present climate trends and variability in thermohaline properties of the northern Adriatic shelf. *Ocean Sci.*, **15** (5): 1351-1362.

R. GUASTELLA¹, A. MARCHINI¹, J. EVANS², A. CARUSO³, L. LANGONE⁴,
R. LECCI⁵, N. MANCIN¹

¹Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Italia.

²Department of Biology, University of Malta, Malta.

³DISTEM, Università di Palermo, Italia.

⁴ISP-CNR, Bologna, Italia.

⁵CMCC, Lecce, Italia.

agnese.marchini@unipv.it

L'INVASIONE DI AMPHISTEGINA LOBIFERA (FORAMINIFERA) "SULL'ONDA" DEL RISCALDAMENTO DEL MAR MEDITERRANEO

THE INVASION OF AMPHISTEGINA LOBIFERA (FORAMINIFERA) "ON THE WAVE" OF THE MEDITERRANEAN SEA WARMING

Abstract - The benthic foraminifer *Amphistegina lobifera* Larsen, 1976, a non-indigenous unicellular species coming from the Red Sea through the Suez Canal, is currently well-established and abundant in the Maltese Islands (Central Mediterranean), where it was recorded for the first time in 2006. Here, we backdate of several decades its first arrival, from the analysis of two sediment cores collected in the Marsamxett Harbour, Malta. Results show that *A. lobifera* had already occurred in Malta in the 1940s with considerable implications for previous hypothesis of its spreading patterns and rates. Nonetheless the species occurred with low abundance until 1990, when it sharply increased in abundance. We suggest that this abundance pattern has been favoured by the rising sea-surface temperature experienced by the Mediterranean Sea during the last decades.

Key-words: benthic Foraminifera, non-indigenous species, radiometric dating, global warming, Mediterranean Sea.

Introduzione - A seguito della realizzazione del Canale di Suez nel 1869, il Mar Mediterraneo è andato incontro ad un progressivo processo di colonizzazione da parte di specie indo-pacifiche provenienti dal Mar Rosso. Un microorganismo marino particolarmente invasivo è *Amphistegina lobifera* Larsen, 1976, un foraminifero bentonico (Protista) che ad oggi risulta essere estremamente diffuso ed abbondante nel Mediterraneo Orientale (Langer *et al.*, 2012). Negli ultimi decenni *A. lobifera* è stata segnalata anche nel Mediterraneo Centrale, dove uno dei primi rinvenimenti è avvenuto nelle isole maltesi nel 2006 (Yokes *et al.*, 2007). Oggi questa specie aliena delle dimensioni di un granello di sabbia è presente con elevate abbondanze in tutto l'arcipelago (Guastella *et al.*, 2019) ed è probabile che la sua prima reale comparsa nell'area risalga a ben prima del 2006. Lo scopo di questo studio è quello di datare il primo effettivo arrivo di *A. lobifera* a Malta e di ricostruire nel tempo il suo processo di invasione, valutando se l'incremento della temperatura superficiale (SST) del Mar Mediterraneo, registrato soprattutto negli ultimi 30 anni, ha favorito la sua crescente abbondanza e diffusione. Le informazioni qui descritte sono state ricavate dallo studio multidisciplinare di due carote di sedimento, vincolate cronologicamente attraverso analisi radiometriche e analizzate nel loro contenuto micropaleontologico.

Materiali e metodi - Dopo un'accurata scelta del sito di campionamento, le due carote di sedimento sono state prelevate a maggio 2018 e settembre 2019, nel porto di Marsamxett, Malta (Lat. 35°54'16.7"N; Long. 14°30'27.5"E), a pochi metri di distanza l'una dall'altra ed a una batimetria, rispettivamente, di 16 m e 17 m (CORE18; CORE19). Le due carote sono state tagliate longitudinalmente in due metà e poi sezionate centimetro per centimetro. Tutti i campioni sono stati preparati per le analisi:

granulometrica, radiometrica e micropaleontologica. Per l'analisi granulometrica è stata applicata la metodologia descritta da Blott e Pye (2012) ottenendo pesi percentuali della frazione ghiaiosa, sabbiosa e pelitica di ciascun campione. I dati granulometrici sono stati utilizzati per valutare la continuità dei record analizzati e la presenza di sedimento fine utile per la datazione radiometrica. Per l'analisi micropaleontologica, i campioni di sedimento sono stati asciugati, pesati (circa 7 g) ed infine lavati su un setaccio di 63 μm ; i residui sono stati analizzati allo stereomicroscopio, al fine di ottenere l'abbondanza assoluta di *Amphistegina lobifera* (numero di individui per grammo di sedimento secco, Ng^{-1}). Le analisi radiometriche sono state eseguite tramite la misurazione delle concentrazioni dell'isotopo ^{210}Pb , che presenta un'emivita di 22,3 anni, e dell'isotopo figlio ^{210}Po , considerando un equilibrio secolare tra i due. I tassi di sedimentazione sono stati calcolati seguendo il modello di Flusso/Sedimentazione costanti (Robbins, 1978). Infine, è stata presa in considerazione la temperatura superficiale del mare (SST) simulata dalle analisi del Mar Mediterraneo [ref. MEDSEA_REANALYSIS_PHY_006_009, ris. spaziale $\sim 6\text{km}$] e disponibile come medie mensili per l'intervallo temporale 1955-2015. È stata sotto-campionata ed analizzata la temperatura alla profondità di 15 m per il punto griglia del modello più prossimo al sito di campionamento delle carote [Lat. $35^{\circ}56'15''\text{N}$; Long. $14^{\circ}30'0''\text{E}$]. A partire dai dati di SST a disposizione, sono state calcolate le medie annuali e le medie invernali considerando i mesi di gennaio, febbraio e marzo.

Risultati - In entrambe le carote (CORE18 e CORE19), i record sono risultati continui e con sedimenti fini adatti alla datazione radiometrica. Le curve di concentrazione del ^{210}Pb mostrano il tipico profilo decrescente con la profondità (Fig. 1). Il tasso di accumulo dei sedimenti (*sediment accumulation rate* - SAR) risulta costante ed è pari a circa 0,22 cm all'anno; il modello di età che ne deriva indica che ciascun centimetro di sedimento depositato corrisponde ad un intervallo temporale di circa 4,5 anni (Fig. 1). Anche le curve di abbondanza assoluta di *A. lobifera* mostrano un andamento decrescente andando in profondità nella carota. La specie è continuamente presente dal cm 0-1 fino al cm 16-17 sotto il fondale marino (*below sea floor* - bsf). Nella porzione superiore delle carote, a partire dal cm 6-7 bsf, *A. lobifera* aumenta esponenzialmente in abbondanza con un picco al cm 2-3 bsf. Sulla base del modello di età risulta che la prima comparsa di *A. lobifera* nel sito indagato è avvenuta negli anni '40 del Novecento. Durante i primi decenni della sua colonizzazione e fino agli anni '80, sebbene presente con continuità, *A. lobifera* mostra un numero di individui estremamente basso. A partire dagli anni '90, invece, questa specie non-indigena aumenta sempre più rapidamente in abbondanza, registrando il suo picco tra il 2005 ed il 2010, proprio quando è stata segnalata da Yokes *et al.* (2007) per la prima volta nell'arcipelago maltese. Poiché *A. lobifera* è una specie termofila di origine indo-pacifica, il fattore che probabilmente ne controlla la distribuzione ed abbondanza in Mediterraneo è la temperatura delle acque superficiali (Langer *et al.*, 2012). La correlazione di Spearman tra i valori di abbondanza assoluta di *A. lobifera* e quelli di SST misurata nei pressi del sito di campionamento, calcolata sia come media annuale, sia come media invernale, rivelano in entrambe le carote analizzate una stretta relazione, altamente significativa, tra le due variabili (Tab. 1).

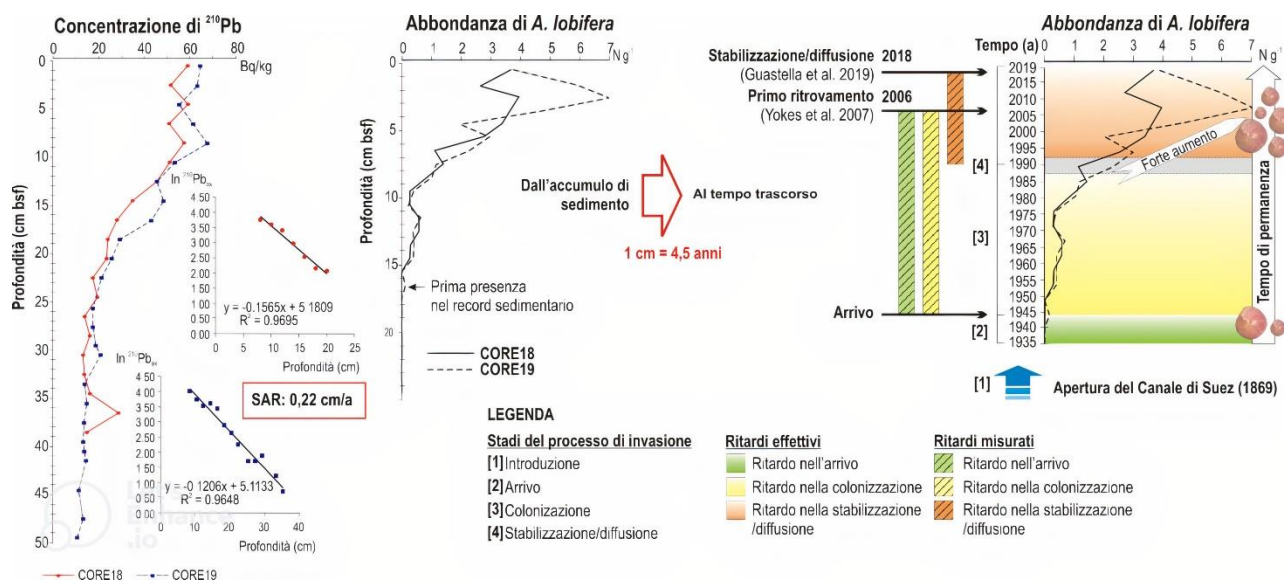


Fig. 1 - Curve della concentrazione di ²¹⁰Pb e di abbondanza assoluta di *A. lobifera* lungo le carote studiate espresse in profondità. A destra, schema con le diverse fasi d’invasione e i ritardi effettivi e misurati datati in anni. Si noti come il primo ritrovamento segnalato da Yokes *et al.* nel 2006 sia avvenuto con un ritardo di circa 60 anni rispetto all’effettivo primo arrivo nell’area. Curves of ²¹⁰Pb concentration and absolute abundance of *A. lobifera* along the studied records reported in depth. On the right, scheme of the different steps of invasion and the actual and measured lag times dated in years. It is noteworthy that the first finding documented by Yokes *et al.* in 2006 occurred with a lag time of about 60 years.

Tab. 1 - Correlazione tra abbondanze assolute di *A. lobifera* e valori di SST media annuale e SST media invernale, calcolata come coefficiente di Spearman (*r*). Correlation between absolute abundances of *A. lobifera* and average annual and winter SST, calculated with Spearman’s coefficients (*r*).

Coefficienti di Spearman	SST – media annuale		SST – Media invernale	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
CORE18	0,74556	0,00221	0,78406	0,0009
CORE19	0,84846	0,00013	0,80876	0,00046

In particolare, nell’intervallo in cui *A. lobifera* comincia nettamente ad aumentare, ovvero tra gli anni '80 e gli anni '90, anche la SST annuale media aumenta progressivamente, portando a registrare oggi un incremento complessivo medio di circa 1 °C. Questa correlazione è supportata dagli elevati valori dei coefficienti di Spearman (0,75 in CORE18 e 0,85 in CORE19). La correlazione positiva è ancor più marcata, con valori di *r_s* rispettivamente di 0,78 e 0,81 nelle due carote, se si confronta l’incremento in abbondanza assoluta di *A. lobifera* con i valori di SST della stagione invernale. Basandosi quindi sull’ipotesi che a limitare l’aumento e l’espansione geografica di *A. lobifera* in Mediterraneo sia soprattutto l’isoterma invernale 14 °C (Langer *et al.*, 2012 e referenze al suo interno), si può ragionevolmente affermare che il progressivo aumento della SST avvenuto durante gli ultimi 30 anni, soprattutto nella stagione invernale, abbia aperto le porte del Mediterraneo Centrale a questa specie non-indigena.

Conclusioni - L'analisi di carote di sedimento datate radiometricamente ha permesso di retrodatare di oltre 60 anni il primo arrivo della specie non-indigena *Amphistegina lobifera* nel porto di Marsamxett (Malta), rispetto alla prima segnalazione nell'arcipelago maltese avvenuta nel 2006 (Yokes *et al.*, 2007). L'andamento delle abbondanze di *A. lobifera* segue con buona corrispondenza quello della temperatura delle acque superficiali: la specie ha infatti iniziato ad aumentare a partire dagli anni '90, momento in cui anche la SST del Mediterraneo ha raggiunto valori di quasi 1 °C superiori rispetto a quelli registrati nei decenni precedenti. I nostri risultati suggeriscono quindi che il processo di colonizzazione del Mediterraneo da parte di questa specie indo-Pacifica stia effettivamente seguendo il cambiamento climatico attualmente in corso. L'approccio micropaleontologico e paleontologico in generale, ancora molto poco utilizzato in biologia marina, risulta di fatto estremamente utile se applicato allo studio della colonizzazione di specie non-indigene di dimensioni ridotte che producono resti mineralizzati facilmente conservabili nei sedimenti (Albano *et al.*, 2021). I foraminiferi e altri protisti possono sfuggire all'occhio umano e passare inosservati per decenni fino a che la loro colonizzazione è talmente avanzata da causare danni all'ambiente invasivo. L'analisi di carote di sedimento consente non solo d'indagarne la storia dell'invasione in continuità temporale fin dal primo arrivo, ma consente anche di effettuare dei confronti diretti con alcuni dei parametri controllanti le dinamiche d'invasione, come la temperatura marina superficiale.

Bibliografia

- ALBANO P.G., STEGER J., BOŠNJAK M., DUNNE B., GUIFARRO Z., TURAPOVA E., HUA Q., KAUFMAN D.S., RILOV G., ZUSCHIN M. (2021) - Native biodiversity collapse in the eastern Mediterranean. *Proc. R. Soc. B*, **288**: 20202469.
- BLOTT S.J., PYE K. (2012) - Particle size scales and classification of sediment types based on particle size distributions: review and recommended procedures. *Sedimentology*, **59** (7): 2071–2096.
- GUASTELLA R., MARCHINI A., CARUSO A., COSENTINO C., EVANS J., WEINMANN A.E., LANGER M.R., MANCIN N. (2019) - "Hidden invaders" conquer the Sicily Channel and knock on the door of the Western Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **225**: 106234.
- LANGER M.R., WEINMANN A.E., LÖTTERS S., RÖDDER D. (2012) - "Strangers" in paradise: modelling the biogeographic range expansion of the foraminifera *Amphistegina* in the Mediterranean Sea. *J. Foramin. Res.*, **42** (3): 234-244.
- ROBBINS J.A. (1978) - Geochemical and geophysical applications of radioactive lead. In: Nriagu J.O. (ed), *Biogeochemistry of lead in the environment*. Elsevier Scientific, Amsterdam: 285-393.
- YOKES M.B., MERIC E., AVSAR N. (2007) - On the presence of alien foraminifera *Amphistegina lobifera* Larsen on the coasts of the Maltese Islands. *Aquat. Invasions*, **2** (4): 439-441.

M. MONTEFALCONE, A. AZZOLA, C. FRUSTI, M. INCANI, C. MORRI,
A. OPRANDI, C.N. BIANCHI

Seascape Ecology Lab., DiSTAV, Università di Genova, Italy.
monica.montefalcone@unige.it

CHANGES IN THE BENTHIC COMMUNITY OF THE MARINE CAVE "GROTTA AZZURRA" OF CAPO PALINURO (SALERNO, ITALY) AFTER 26 YEARS

CAMBIAMENTI NELLA COMUNITÀ BENTONICA DELLA GROTTA AZZURRA DI CAPO PALINURO (SALERNO, ITALIA) DOPO 26 ANNI

Abstract - Marine caves are unique and vulnerable habitats threatened by multiple global and local pressures. Changes in the sessile epibenthic community of the 'Grotta Azzurra' of Capo Palinuro during the last 26 years have been evaluated using growth forms as non-taxonomic descriptors on photographic samples collected in 1992 and 2018 in different zones along a confinement gradient. The outermost parts of the cave experienced major changes compared to the most confined zone, the latter resulting comparatively stable during the last three decades. Climatic disturbances, and especially thermal summer anomalies of 1994, 2003, 2012, and 2015, are likely to be the major driver of the change observed.

Key-words: sessile benthos, confinement gradient, climate change, thermal anomalies, Tyrrhenian Sea.

Introduction - Marine caves are unique and vulnerable habitats protected by the European Community (Habitat Directive 92/43 EEC). Marine caves represent a "natural laboratory" for studying the effects of change in environmental conditions on benthic communities (Bianchi *et al.*, 1996). Inside a cave, strong environmental gradients occur: within a few meters there are sharp modifications in light intensity, water movement, and trophic inputs, according to cave topography. The innermost parts of marine caves are usually dark, confined and poor in biotic cover. Effects of global change related to climate fluctuations are causing profound changes in the composition of marine communities over large spatial scales (Montefalcone *et al.*, 2018, and references therein). Benthic communities in marine caves are very sensitive to environmental alterations, originated by multiple global (Parravicini *et al.*, 2010; Montefalcone *et al.*, 2018) and local human pressures (Nepote *et al.*, 2017); nonetheless, our knowledge about pattern and consequences of their change with time is still incomplete as virtually no studies on marine caves tackle long term variations (Parravicini *et al.*, 2010). This study aims at evaluating long-term (26 years) change in sessile benthic communities along a gradient of confinement in the marine cave 'Grotta Azzurra' of Capo Palinuro, Tyrrhenian Sea.

Materials and methods - The Grotta Azzurra of Capo Palinuro (Salerno, Italy) is a semi-submerged marine cave of karsts origin (Fig. 1), reaching a maximum depth of about 30 m. With two distinct entrances and a wide lateral chamber, the cave has both the characteristics of a tunnel-shaped and of a blind-ended (cul-de-sac) cave. A major peculiarity of the Grotta Azzurra is the occurrence of warm sulphur-rich waters springing from both inside and outside the cavity. Large carpets of sulphur-oxidising bacteria develop on the vault, and the chemosynthetic primary production supports an unusual rich and abundant benthic fauna in the most confined parts of the cave (Bianchi *et al.*, 1998). Three zones have been identified in the cave according to the confinement gradient (Bianchi *et al.*, 1998; Fig. 1): 1) zone E at the entrance, where an abrupt reduction of light occurs; 2) zone T in the tunnel part of the cave, also known as 'Salone

Centrale' (Central Hall), where light is extremely feeble but currents are sensible and water exchange is still efficient; and 3) zone B in the blind-ended and most confined part of the cave, also completely dark, known as 'Sala della Neve' (Snow Hall), where sulphur springs occur. In each zone, random replicates of wire-frame photography (each covering a surface of 384 cm²) have been collected in 1992 and 2018, always on vertical walls and at the same depth of 10 m, for a total of 51 photoquadrats per year. Growth forms have been adopted as non-taxonomic descriptors of the cave benthic communities, which are informative about the ecosystem structure (Parravicini *et al.*, 2010). Photoquadrats have been analysed visually to estimate percentage cover of each growth form. Change in the cave benthic community of the three zones has been evaluated through multivariate analysis (nMDS), after arcsine $\sqrt{(x/100)}$ transformation of cover data; time-trajectories have been measured as the distances between the centroids of each zone in each period. The long term (1991-2019) trend of anomalies in maximal values of sea surface temperature (STT) off Palinuro (39° Lat. N and 14° Long. E) was plotted (Fig. 1) from satellite data of the US National Oceanic and Atmosphere Administration (NOAA) (data can be freely downloaded at <https://www.esrl.noaa.gov/psd/data/timeseries/>).

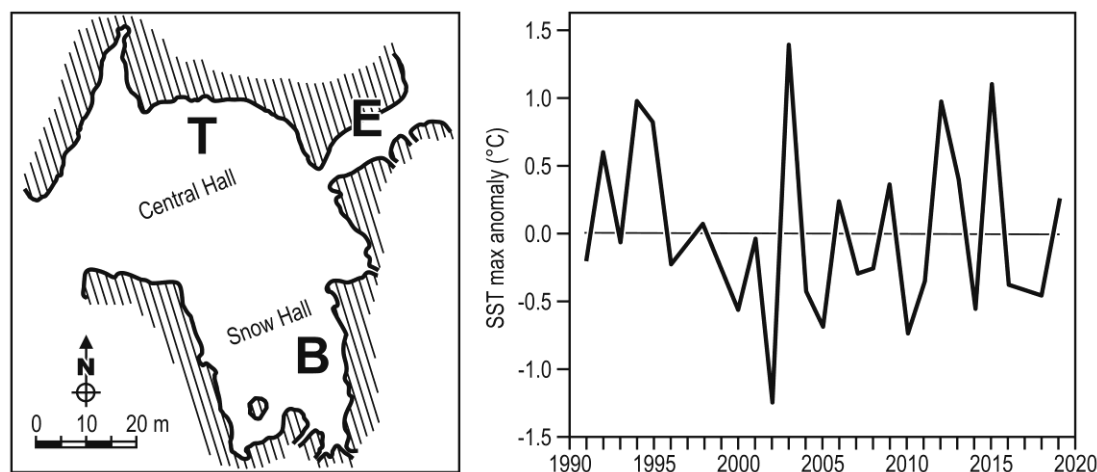


Fig. 1 - Plan view of the submerged portion of the marine cave 'Grotta Azzurra', with the three zones investigated: zone E at the entrance, zone T in the tunnel part, and zone B in the blind-ended part of the cave (left panel). Trend of thermal anomalies in sea surface temperatures (SST) maxima between 1991 and 2019 off Palinuro (right panel).

Pianta della porzione sommersa della Grotta Azzurra, con le tre zone indagate: zona E all'ingresso della grotta, zona T nella parte del tunnel e zona B nella parte a fondo cieco della grotta (a sinistra). Andamento delle anomalie termiche nella temperatura superficiale del mare (SST) massima tra il 1991 e il 2019 al largo di Palinuro (a destra).

Results - Multivariate analysis of growth form data ordered photoquadrat points along two roughly perpendicular gradients: a spatial one and a temporal one (Fig. 2). The spatial gradient appeared as an expression of confinement, with zones E and T on the upper left part of the graph and zone B on the lower right. The temporal gradient was evidenced by all 1992 points separated from those of 2018. Time trajectories showed that the major changes have been experienced by the benthic communities near the entrance and along the tunnel-shaped part of the cave, whilst the most confined Sala della Neve exhibited a lower degree of temporal change after 26 years. Multivariate dispersion was rather high, but for zone B. The trend of thermal anomalies in sea surface temperature (SST) between 1991 and 2019 showed four major positive peaks in 1994, 2003, 2012, and 2015 (Fig. 1).

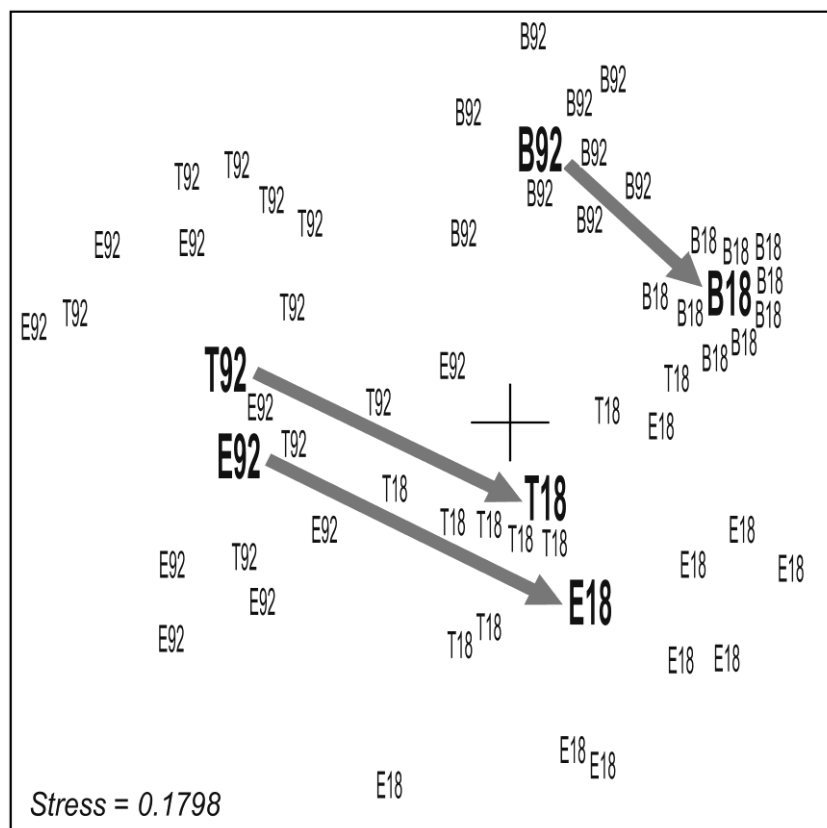


Fig. 2 - Ordination model (nMDS) of the multivariate analysis performed on photoquadrat cover data of growth forms in the 'Grotta Azzurra'. Small characters represent individual replicates, large ones the centroids: E, T, and B are the zones, 92 and 18 the years (1992, 2018). Arrows show the time trajectories of the three zones in the cave.

Modello di ordinamento (nMDS) dell'analisi multivariata eseguita sui dati di copertura delle forme di crescita nei fotoquadri della Grotta Azzurra. I caratteri piccoli rappresentano le singole repliche, quelli grandi i centroidi: E, T, e B sono le zone, 92 e 18 gli anni (1992, 2018). Le frecce indicano le traiettorie temporali delle tre zone nella grotta.

Conclusions - Changes in growth form composition reflect a different strategy of space occupation by benthic organisms. According to the confinement theory (Bianchi *et al.*, 1998), sessile organisms in the innermost dark zones of a cave are adversity-selected and therefore already adapted to extreme environmental conditions; in the Grotta Azzurra, they apparently turned out to be more resistant than those living in the zones more open to external influences, and thus most affected by mortality episodes during summer thermal anomalies (Gambi and Barbieri, 2012). Events of local mass mortality linked to positive thermal anomalies due to climate change have already been reported in other marine caves (Parravicini *et al.*, 2010; Zapata-Ramírez *et al.*, 2016, and references therein), as well as in the Grotta Azzurra of Capo Palinuro, where the gorgonian *Eunicella cavolini* (Koch, 1887) was damaged in late summer 2008 (Gambi *et al.*, 2010). Three years later a clear recovery of the species was observed due to high recruitment, with the population dominated by small-sized colonies (Gambi and Barbieri, 2012). Historical data are precious to define magnitude and pattern of change in the long term evolution of marine cave ecosystems (Montefalcone *et al.*, 2018), but quantitative historical information on cave assemblages is almost inexistent for most of the Mediterranean basin. Implementation of international legislations should thus promote regular monitoring programs on these unique priority habitats to better

understand patterns of change and estimate recovery time of species affected by mortality events.

References

- BIANCHI C.N., ABBIATI M., AIROLDI L., ALVISI M., BENEDETTI-CECCHI L., CAPPELLETTI A., CINELLI F., COLANTONI P., DANDO P.R., MORRI C., NICCOLAI I., PICCO P., SOUTHWARD A., SOUTHWARD E. (1998) - Hydrology and water budget of a submarine cave with sulphidic springs: the "Grotta Azzurra" of Capo Palinuro (Southern Italy). *Atti Assoc. Ital. Oceanol. Limnol.*, **12** (2): 285-301.
- BIANCHI C.N., CATTANEO-VIETTI R., CINELLI F., MORRI C., PANSINI M. (1996) - Lo studio biologico delle grotte sottomarine del Mediterraneo: conoscenze attuali e prospettive. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, **60-61**: 41-69.
- GAMBI M.C., BARBIERI F. (2012) - Population structure of the gorgonian *Eunicella cavolinii* in the "Grotta Azzurra" cave of Palinuro, after the mass mortality event in 2008. *Biol. Mar. Mediterr.*, **19** (1): 174-175.
- GAMBI M.C., BARBIERI F., SIGNORELLI S., SAGGIOMO V. (2010) - Mortality events along the Campania coast (Tyrrhenian Sea) in summers 2008 and 2009 and relation to thermal conditions. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (1): 126-127.
- MONTEFALCONE M., DE FALCO G., NEPOTE E., CANESSA M., BERTOLINO M., BAVESTRELLO G., MORRI C., BIANCHI C.N. (2018) - Thirty year ecosystem trajectories in a submerged marine cave under changing pressure regime. *Mar. Environ. Res.*, **137**: 98-110.
- NEPOTE E., BIANCHI C.N., MORRI C., FERRARI M., MONTEFALCONE M. (2017) - Impact of a harbour construction on the benthic community of two shallow marine caves. *Mar. Pollut. Bull.*, **114** (1): 35-45.
- PARRAVICINI V., GUIDETTI P., MORRI C., MONTEFALCONE M., DONATO M., BIANCHI C.N. (2010) - Consequences of sea water temperature anomalies on a Mediterranean submarine cave ecosystem. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **86** (2): 276-282.
- ZAPATA-RAMÍREZ P.A., HUETE-STAUFFER C., SCARADOZZI D., MARCONI M., CERRANO C. (2016) - Testing methods to support management decisions in coralligenous and cave environments. A case study at Portofino MPA. *Mar. Environ. Res.*, **118**: 45-56.

M. MONTEFALCONE, A. OPRANDI, A. AZZOLA, C. MORRI, C.N. BIANCHI

Seascape Ecology Lab., DiSTAV, Università di Genova, Italy.
monica.montefalcone@unige.it

THE TALE OF THE MALDIVIAN CORAL REEFS AFTER REPEATED CORAL BLEACHING

LA STORIA DELLE SCOGLIERE CORALLINE MALDIVIANE A SEGUITO DI RIPETUTI EVENTI DI SBIANCAMENTO DEI CORALLI

Abstract - Coral reefs are facing the consequences of large-scale changes in climate, such as coral bleaching and mass mortality. In 1998 a severe heat wave caused nearly 90% of coral mortality in all shallow reefs of the Maldives, and sixteen years were needed to recover these reefs from this bleaching event. In 2016 a new heat wave hit the Maldives, but coral mortality was lower than in 1998. Although the bleaching event in 2016 affected virtually all reefs, corals in remote areas showed higher resistance than those in areas subjected to higher levels of human pressures. The repeatedly high coral mortality and the long recovery period suggest that the predicted increase in frequency of bleaching events due to global warming would jeopardize the future of Maldivian coral reefs.

Key-words: thermal anomalies, coral bleaching, climate change, long data series, Maldives.

Introduction - Coral reefs are worldwide facing the consequences of large-scale changes in the Earth's climate. Ocean warming and particularly intense fluctuation in sea surface temperature have led to an increase in the severity, duration and frequency of coral bleaching events, which are threatening the long-term stability of coral reefs causing widespread mass mortality (Hughes *et al.*, 2018). Reefs in the world have recently been affected by three major global bleaching events, in 1997-1998, 2010, and 2014-2016. The 3-year duration of the 2014-2016 event was unprecedented, being the longest, the most widespread, and possibly the most damaging on record (Hughes *et al.*, 2018). Availability of twenty-three year series of data on coral cover in the Maldives, encompassing the three severe bleaching events, provided the opportunity to compare the effects of heat anomalies and to define the general patterns of coral recovery of Maldivian coral reefs from bleaching events.

Materials and methods - Between 1997 and 2021, 24 scientific cruises took place annually in April-May (excluded in 2011) in the atolls of the Maldives Archipelago. Every year, eight to eleven sites were chosen randomly and surveyed, totalling 178 sites. Data were collected in shallow reefs at about 5 m depth by scuba diving, at reef sites located either on the ocean- or lagoon-facing sides of the atoll rims, or on lagoon patch reefs. The percent substratum cover of live hard coral, bleached coral and recently dead coral was visually estimated by the plain view technique of Wilson *et al.* (2007), with divers hovering 1-2 m above the benthos over an area of about 20 m², in three replicate spots at each reef site and at each sampling time. A twenty-five year trend (1997-2021) of yearly maximum and mean sea surface temperature (SST) in the Maldives were plotted from data obtained from the US National Oceanic and Atmosphere Administration (NOAA) (data can be found at <https://coralreefwatch.noaa.gov/product/vs/gauges/maldives.php>), which have been calibrated with discontinuous field data on sea surface temperature collected during the biological surveys. Maximum SSTs were compared to the two known regional bleaching thresholds in the study area, corresponding to: i) 30.9 °C for severe bleaching events that may cause widespread coral mortality; and ii) 30.5 °C for moderate bleaching events that have no wide-scale effects on Maldivian coral reefs

(Montefalcone *et al.*, 2018). Twenty-five year trends (1997-2021) of the mean (\pm Standard Error, SE) percentage cover of live hard coral and recently dead coral in shallow reefs were obtained. Statistical differences in the live hard coral cover values between reefs in remote areas and reefs subjected to higher levels of human pressures were tested using Student t-test.

Results - Peaks in maximum SST coincided with the bleaching events that hit the Maldives during the investigated period (Fig. 1a). Only the heat waves of 1998 and 2016 greatly exceeded the severe regional bleaching threshold, thus causing widespread bleaching and mass coral mortality.

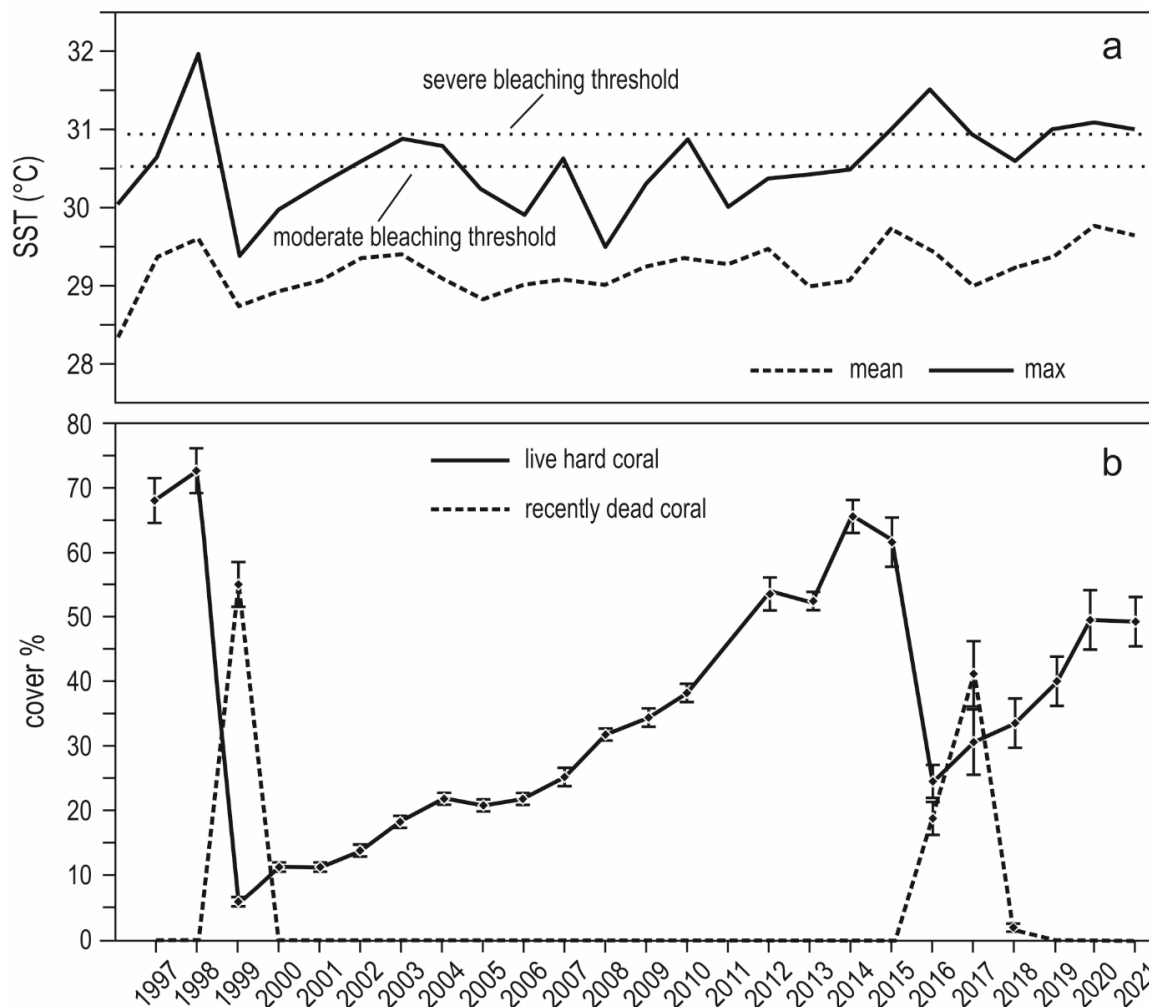


Fig. 1 - Twenty-five year trends (1997-2021) of a) yearly maximum (continuous line) and mean (dotted line) sea surface temperature (SST) in the Maldives. The regional threshold temperatures triggering moderate and severe bleaching events are also reported (according to Montefalcone *et al.*, 2018). b) Mean (\pm Standard Error) percent cover of live hard coral (continuous line) and recently dead coral (dashed line) in shallow reefs (about 5 m depth) of the Maldives.

Andamento negli ultimi 25 anni (1997-2021) di a) valore massimo annuale (linea continua) e valore medio (linea tratteggiata) della temperatura della superficie del mare (SST) alle Maldive. Sono indicate le soglie di temperatura regionali che causano eventi di sbiancamento moderati e severi (secondo Montefalcone et al., 2018). b) Valore medio (\pm Errore Standard) della percentuale di copertura di coralli duri vivi (linea continua) e coralli morti di recente (linea tratteggiata) sulle scogliere coralline superficiali (circa 5 m di profondità) delle Maldive.

Live hard coral cover on shallow reefs dropped to a mean value of $6.9\% \pm 0.3$ SE after the 1998 bleaching event and gradually returned to a nearly pre-bleaching value of $65.9\% \pm 2.8$ SE only by 2014 (Fig. 1b). In 2016, hard corals died once again following

the new mass bleaching and dropped to a mean live cover value of $25.1\% \pm 2.5$ SE. Cover of recently dead corals was higher in 1999 ($55\% \pm 4.2$ SE) than in 2017 ($41\% \pm 5.5$ SE). Bleaching affected indistinctly all sites. However, coral mortality showed high spatial variability and reefs in remote areas subjected to a comparatively lower degree of human pressure, such as in the Ari and Felidhoo atolls, maintained higher values of live hard coral cover than reefs in areas subjected to higher levels of human pressure, such as in North and South Malé atolls ($t=4.006$, $p<0.001$). In 2021 reefs recovered to a mean live hard coral cover value of $50.1\% \pm 4.7$ SE (Fig. 2).

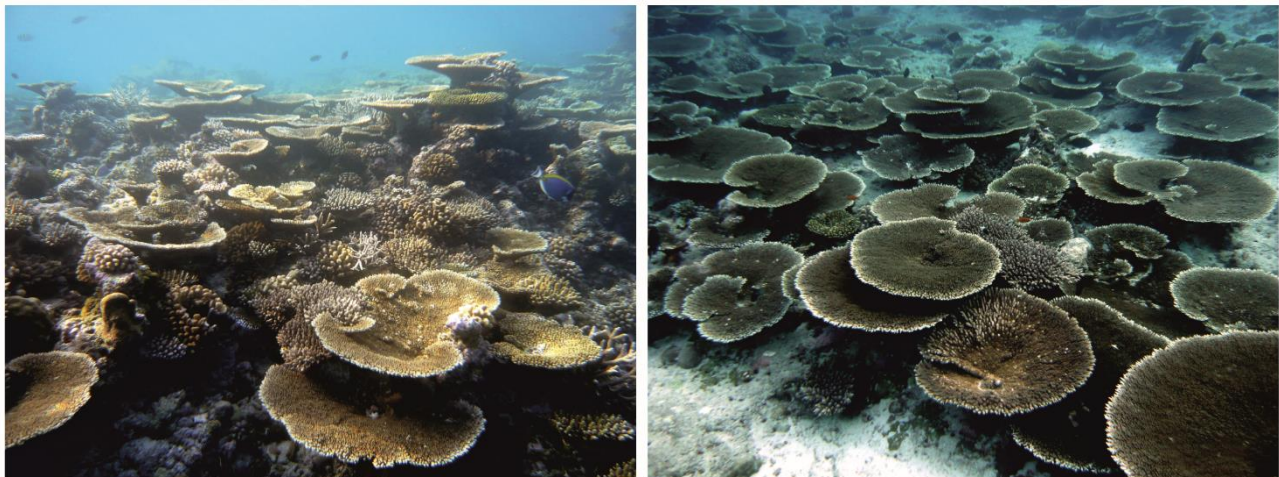


Fig. 2 - Representative pictures of Maldivian ocean (right) and lagoon (left) reefs in May 2021 at 5 m depth. *Immagini rappresentative di scogliere coralline oceaniche (destra) e lagunari (sinistra) delle Maldive a maggio 2021 a 5 m di profondità.*

Conclusions - Maldivian coral reefs experienced two mass coral bleaching events in 1998 and in 2016 and it took about sixteen years for reefs to recover the pre-bleaching hard coral cover and their structural complexity (Morri *et al.*, 2015; Bianchi *et al.*, 2017; Montefalcone *et al.*, 2018). Although the 2016 heat wave has been declared as the most damaging on record (Hughes *et al.*, 2018), corals in the Maldives survived to a larger extent with respect to 1998, providing some evidences in support to the adaptability bleaching hypothesis (Buddemeier and Fautin, 1993). Differences in intensity and duration between the two heat waves, however, hamper a definite answer. Geographical patterns in coral mortality during the last bleaching event, according to location and human pressure level, clearly showed how local stressors may exacerbate the effects of global climate disturbance (Nepote *et al.*, 2016; Pancrazi *et al.*, 2020). Frequency and severity of coral bleaching events is increasing (Hughes *et al.*, 2018), and even trusting in coral adaptation to ocean warming this process would probably be slower than the rate at which sea temperatures are currently rising. The long period needed for Maldivian coral reefs to recover from the severe bleaching event of 1998 (about 16 years) and the predicted frequency of two severe bleaching events per decade (Hughes *et al.*, 2018) would prevent future recovery of Maldivian reefs. However, the recovery from the 2016 event is proceeding at a faster pace thanks to higher cover of survivors, and it is therefore foreseeable that a complete recovery will take place in a shorter time (within the next 2-3 years), thus giving greater hopes to Maldivian coral reefs. Continuing our long-term series of data will remain the most effective tool to validate these predictions and evaluate temporal patterns.

References

- BIANCHI C.N., MORRI C., LASAGNA R., MONTEFALCONE M., GATTI G., PARRAVICINI V., ROVERE A. (2017) - Resilience of the marine animal forest: lessons from Maldivian coral reefs after the mass mortality of 1998. In: Rossi S., Bramanti L., Gori A., Orejas C. (eds), *Marine animal forests. The ecology of benthic biodiversity hotspots*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland: 1241-1269.
- BUDDEMEIER R.W., FAUTIN D.G. (1993) - Coral bleaching as an adaptive mechanism. A testable hypothesis. *BioScience*, **43** (5): 320-326.
- HUGHES T.P., ANDERSON K.D., CONNOLLY S.R., HERON S.F., KERRY J.T., LOUGH J.M., BAIRD A.H., BAUM J.K., BERUMEN M.L., BRIDGE T.C., CLAAR D.C., EAKIN C.M., GILMOUR J.P., GRAHAM N.A.J., HARRISON H., HOBBS J.-P.A., HOEY A.S., HOOGENBOOM M., LOWE R.J., McCULLOCH M.T., PANDOLFI J.M., PRATCHETT M., SCHOEPF V., TORDA G., WILSON S.K. (2018) - Spatial and temporal patterns of mass bleaching of corals in the Anthropocene. *Science*, **359** (6371): 80-83.
- MONTEFALCONE M., MORRI C., BIANCHI C.N. (2018) - Long-term change in bioconstruction potential of Maldivian coral reefs following extreme climate anomalies. *Glob. Change Biol.*, **24** (12): 5629-5641.
- MORRI C., MONTEFALCONE M., LASAGNA R., GATTI G., ROVERE A., PARRAVICINI V., BALDELLI G., COLANTONI P., BIANCHI C.N. (2015) - Through bleaching and tsunamis: coral reef recovery in the Maldives. *Mar. Pollut. Bull.*, **98** (1-2): 188-200.
- NEPOTE E., BIANCHI C.N., CHIANTORE M., MORRI C., MONTEFALCONE M. (2016) - Pattern and intensity of human impact on coral reefs depend on depth along the reef profile and on the descriptor adopted. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **178**: 86-91.
- PANCRAZI I., AHMED H., CERRANO C., MONTEFALCONE M. (2020) - Synergic effect of global thermal anomalies and local dredging activities on coral reefs of the Maldives. *Mar. Pollut. Bull.*, **160**: 111585.
- WILSON S.K., GRAHAM N.A.J., POLUNIN N.V.C. (2007) - Appraisal of visual assessments of habitat complexity and benthic composition on coral reefs. *Mar. Biol.*, **151**: 1069-1076.

L. NICOLETTI¹, M. ZUCCHETTA², R. PROIETTI¹, S. DASTOLI¹, L. SINAPI¹,
R. BOSCOLO¹, A. FEOLA¹, E. PONIS¹, A. BONOMETTO¹, A. BRATUS³,
A. BEZZI⁴, D. BONALDO⁵

¹Italian National Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Rome, Italy.

²National Research Council, Institute of Polar Sciences (CNR-ISP), Venice-Mestre, Italy.

³Geological Survey of Autonomous Region of Friuli Venezia Giulia, Trieste, Italy.

⁴Department of Mathematics and Geosciences, University of Trieste, Italy.

⁵National Research Council, Institute of Marine Sciences (CNR-ISMAR), Venice, Italy.

luisa.nicoletti@isprambiente.it

TEMPORAL EVOLUTION OF THE DISTRIBUTION OF SEAGRASS MEADOWS IN THE BANCO DELLA MULA DI MUGGIA (ADRIATIC SEA) TO BUILD A HABITAT SUITABILITY MODEL WITHIN THE CHANGE WE CARE PROJECT

EVOLUZIONE TEMPORALE DELLA DISTRIBUZIONE DI PRATERIE DI FANEROGAME NEL BANCO DELLA MULA DI MUGGIA (MAR ADRIATICO) PER LO SVILUPPO DI UN MODELLO DI HABITAT SUITABILITY NELL'AMBITO DEL PROGETTO CHANGE WE CARE

Abstract - Within the INTERREG project CHANGE WE CARE, the seagrass meadow distribution changes in the Banco della Mula di Muggia have been studied, in order to relate the vegetation dynamics to the evolution of the geomorphology of the bank. This should represent a preliminary step to understand the potential impact of sea level rise in this shallow coastal area.

Key-words: climate change, sea level change, seagrasses, Northern Adriatic Sea.

Introduction - The project CHANGE WE CARE (Climate cHallenges on coAstal and traNsitional chanGing arEas: WEaving a Cross-Adriatic Response) explored climate risks faced by coastal and transition areas, contributing to a better understanding of the impact of climate variability and changes on water regimes, sea water level, salt intrusion, biodiversity and agro-ecosystems affecting the Adriatic Sea. The project started in 2019 and finished in 2021, it was funded by the EU Interreg Italy-Croatia Programme, and its main objective was to set up climate adaptation plans for coastal and transitional ecosystems in the cooperation area. Different climate-related issues were tackled in the different pilot sites of the project, with coastal erosion being one of the most relevant for the project. In *Banco della Mula di Muggia*, a nearshore depositional system between Grado and the Primero channel (Fig. 1; Marocco and Figus, 2010), the past and expected future evolution of the shore morphology was studied. While erosion represents one of the major issues in many coastal areas, in this pilot site the main challenge is tackling with large quantities of moving sediments and rapid morphological evolution, conflicting with tourist activities (Bezzi *et al.*, 2021). We focused on seagrass meadows distribution, a key element for this water body, strongly related to the geomorphological dynamics. In this study we report the first processed data on the evolution of the distribution of seagrass meadows in the period 1978-2018, that will represent the basis to build a Habitat Suitability Model (HSM), relating the geomorphology with the seagrasses presence.

Materials and methods - Four orthophotos of the study area were used to map the seagrass meadow over time: 1978, aerial photos CGR; 2006, 2014 and 2018, aerial photos AgEA. All the orthophotos were taken in spring or summer. The

photointerpretation was carried out after a preliminary field campaign carried out in October 2019 to characterize the meadow. The study area (5.55 km²) was defined considering the shallow part of the bank (depth <2 m) overlapped from the available orthophotos.

Results - The vegetation is dominated (in terms of leaf density) by *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in association with *Zostera noltei* Hornemann, the latter being more important in the strictly intertidal area. Seagrass coverage increased over time, ranging from 3.36 to 4.25 km². At a local scale, changes seem to be related both to direct human activities (negative impacts; e.g. by digging channels and building piers) and to the geomorphological dynamics (with both positive and negative effects), dominated by a south-western sediment transport and accretion (Fig. 1). The variability of meadow coverage is dominated by positive or negative small scale interannual differences in the period 1978-2014, followed by an increased coverage observed in 2018 (Fig. 2). In 2018 the shallow meadow showed the maximum extent within the study period, mostly due to the homogeneous coverage of the central-western part of the bank (Fig. 2).

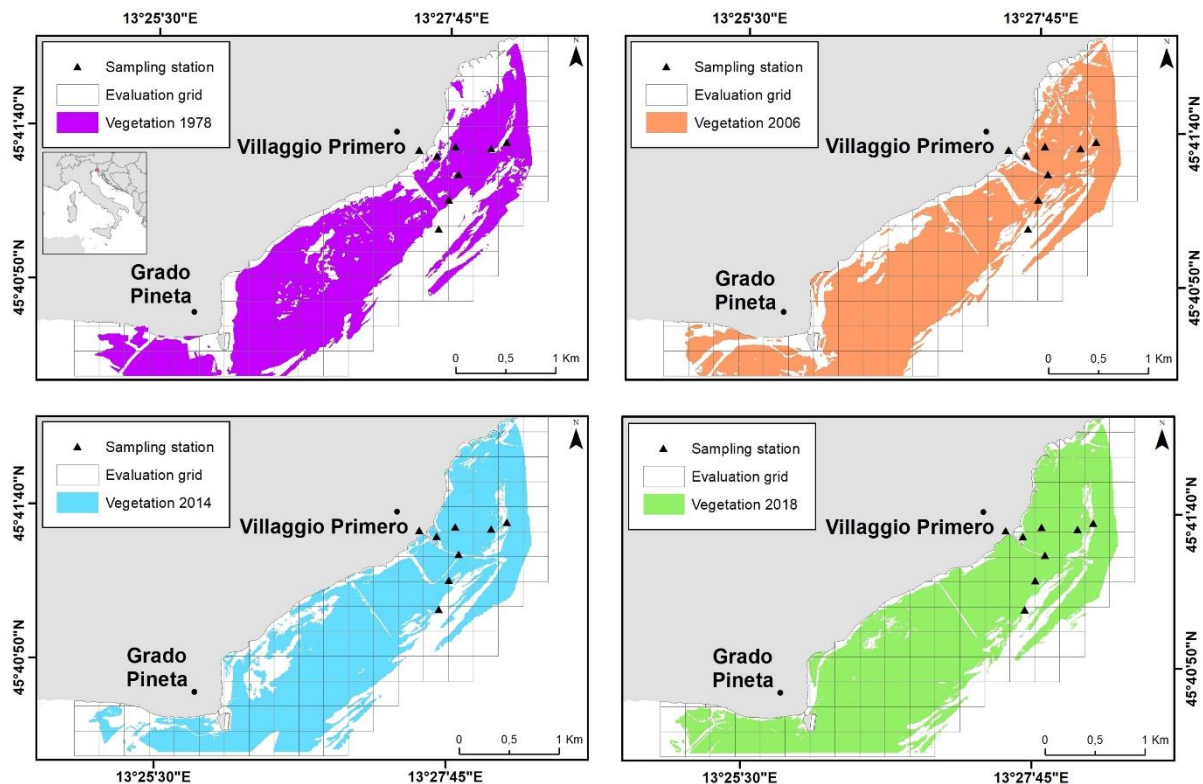


Fig. 1 - Estimated seagrass meadows distribution in the studied area for 1978, 2006, 2014 and 2018. Triangles represent the stations sampled in 2019.

Distribuzione delle praterie di fanerogame marine nell'area di studio per il 1978, 2006, 2014 e 2018. I triangoli rappresentano le stazioni campionate nel 2019.

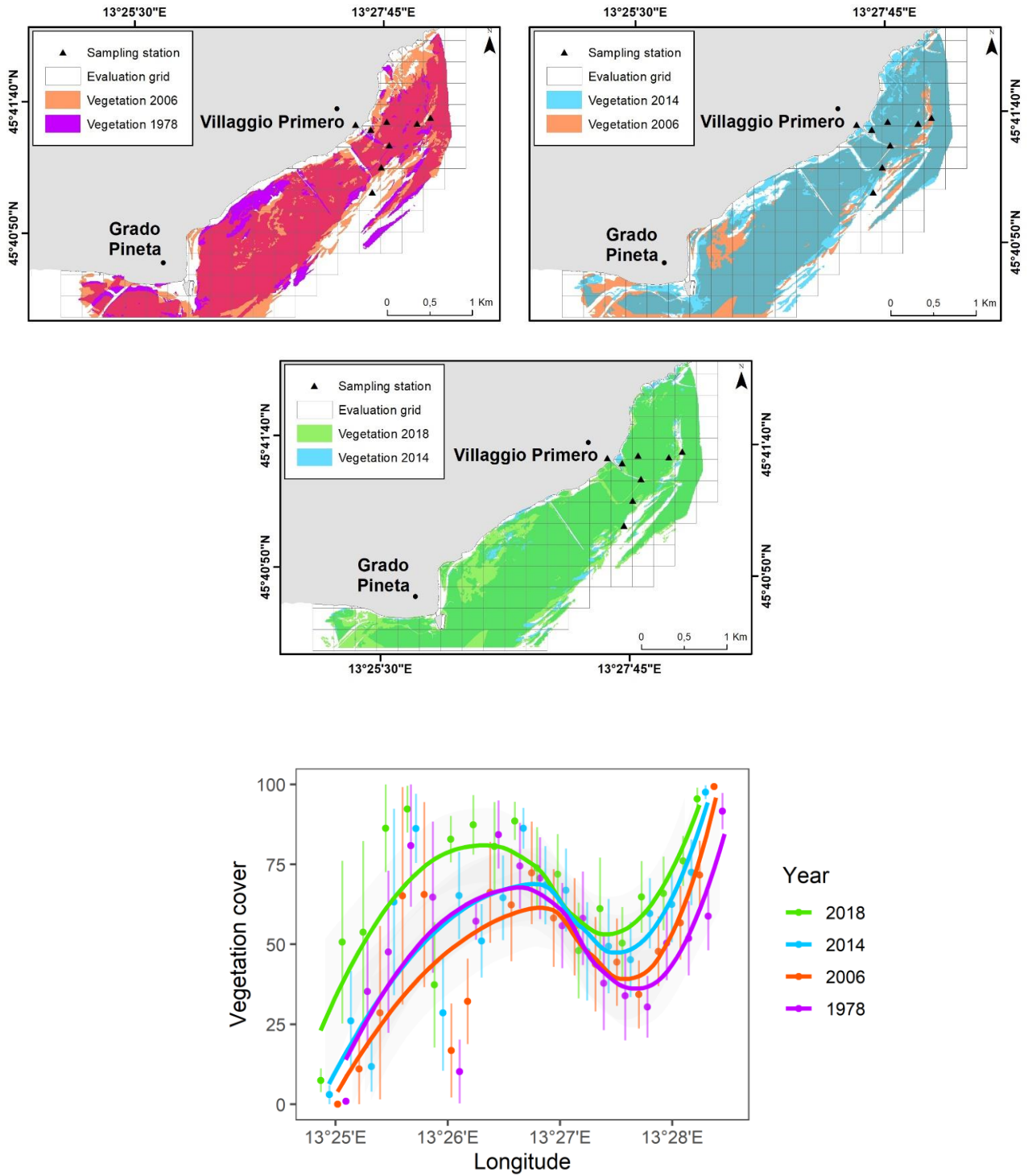


Fig. 2 - Above differences in the estimated seagrass meadows distribution for the periods: 1978-2006, 2006-2014, and 2014-2018. Triangles represent the stations sampled in 2019. Below longitudinal trends of estimated seagrass coverage in the four periods.

Sopra differenze di distribuzione delle praterie di fanerogame marine stimate per i periodi: 1978-2006, 2006-2014 e 2014-2018. I triangoli rappresentano le stazioni campionate nel 2019. Sotto trend longitudinale della copertura di fanerogame stimata nei quattro periodi.

Conclusions - Albeit several climate change-related processes, such as water warming (see *e.g.*, Marbà *et al.*, 2022) and acidification (Koch *et al.*, 2013), jointly influence seagrasses, making particularly difficult to anticipate the overall responses of seagrass meadows, sea level is expected to be one of the most relevant factors. Indeed, changes in water level will affect both the upper and the lower limit of seagrass meadows. On one side the coastal morphology will determine the capability of the upslope shift in the distribution of the meadows, depending also on the coastal engineering and wave dynamics (Duarte, 2022), while at the lower limit the rise of water level will lead to a withdrawal of the meadows margin, due to lower level of available light (Boudouresque *et al.*, 2009). In this context, in a highly dynamic system like the one considered in this study, coupling the changes of the distribution of vegetation with the evolution of the bathymetry and wave exposure of the bank, will allow to build a HSM, relating seagrass distribution with the coastal morphodynamics of this area. This model will support the understanding of the role of the physical forcing on the habitat dynamics, allowing to project seagrass distribution in relation to the morphological evolution of the bank, expected under the Representative Concentration Pathway scenario 8.5 (IPCC, 2014), helping to take into account the potential distribution of seagrasses in future spatial planning of the area.

References

- BEZZI A., CASAGRANDE G., FRACAROS S., MARTINUCCI D., PILLON S., SPONZA S., BRATUS A., FATTOR F., FONTOLAN G. (2021) - Geomorphological changes of a migrating sandbank: multidecadal analysis as a tool for managing conflicts in coastal use. *Water*, **13** (23): 3416.
- BOUDOURESQUE C., BERNARD G., PERGENT G., SHILI A., VERLAQUE M., (2009) - Regression of Mediterranean seagrasses caused by natural processes and anthropogenic disturbances and stress: a critical review. *Bot. Mar.*, **52** (5): 395-418.
- DUARTE C.M., (2002) - The future of seagrass meadows. *Environ. Conserv.*, **29** (2): 192-206.
- IPCC (2014) - *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Core Writing Team, Pachauri R.K., Meyer L.A. (eds). IPCC, Geneva, Switzerland: 151 pp.
- KOCH M., BOWES G., ROSS C., ZHANG X.-H. (2013) - Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Glob. Change Biol.*, **19** (1): 103-132.
- MARBÀ N., JORDÀ G., BENNETT S., DUARTE C.M (2022) - Seagrass thermal limits and vulnerability to future warming. *Front. Mar. Sci.*, **9**: 860826.
- MAROCCO R., FIGUS B. (2010) - Banchi sommersi della Mula di Muggia, Trezza Grande e Trezza Piccola. In: Cucchi F., Finocchiaro F., Muscio G. (eds), *Geositi del Friuli Venezia Giulia*. Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia, Tipografia Arti Grafiche Friulane, Udine: 304-305.

S. ZUNINO, S. LIBRALATO, D. CANU, G. PRATO, C. SOLIDORO

Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale (OGS) - Div. of Oceanography (OCE), Trieste, Italy.
szunino@ogs.it

FOOD WEB ANALYSIS TO ASSESS THE ECOSYSTEM RESPONSES DRIVEN BY OCEAN ACIDIFICATION

ANALISI DI RETE TROFICA SULLE RISPOSTE DEGLI ECOSISTEMI MARINI ALL'ACIDIFICAZIONE MARINA

Abstract – Ocean Acidification (OA) induced by increasing CO₂ emissions will have important effects on marine ecosystems that are difficult to quantify directly and that have a series of indirect effects. Our study aims to upscale the comprehension of the potentially detrimental effects of OA from two Habitat Forming Species (HFS) to the whole coastal marine ecosystem. The study is based on the ecological simulation model of the trophic web developed on Ecopath with Ecosim for a well-studied coastal marine protected area in the NW Mediterranean Sea where gorgonians and *Posidonia oceanica* meadows constitute important HFS. With the model, we explore the consequences of the reduction of HFS biomass over the next 100 years quantifying the potential effects on ecosystem properties and on some indicators of ecosystem services. The selected indicators highlight a decrease in the total amount of energy flowing in the food web (system dimension) and a reorganization of energy flows. The proxies for ecosystem services show a general decrease in their values. The methodology adopted provides useful insight to better comprehend the responses of the ecosystem to plausible impact in the future OA scenario, highlighting the cascading effects that propagate over the entire ecosystem functioning.

Key-words: Ecopath with Ecosim, food web, habitat-forming species, ocean acidification.

Introduction – Climate changes are among the major sources of perturbation to the functioning of marine ecosystems. Along with warming, the increased CO₂ in the atmosphere and seas alters the carbonate chemistry and lowers water's pH resulting in the Ocean Acidification (OA). This process is expected to impact many marine species and significantly alter the functioning of whole ecosystems, with potentially large economic and societal consequences. While knowledge of the responses of individual species to OA is increasing, the understanding of the impacts on ecosystems functioning is still far to be reached. Indeed, indirect effects and the consequences at the ecosystem level of the loss of ecosystem functions and services are more difficult to quantify, due to the complexity and variety of the impacts to be considered. In this work, we capitalized on the outputs of some previous analyses on the effects of OA on the organisms' physiological responses and the possible indirect effects (Zunino *et al.*, 2019, 2021) to provide a novel broader assessment of the direct and indirect impacts of OA on the whole ecosystem. In particular, we focus on the assessment of cascading effects resulting from OA impacts on two Mediterranean marine habitats, gorgonians and *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813 meadows that represent habitat forming species (HFS), able to create complex environments sustaining the functioning of ecosystems and supplying highly valuable ecosystem services (ESs). The assessment of cascading impacts is exemplified by using a Mediterranean coastal food-web model, upscaling the projections of the impact of OA from direct species-level effects to the full ecosystem. Moreover, we quantify the potential long-term effects and implications of habitat degradation due to OA for ecological, social, cultural and economic aspects related to marine systems using a set of proxies for ESs.

Materials and methods - The study focuses on a marine protected area in the northwestern Mediterranean Sea (Portofino) under present conditions (years 2007-

2014), for which a food web model was built by Prato *et al.* (2016) in Ecopath with Ecosim (EwE). The model represents the dynamic evolution of multiple interacting species and represents all the functional groups that are relevant for our purpose (that is gorgonians and *P. oceanica* meadows) and commercially important species. We designed 10 scenarios to explore the potential effects of HFS reduction, by parameterizing within EwE the potential trophic (Fig. 1A) and non-trophic effects (Fig. 1B) of OA.

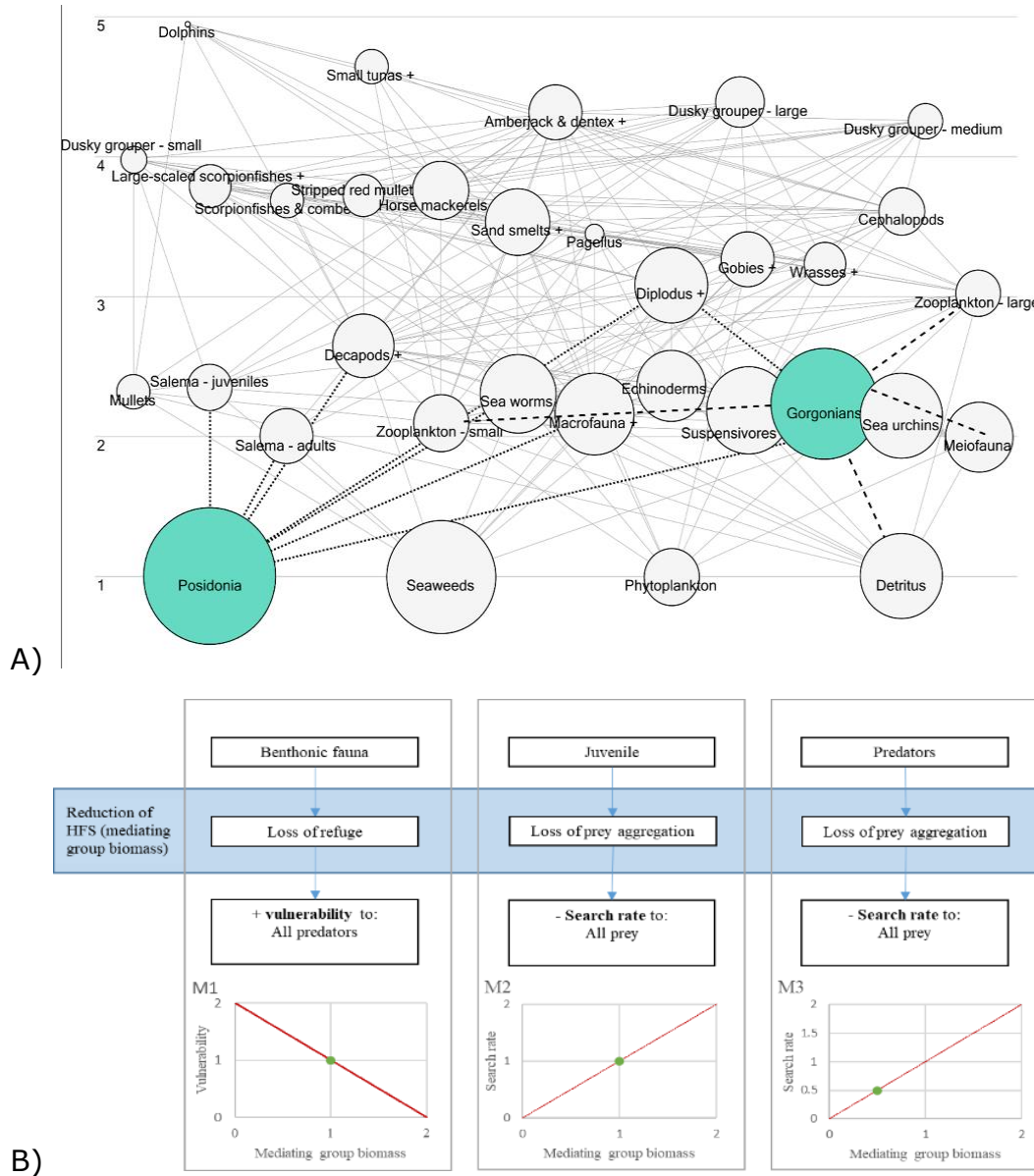


Fig. 1 - A) Diagrams of the food web (in black). Each circle represents a functional group (33) and the blue circles are the Habitat Forming Species (HFS). The lines represent the trophic relationships between groups. The thin dotted lines show the predator of the HFSs, while the thick dotted lines represent the prey of the HFS. B) Schematic representation of the non-trophic effects added to the model to affect specified relationships as a function of relative HFS biomass in FM scenarios (see main text). A) Diagramma della rete trofica (in nero). Ogni cerchio è un gruppo funzionale (33) e i cerchi blu sono gli Habitat Forming Species (HFS). Le linee rappresentano le relazioni trofiche tra gruppi. Le linee tratteggiate sottili mostrano il predatore degli HFS, mentre le linee tratteggiate spesse rappresentano le prede degli HFS. B) Rappresentazione schematica degli effetti non trofici aggiunti al modello per influenzare le relazioni specifiche in funzione della biomassa relativa di HFS negli scenari FM (vedi testo principale).

The direct change in HFS assumes a reduction in their productivity which results in an HFS biomass reduction, triggering cascading changes in the trophic interactions between the HFS, its predators and its prey (Fig. 1A dotted lines). The non-trophic effects were introduced to mimic the loss of ecosystem functions and ESs provided by the HFS (Fig. 1B). In both cases in due time, the alterations propagate through the food web (Fig. 1, dashed line). Five trophic scenarios were (FF) obtained by imposing a reduction of production and consumption rates for *P. oceanica* and gorgonians to obtain a 10%, 30%, 50%, 70% and 90% reduction of HFSs biomass (scenarios FF1, FF2, FF3, FF4 and FF5, respectively). Five more scenarios were developed to mimic the nontrophic effects (FM1-5) of the OA on the food web (Fig. 1B). For each scenario, we ran the model for 100 years performing the assessment on a range of indicators computed by the Ecological Network Analysis (ENA). The selected indicators were total biomass (TB), total system throughput (TST), ascendancy (A), Finn cycling index (FCI), the Kempton (Q90) index and total catches (TC) (see Zunino *et al.*, 2021 for the complete analysis of the ENA indicators, their descriptions and references). The uncertainty of the indicators was assessed using multiple repeated simulations with slightly changed parameters (Monte Carlo routine). The selected indicators are further used as proxies of ES, namely Q90 as proxy for the supporting services, the structural indicators (TST and ascendancy) as proxies of regulatory ES. The total biomass related to commercial fishing is used as a proxy for provisioning ES, while the cultural ES are described by the biomass of HFS and by the TC of commercial species since it is an activity that has high cultural, historical and socioeconomic significance.

Results - Results of scenario analysis for each functional group biomass are detailed in Zunino *et al.* (2021), while the focus of this work is on the ecological indicators as proxies of ecosystem services. The TB of the community shows that the simultaneous reduction in HFS resulted in cascading effects that significantly altered ecosystem biomass. For example, a reduction of 50% in the HFS (scenarios FF2 and FM2) resulted in overall reductions of 46% and 39% in TB, with significant decreases ($p\text{-value} < 0.001$) in many different groups. The TST, the measure of total trophic flows within an ecosystem, highlights a significant reduction in the size of the ecosystem in all the scenarios in comparison with the unperturbed condition for all cases ($p\text{-value} < 0.05$) except for the two 10% scenarios ($p\text{-value} > 0.001$). The same trend is confirmed for the A index suggesting a decrement in ecosystem development and growth potential as perturbation increased. The FCI reflected the results of the previous indicators, starting to increase significantly under both FF2 ($p\text{-value} < 0.001$) and FM2 ($p\text{-value} < 0.005$) (mean +6%) and continuing to increase significantly under all the other scenarios. Increased cycling indicates a longer residence time of energy in the system and the onset of some self-reliance of the internal flow organization to cope with the perturbation. The Q90 showed that the number of functional groups with biomass within the 5th and 95th percentiles decreased significantly (except under scenario 1, - 10%; $p\text{-value} = 0.09$). Assuming that fishing effort is maintained constant, the TC index decreased, on average, by 18% and 17% under FF3 and FM3, respectively ($p\text{-value} < 0.001$; see Tab. 1). In highly perturbed scenarios, the inclusion of non-trophic effects (FM) resulted in the occurrence of compensatory effects, such as the release of trophic pressure on meso-predators, due to the reduced biomass of their predators, leading to the results that were not highlighted in Scenario FF. All the proxies of ES provisioning are moderately impacted under all the perturbed scenarios (see Zunino *et al.*, 2021 for further details).

Tab. 1- Relative changes in ecological indicators values relative to the trophic effects (FF scenarios, blue) and trophic and nontrophic effects (FM scenarios, orange) of 50% HFS reduction and qualitative impact on the provisioning of ecosystem services.

Variazioni relative dei valori degli indicatori ecologici, relativi agli effetti trofici (scenari FF, blu) e agli effetti trofici e non trofici (scenari FM, arancione), in seguito alla riduzione del 50% dell'HFS e all'impatto qualitativo sulla fornitura dei servizi ecosistemici.

ENA Index		0	-50% HFS			Ecosystem service	Risk of impact
		Median	Median	IQR	p		
Total Biomass	FF	5129	-46.2	90.4	***	Provisioning	↘
	FM		-38.7	116.4	***		
Total Catches	FF	10.1	-18.2	0.2	***	Regulating	↘
	FM		-17.5	0.4	***		
TST	FF	15479	-12.7	952.5	***	Cultural	↘
	FM		-15.4	1067.1	***		
Ascendency	FF	20500	-14.3	1415.9	***	Supporting	↘
	FM		-16.4	1569.1	***		
FCI	FF	4.96	9.3	0.4	***		
	FM		8.3	0.5	***		
Q90	FF	5.6	-8.2	0.3	***		
	FM		-19.8	0.4	***		

Conclusions - Our analysis shows that the food web can be largely impacted by a change in the abundance of *P. oceanica* meadows and gorgonians that are threatened by the global drivers of changes, OA included. The results clearly highlighted that the effects of HFS reduction propagate through the food web with significant negative cascading impacts that are captured by network ecological indicators. Trophic and non-trophic impacts of HFS reductions showed synergistic effects, suggesting unexpected very high overall effects that might be difficult to predict. However, the ENA analysis suggests that the HFS-structured ecosystems have the capability to reorganize themselves and partially cope with the impact of anthropogenic pressures. On the other hand, the ES indicators suggest that the higher loss will be in terms of provisioning of ecosystem services, namely the benefits for the human population that will need to adapt to new ecosystem organizations. Although the proposed modelling approach included only some of the potential effects of OA, it can help to understand and predict ecosystem trends in future scenarios and highlight the importance of addressing anthropogenic impacts in complex systems by considering the whole food web.

References

PRATO G., BARRIER C., FRANCOUR P., CAPPANERA V., MARKANTONATOU V., GUIDETTI P., MANGIALAJO L., CATTANEO-VIETTI R., GASCUEL D. (2016) - Assessing interacting impacts of artisanal and recreational fisheries in a small Marine Protected Area (Portofino, NW Mediterranean Sea). *Ecosphere*, **7** (12): e01601.

ZUNINO S., CANU D.M., ZUPO V., SOLIDORO C. (2019) - Direct and indirect impacts of marine acidification on the ecosystem services provided by coralligenous reefs and seagrass systems. *Glob. Ecol. Conserv.*, **18**: e00625.

ZUNINO S., LIBRALATO S., CANU D.M., PRATO G., SOLIDORO C. (2021) - impact of ocean acidification on ecosystem functioning and services in habitat-forming species and marine ecosystems. *Ecosystems*, **24**: 1561-1575.

S. ACUNTO, L.M. LEONE, L. PIAZZI

International School for Scientific Diving "Anna Proietti Zolla" (ISSD), Lucca, Italia.
issd8479@gmail.com**RIPRISTINO DELLE PRATERIE DI *POSIDONIA OCEANICA*
TRAMITE TECNICHE DI INGEGNERIA NATURALISTICA
E L'USO DI MATERIALI BIODEGRADABILI****RESTORATION OF *POSIDONIA OCEANICA* MEADOWS
THROUGH NATURALISTIC ENGINEERING TECHNIQUES
AND BY THE USE OF BIODEGRADABLE MATERIALS**

Abstract - The aim of this project was to restore a *Posidonia oceanica* meadow testing naturalistic engineering techniques and biodegradable materials. The transplanted plants were fragments, detached naturally from the surrounding meadows, and beached seedlings. Six months after transplanting, all the biomats used were in an excellent state of integrity, the plant survival rates were 57.63% for the shoots and 90% for the seedlings. Although a longer monitoring period is needed, the results obtained are encouraging and suggest the suitability of the materials and methods used for large-scale projects.

Key-words: restoration, *Posidonia oceanica*, naturalistic engineering techniques, biodegradable materials, seedlings.

Introduzione - In Mediterraneo il trapianto di *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813, viene effettuato fin dagli anni '80 del secolo scorso a scopo di sperimentazione, ripristino e come misura di compensazione di opere a mare (Bacci *et al.*, 2014; Bacci e La Porta, 2022; La Porta e Bacci, 2022). Ad oggi non è stata definita una tecnica di trapianto univocamente riconosciuta come efficace e molti sono ancora i casi di insuccesso (Sánchez-Lizaso *et al.*, 2009). Per questo motivo è importante la sperimentazione finalizzata ad incrementare le probabilità di riuscita della riforestazione. L'obiettivo dello studio era quello di realizzare il ripristino dell'integrità di una prateria di *P. oceanica* utilizzando tecniche di ingegneria naturalistica (Cinelli *et al.*, 2007) e materiali biodegradabili. Tali materiali necessitano oggi di nuove sperimentazioni alla luce delle diverse modalità costruttive e le migliorate caratteristiche di resistenza. Inoltre, la sperimentazione ha riguardato l'uso di talee naturalmente scalzate dalla prateria circostante e di germogli spiaggiati, materiale biologico ancora poco testato in progetti di riforestazione di *P. oceanica* (Balestri *et al.*, 1998, 2011).

Materiali e metodi - Il trapianto è stato realizzato tra maggio e giugno 2019 in località Cavo (Comune di Rio, Isola d'Elba). Come supporto di ancoraggio per le talee di *P. oceanica* è stato utilizzato il sistema R.E.C.S.® che consiste di reti metalliche, a doppia torsione e maglia esagonale, accoppiate con reti 100% biodegradabili in fibre di cocco (Fig. 1). L'intervento ha interessato un'area a matre morta di circa 200 m². Le biostuoie, di 5×2 m, sono state fissate al fondo mediante picchetti in ferro a sezione circolare (lunghezza=120 cm; diametro=1,4 cm). Dieci biostuoie, per una superficie complessiva di 100 m², hanno fatto da supporto a 2.000 talee organizzate in 100 nuclei costituiti da 20 talee/m² (Fig. 2). Sono state utilizzate talee, preferibilmente a portamento plagiotropo, già eradiccate per cause naturali e prelevate direttamente *in situ*. Inoltre, su un'altra biostuoia sono stati piantati 300 germogli di *P. oceanica* trovati in aree di accumulo lungo la costa (Fig. 2).

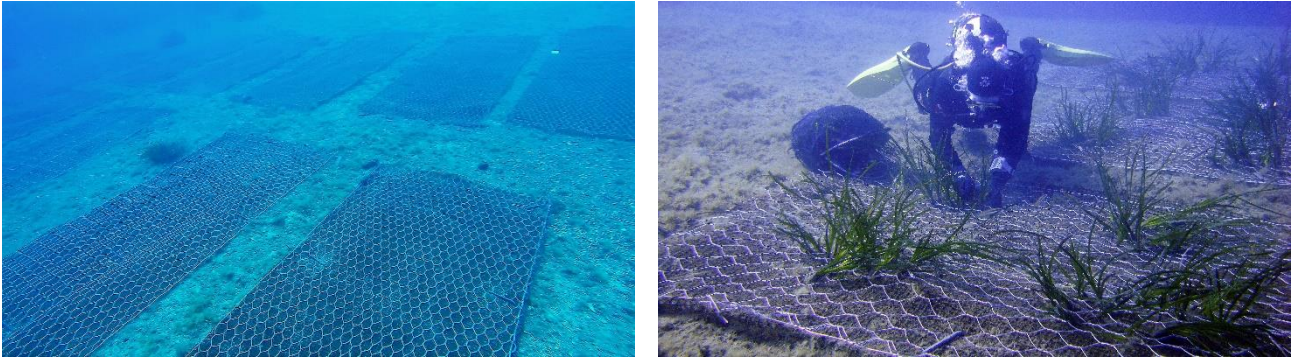


Fig. 1 - Fasi del trapianto.
Stages of the transplant.

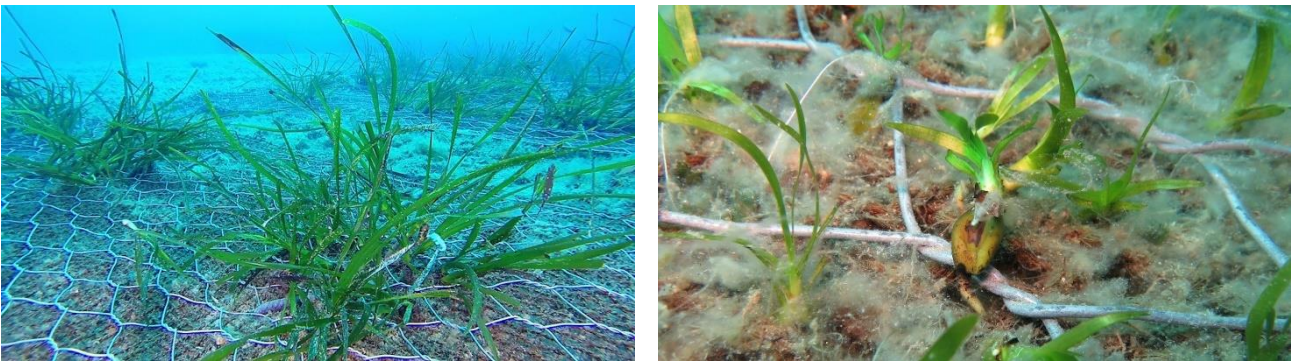


Fig. 2 - Stuoie con talee (sinistra) e germogli (destra) di *P. oceanica*.
*Mats with *P. oceanica* cuttings (left) and seedlings (right).*

Risultati - Un primo monitoraggio dell'impianto è stato eseguito a dicembre 2019. Delle 20 talee/m² inizialmente presenti sono state contate una media di $11,52 \pm 1,1$ talee/m² equivalenti ad un tasso di sopravvivenza pari al 57,63%. In questa fase iniziale dello studio è stata valutata anche la densità delle piante che alla data di campionamento è risultata pari a $29,8 \pm 1,2$ fasci/m². Anche i germogli a dicembre 2019 apparivano in ottime condizioni e dei 300 piantati ne sono stati contati 270 per un tasso di sopravvivenza del 90%. Il monitoraggio eseguito ad un anno dal trapianto (luglio 2020) ha mostrato che tutte le strutture e tutti i nuclei di ricolonizzazione erano ancora *in situ* (Fig. 3).

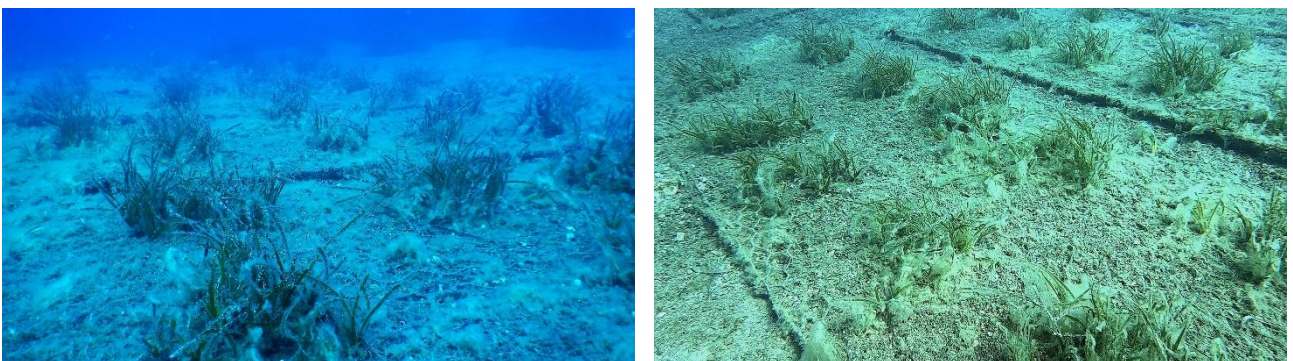


Fig. 3 - Stuoie con talee a luglio 2020.
Mats with cuttings at July 2020.

La sopravvivenza valutata considerando il numero di talee presenti era risultata essere pari al 55%. Per i germogli il tasso di sopravvivenza era attestato al 61,7%. Sempre a

luglio 2020 la densità dei fasci risultava essere pari a $32,23 \pm 1,2$ fasci/m² e, nell'ultimo monitoraggio realizzato ad aprile 2021, appariva ulteriormente in crescita e pari a $35,03 \pm 2,1$ fasci/m² (Fig. 4). Per quanto riguarda i germogli, il tasso di sopravvivenza ad aprile 2021, a circa due anni dal trapianto, può essere considerato abbastanza stabile sebbene passi dal 61,7% di luglio 2020 al 58,7%.

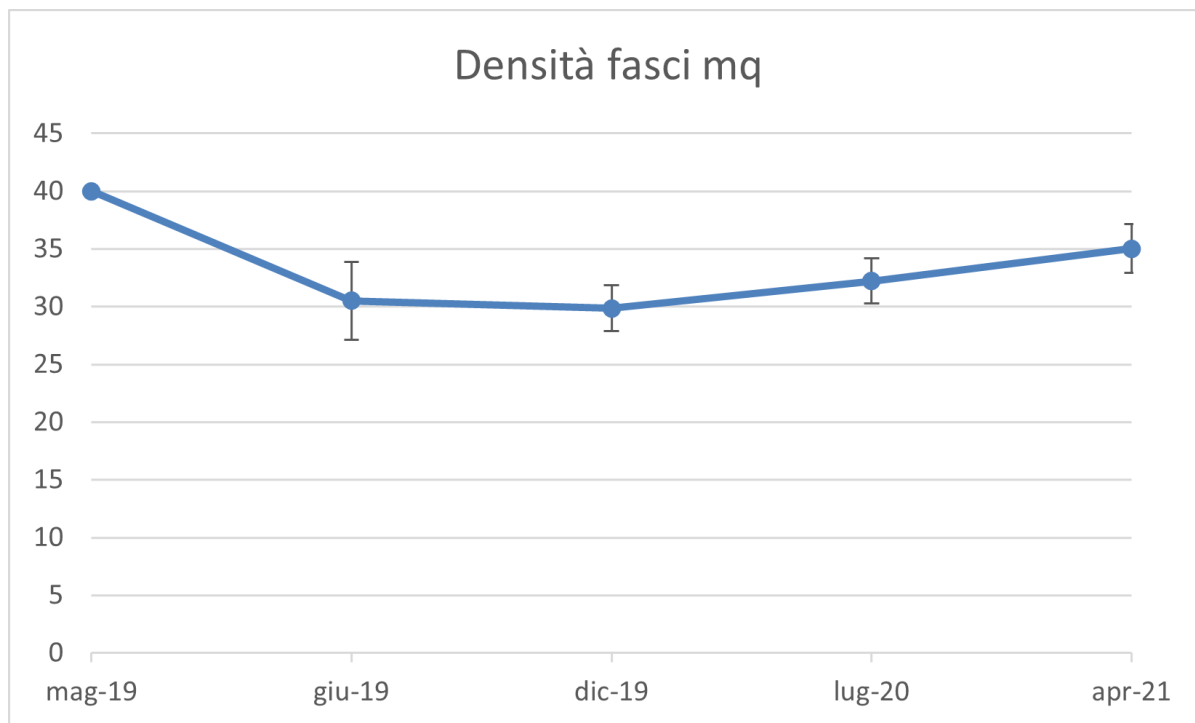


Fig. 4 - Densità dei fasci delle chiazze di *P. oceanica* trapiantate.
Shoot density of P. oceanica transplants.

Conclusioni - Il trapianto eseguito, seppur ancora alle fasi iniziali, ha fornito ottime indicazioni: le biostuoie in cocco si dimostrano sufficientemente resistenti ed hanno permesso un saldo ancoraggio delle talee in modo simile a strutture già testate (Cinelli *et al.*, 2007; Bacci *et al.*, 2014), ma con il valore aggiunto della loro completa biodegradabilità. Anche i germogli, piantati con l'obiettivo di mettere a punto un sistema alternativo di restauro delle praterie, sembrano aver trovato nelle biostuoie un ottimo supporto per il loro insediamento e sviluppo. I materiali e metodi utilizzati, se verranno confermati i risultati attuali, possono rappresentare una procedura ecocompatibile, relativamente a basso costo e proficuamente utilizzabile in progetti di riforestazione anche su ampia scala (Piazzi *et al.*, 2021). Il sistema, infatti, permette di tenere separate le fasi di ancoraggio delle biostuoie e di impianto delle talee, fasi che necessitano di procedure operative e tempi di realizzazione totalmente differenti. Inoltre, le delicate attività di trapianto potranno essere indirizzate, grazie alla versatilità delle biostuoie, verso l'utilizzo del materiale vegetativo al momento più disponibile riducendo, fino eventualmente ad annullare, la necessità di prelievo di talee da praterie donatrici.

Ringraziamenti: Gli autori ringraziano lo staff dello Sporting Club Cavo Diving e tutti gli Associati ISSD volontari che hanno collaborato attivamente alle fasi di raccolta e reimpianto di talee e germogli.

Bibliografia

BACCI T., LA PORTA B. (2022) - *Manuale delle tecniche e delle procedure operative per il trapianto di Posidonia oceanica*. LIFE SEPOSSO (LIFE 16 GIE/IT/000761). GESI, Roma: 133 pp.

- BACCI T., LA PORTA B., MAGGI C., NONNIS O., PAGANELLI D., RENDE F.S., TARGUSI M., BOCCALARO F., BOVINA G., CANTASANO N., POLIFRONE M. (2014) - Conservazione e gestione della naturalità negli ecosistemi marino-costieri. Il trapianto delle praterie di *Posidonia oceanica*. *Manuali e Linee Guida*, **106**. ISPRA, Roma: 97 pp.
- BALESTRI E., PIAZZI L., CINELLI F. (1998) - Survival and growth of transplanted and natural seedlings of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in a damaged coastal area. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **228** (2): 209-225.
- BALESTRI E., VALLERINI F., LARDICCI C. (2011) - Storm-generated fragments of the seagrass *Posidonia oceanica* from beach wrack - A potential source of transplants for restoration. *Biol. Conserv.*, **144** (5):1644-1654.
- CINELLI F.L., BOCCALARO F., BURGASSI M., RENDE F., CINELLI F., PIAZZI L., ZANELLA M. (2007) - Utilizzo sperimentale in mare di sistemi tecnici già impiegati dall'ingegneria naturalistica terrestre. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 342-343.
- LA PORTA B., BACCI T. (2022) - *Manuale per la pianificazione, realizzazione e monitoraggio dei trapianti di Posidonia oceanica*. LIFE SEPOSSO (LIFE 16 GIE/IT/000761). GESI, Roma: 114 pp.
- PIAZZI L., ACUNTO S., FRAU F., ATZORI F., CINTI M.F., LEONE L., CECCHERELLI G. (2021) - Environmental engineering techniques to restore degraded *Posidonia oceanica* meadows. *Water*, **13** (5): 661.
- SÁNCHEZ-LIZASO J.L., FERNÁNDEZ-TORQUEMADA Y., GONZÁLEZ-CORREA J.M. (2009) - Evaluation of the viability of *Posidonia oceanica* transplants associated with a marina expansion. *Bot. Mar.*, **52** (5): 471-476.

La realizzazione del progetto è stata possibile grazie al supporto finanziario di LUSH Italia.

D. AGNETTA, S. LIBRALATO

Istituto Nazionale di Oceanografia e Geofisica Sperimentale - OGS, Trieste, Italia.
dagnetta@ogs.it**VALUTAZIONE DI TRADE-OFFS E RESILIENZA
DEGLI ECOSISTEMI MARINI: UN APPROCCIO ECOSISTEMICO****ASSESSING TRADE OFFS AND RESILIENCE OF MARINE ECOSYSTEMS:
AN ECOSYSTEM APPROACH**

Abstract - Trade-offs related to ecosystem resilience are here quantified by comparing direct impacts and net effects using fishing pressures on marine ecosystems as controlled perturbations. Results highlight that trade-offs appear in most of cases when evaluated through ecosystem models and are independent from model complexity. Trade-offs showed a dome-shaped relationship with direct impact thus supporting the theory of positive effects of intermediate levels of disturbance. Moreover, trade-off intensity resulted to be related to the ecosystem resilience. Overall the work showed the benefit of using ecosystem models to assess the emerging ecological trade-offs which are neglected in simpler single species analysis.

Key-words: ecological perturbations, trade-offs, resilience, fishing effects, ecosystem modelling.

Introduzione - Molte attività umane traggono benefici dagli ecosistemi marini, ma causano un forte disturbo e promuovono cambiamenti nella struttura di habitat e di reti trofiche (Agnetta *et al.*, 2019), che risultano difficilmente reversibili. Tali disturbi sono sempre più intensi e stanno crescendo in numero e in estensione a causa della globalizzazione delle necessità della società umana (O'Leary *et al.*, 2017). Un'importante sfida per la gestione delle risorse marine consiste nello sviluppo di approcci innovativi, pratici e rigorosi che permettano di individuare e quantificare i costi e i benefici ecologici (*trade-offs*), oltre a quelli economici, dei diversi impatti umani sugli ecosistemi. Lo scopo di questo lavoro è quello di contribuire a questa sfida in modo da: a) verificare se l'applicazione di modelli ecosistemici permettono la valutazione di *trade-offs*; b) valutare l'effetto della risoluzione biologica (es. il numero di componenti) del modello nella quantificazione dei potenziali *trade-offs*; c) comprendere il pattern generale dei *trade-offs* in relazione ai livelli di disturbo e resilienza dei sistemi. Si ipotizza che i *trade-offs* siano alti quando le attività di pesca abbiano impatti cumulativi diretti maggiori di quelli netti complessivi (es. pochi effetti indiretti negativi).

Materiali e metodi - L'analisi è stata sviluppata su un set di 14 modelli ecosistemici Ecopath (Tab. 1) che rappresentano diverse aree del globo, ben dettagliati e documentati e che includono diverse attività di pesca. Queste attività sono state considerate come fattori di disturbo: ne sono state valutate gli effetti diretti sulla rete trofica (es. la mortalità da pesca diretta su diversi gruppi di specie target) e di quelli complessivi (positivi e negativi, diretti e indiretti). I *trade-offs* sono stati calcolati come differenza tra impatto diretto cumulativo e impatto netto complessivo di ogni fonte di disturbo nei diversi modelli. Infine, è stata calcolata la correlazione tra i *trade-offs* e alcuni indici sia di struttura del modello (numero di gruppi funzionali e attività di pesca), sia di resilienza come Overhead/Capacità portante (O/C), Produzione primaria/Biomassa totale (PP/B) e Respirazione/Biomassa totale (R/B) (Heymans *et al.*, 2014).

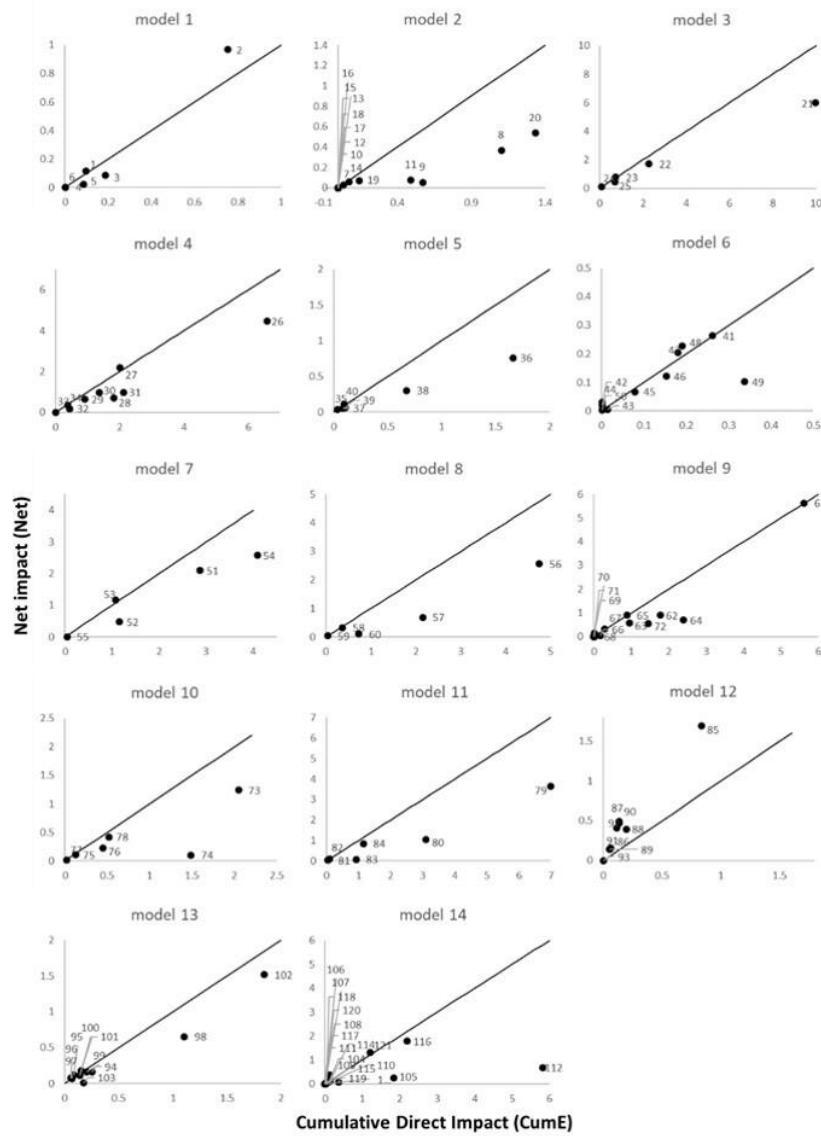
Tab. 1 - Lista dei 14 modelli ecosistemici esaminati e relativo numero di attività di pesca (dalla pesca artigianale a quella industriale).

List of the 14 models used and relative number of fleets (from small scale to industrial fisheries).

Model	Model name	Reference	Fleet
1	South Brazil Bight	Gasalla and Wongtschowski 2004	1_6
2	Iceland	Buchary 2001	7_20
3	North-Central Adriatic	Coll et al. 2009	21_25
4	Western English Chanel	Araújo et al. 2006,2008	26_34
5	Aleutians	Heymans 2005	35_40
6	Northern Benguela	Heymans 2009	41_50
7	Aegean model	Tsagarakis et al. 2010	51_55
8	Deep WC Scotland	Howell 2009	56_60
9	NorthSea	Mackinson and Daskalov 2007	61_72
10	Guinea-Bissau	Amorim 2004	73_78
11	Gulf of Thailand	Christensen 2004, Vibunpant 2003	79_84
12	Northern Gulf of California	Lercari and Arreguin 2009	85_93
13	North Eastern Adriatic	Celic et al. 2018	94_103
14	Strait of Sicily	Agnetta et al. 2019	104_121

Risultati - Il confronto degli impatti complessivi netti (Net) verso quelli cumulativi diretti (CumE) evidenzia che l'impatto diretto è più grande di quello netto nella quasi totalità dei casi (105 attività di pesca su 121 nei 14 modelli considerati, Fig. 1a). I pochi casi in cui CumE<Net riguarda impatti diretti molto bassi (*artisanal fisheries; small scale fisheries*) che insistono in sistemi dove vi sono attività di pesca altamente distruttive (es. pesca a strascico di fondo). Un altro caso in cui l'impatto netto è risultato più alto di quello diretto è quello di un ecosistema in cui le catture totali sono le più basse in assoluto (modello 12). Le reti a strascico di fondo (con alte catture e scarto di pesca) risultano gli attrezzi con più alto impatto netto e diretto, mentre gli attrezzi più selettivi, come i palangari, presentano generalmente un basso impatto diretto e impatti netti variabili. I valori più elevati di *trade-offs* sono stati stimati per i palangari nello Stretto di Sicilia e per lo strascico nel Golfo della Thailandia, che hanno impatti diretti intermedi. Il pattern generale ottenuto nella valutazione dei *trade-offs* mostra un andamento a campana (Fig. 1b) dovuto alla corrispondenza di valori bassi di *trade-offs* per valori molto bassi o molto alti di impatto diretto e massimi per valori intermedi di impatto diretto. La struttura del modello in numero di gruppi funzionali ($R^2=0,013$) e attività di pesca ($R^2=0,0095$) non risulta correlata con i valori di *trade-offs*. Tra gli indici di resilienza il PP/B presenta il trend di correlazione positivo più elevato, ma nessuna correlazione risulta però significativa (PP/B, $R^2=0,043$; O/C, $R^2=0,020$; R/B, $R^2=0,0007$).

a)



b)

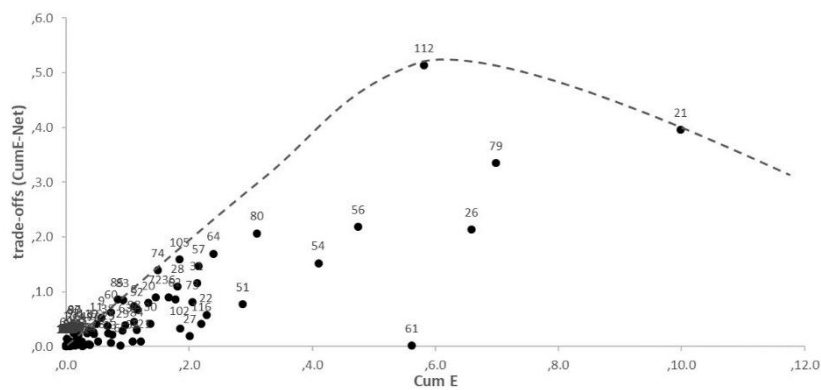


Fig. 1 – a) Confronto dell’impatto diretto cumulativo contro quello netto delle diverse attività di pesca nei 14 modelli esaminati per la stima dei *trade-offs*; b) analisi di impatto delle 121 attività di pesca in 14 modelli e ipotetica curva a campana che mostra il massimo sviluppo di *trade-offs* per livelli intermedi di disturbo.

a) *Cumulative direct impact against net impact for the fleets included in the 14 models used to estimate trade-offs*; b) *impact analysis of 121 fisheries in the 14 models, a dome-shaped curve shows maximum value of trade-offs at intermediate disturbance.*

Conclusioni - Le differenze tra impatti diretti e indiretti qui presentate hanno permesso l'individuazione di *trade-offs* positivi che emergono da sistemi marini complessi disturbati dall'attività di pesca. L'approccio utilizzato mostra quale possa essere la potenzialità dei modelli ecosistemici nell'individuare alcuni tipi di *trade-offs*. Il pattern ottenuto attraverso la quantificazione dei *trade-offs* mostra un massimo per livelli intermedi di disturbo (Pezy *et al.*, 2018). L'uso combinato di indici ecosistemici e *trade-offs* potrebbe permettere un confronto numerico tra ecosistemi con livelli di resilienza diversa anche se ulteriori indagini sono necessarie.

References

- AGNETTA D., BADALAMENTI F., COLLOCA F., D'ANNA G., DI LORENZO M., FIORENTINO F., GAROFALO G., GRISTINA M., LABANCHI L., PATTI B., PIPITONE C., SOLIDORO C., LIBRALATO S. (2019) - Benthic-pelagic coupling mediates interactions in Mediterranean mixed fisheries: an ecosystem modeling approach. *PLoS ONE*, **14** (1): e0210659.
- HEYMANS J.J., COLL M., LIBRALATO S., MORISSETTE L., CHRISTENSEN V. (2014) - Global patterns in ecological indicators of marine food webs: a modelling approach. *PLoS ONE*, **9** (4): e95845.
- O'LEARY J.K., MICHELI F., AIROLDI L., BOCH C., DE LEO G., ELAHI R., FERRETTI F., GRAHAM N.A.J., LITVIN S.Y., LOW N.H., LUMMIS S., NICKOLS K.J., WONG J. (2017) - The resilience of marine ecosystems to climatic disturbances. *BioScience*, **67** (3): 208-220.
- PEZY J.-P., RAOUX A., MARMIN S., BALAY P., DAUVIN J.-C. (2018) - What are the most suitable indices to detect the structural and functional changes of benthic community after a local and short-term disturbance? *Ecol. Indic.*, **91**: 232-240.

T. BACCI¹, M. SCARDI², S. CALVO³, A. TOMASELLO³, F. BADALAMENTI⁴,
L.M. VALIANTE⁵, F. DI NUZZO⁵, V. RAIMONDI⁶, M. ASSENZO⁶, L. PIAZZI⁷, E. CECCHI⁸,
A. ZENONE⁴, M. PENNA¹, P. TOMASSETTI¹, F. BERTASI¹, B. LA PORTA¹

¹Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Roma, Italy.

²Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", Roma, Italy.

³Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università di Palermo, Italy.

⁴Istituto per lo studio degli impatti Antropici e Sostenibilità in ambiente marino (IAS CNR), Palermo, Italy.

⁵Econ S.r.l., Napoli, Italy.

⁶Biosurvey S.r.l., Palermo, Italy.

⁷Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università di Sassari, Italy.

⁸Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana (ARPAT), Livorno, Italy.

tiziano.bacci@isprambiente.it

POSIDONIA OCEANICA SHOOT MICRO-DISTRIBUTION PATTERNS IN A 13 YEAR OLD TRANSPLANT SITE

PATTERN DI DISTRIBUZIONE DEI FASCI DI POSIDONIA OCEANICA IN UN SITO DI TRAPIANTO DI 13 ANNI

Abstract - *Posidonia oceanica* meadows host a huge number of shoots and their dynamics is strictly related to the spatial distribution patterns of those shoots. Spatial distribution of shoots was recorded by cutting all the leaves and by digitizing shoot location from pictures of square frames (1600 cm²) that were positioned in seemingly uniformly dense stands. We investigated shoot micro-distribution patterns in a 13 year old *P. oceanica* transplant site (Santa Marinella, Latium, Italy) and in an adjacent control meadow. Preliminary results highlight similarity of nearest neighbour statistics between transplanted and natural meadows. Nevertheless, the spatial point patterns of transplanted shoots differed from those of the control meadow.

Key-words: *Posidonia oceanica*, transplantation, shoot distribution, nearest neighbor analysis, monitoring.

Introduction - While seagrass meadows often appear as uniform landscapes, their inner structure, and, therefore, their dynamics, can be very complex (Den Hartog, 1971). Seagrass meadows, at any one time, consist of a nested structure of clones, possibly fragmented into different ramets, each supporting a variable number of shoots (Duarte *et al.*, 2006). Research on *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813 meadow structure is usually carried out at different spatial scales. At larger spatial scales, the focus is on the way meadows cover the substrate, while shoot density measurements are the main goal of studies at smaller spatial scales (Pergent-Martini *et al.*, 2005). However, density measurements are based on shoots counts and the spatial distribution of shoots is not uniform. Therefore, at very small spatial scales, density estimates become highly variable, depending on point patterns of shoot position (Panayotidis *et al.*, 1981; Bacci *et al.*, 2015). Recent studies on the structure of *P. oceanica* meadows at a very small spatial scale have related the observed spatial patterns of shoot micro-distribution to ecological processes (Bacci *et al.*, 2017). Here we report the preliminary results collected in the framework of the monitoring activities of the LIFE S.E.POS.S.O project on the micro-distribution patterns of *P. oceanica* shoots in a 13 year old transplant site.

Materials and methods - Field activities were carried out in September 2018 off S. Marinella (Central Mediterranean, Italy) in a shallow *P. oceanica* meadow at 8 m depth. Three 40×40 cm quadrats were randomly positioned in two sites: 1) the area where a rhizome transplant had been carried out in 2005 (32 shoots m⁻²) by means of

concrete frames, and 2) the adjacent natural meadow grown on *matte*. In the transplant area quadrats coincided with the concrete frames. In each quadrat all leaves were cut right above the ligule (thus allowing regrowth) and a picture was subsequently taken by an operator. The exact position of the apical portion of each rhizome (*i.e.*, at the leaf insertion) was then digitized *sensu* Bacci *et al.* (2017). Nearest neighbor statistics was computed. In addition, the Clark and Evans (1954) aggregation index R was calculated as the basis for a crude test of clustering or ordering of the shoot spatial distribution patterns in each quadrat. All the statistical analyses were performed using the package *spatstat* 1.47-0 in R Project for Statistical Computing, version 3.3.1.

Results - Shoot density revealed a high variability among quadrats both in the transplant area (min 65 shoots, max 96 shoots) and in the natural meadow (min 72 shoots, max 138 shoots). Spatial point patterns were analyzed in the six quadrats for a total of 535 shoots (Fig. 1). The frequency distribution of nearest neighbor distances (NNd) of shoots resulted unimodal and positively skewed both in the transplant area (227 shoots overall) and in the natural meadow (308 shoots overall). The median NNd values were 2.11 for the natural meadow and 1.97 for the transplant area and 99% of the measured shoot distances ranged between 1.04 and 5.77 cm and 0.92 and 5.12 cm respectively at the two sites. Kolmogorov-Smirnov test detected no significant statistical differences in shoot NNd between transplanted and natural meadow ($D=0.11$ $p>0.05$). The shoot NNd are also shown separately by means of box plots (Fig. 2). All the spatial point patterns observed in the natural meadow showed Clark and Evans index values significantly >1 (a: $R=1.21$ $p<0.0001$; b: $R=1.11$ $p<0.05$; c: $R=1.18$ $p<0.01$) indicating a regular pattern. Differently, spatial point patterns observed in the transplanted area showed values significantly <1 (e: $R=0.79$ $p<0.01$) or not significantly $\neq 1$ (d: $R=1.05$ $p>0.05$; f: $R=0.95$ $p>0.05$), indicating aggregated shoot distribution or suggesting a random pattern respectively (Fig. 1).

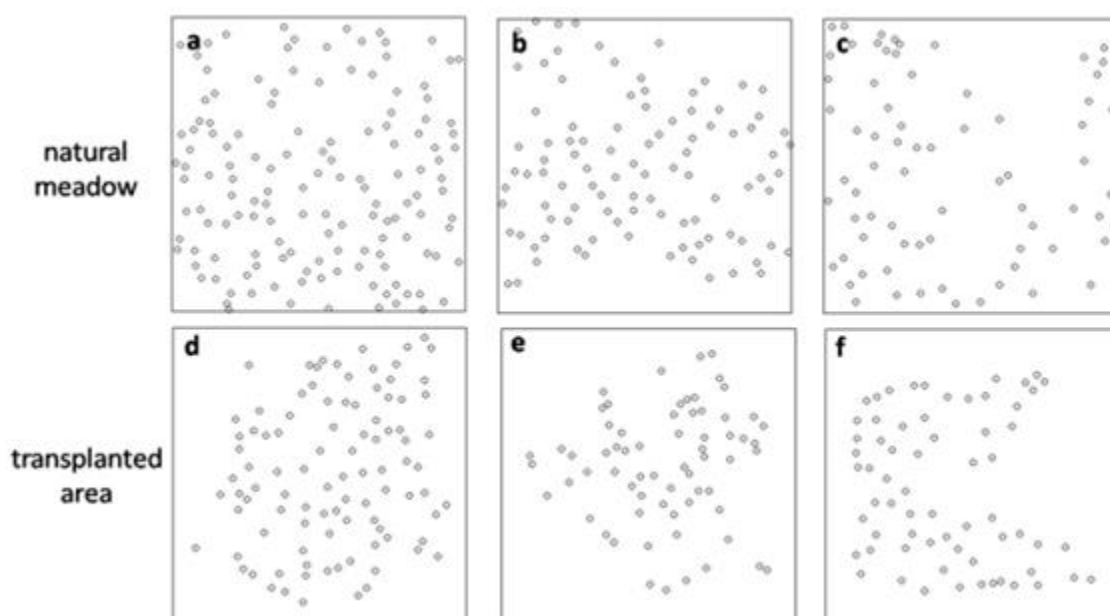


Fig. 1 - Shoot distribution of *P. oceanica* within 40x40 cm quadrats: a-c) natural meadow; d-f) transplanted area.

Distribuzione dei fasci fogliari di P. oceanica in quadrati 40x40 cm: a-c) prateria naturale; d-f) area di trapianto.

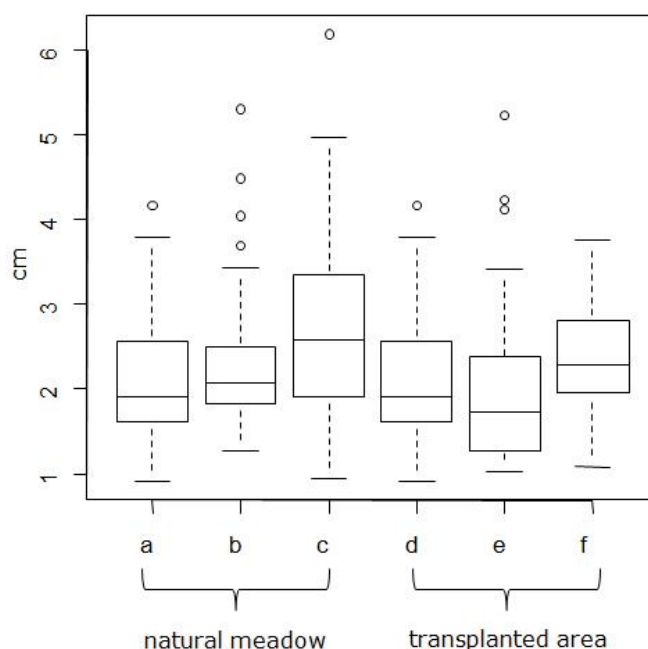


Fig. 2 - Box-plot of nearest neighbour distances (NNd) for each of the quadrats: a-c) natural meadow; d-f) transplanted area.

Box-plot delle distanze al vicino più prossimo (NNd) per ciascuno dei quadrati: a-c) prateria naturale; d-f) area di trapianto.

Conclusions - Although the quadrats analyzed were placed in sites that looked uniformly dense, shoot distribution highlighted a high patchiness both in natural meadow and transplanted area. Despite the comparison of nearest neighbor statistics did not show significant differences, the spatial point patterns observed showed that transplanted shoots have different dynamics compared to those of the natural meadow investigated in this study and of other natural and mature meadows investigated in Bacci *et al.* (2017). Although Spatial Point Pattern Analysis (SPPA) has become increasingly popular in terrestrial ecological research over the last two decades (Velázquez *et al.*, 2016), most of these techniques are almost unknown in aquatic environments (Bacci *et al.*, 2017). In the framework of *P. oceanica* transplantation activities within restoration projects, the analysis of shoot micro distribution turned out to be a useful tool for comparing transplanted areas to surrounding natural meadows, in order to reveal something more if compared to shoot density.

References

- BACCI T., RENDE S.F., ROCCA D., SCALISE S., CAPPA P., SCARDI M. (2015) - Optimizing *Posidonia oceanica* (L.) Delile shoot density: lessons learned from a shallow meadow. *Ecol. Indic.*, **58**: 199-206.
- BACCI T., RENDE F.S., SCARDI M. (2017) - Shoot micro-distribution patterns in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. *Mar. Biol.*, **164**: 85.
- CLARK P.J., EVANS F.C. (1954) - Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology*, **35** (4): 445-453.
- DEN HARTOG C. (1971) - The dynamic aspect in the ecology of seagrass communities. *Thalassia Jugoslavica*, **7** (1): 101-112.

- DUARTE C.M., FOURQUREAN J.W., KRAUSE-JENSEN D., OLESEN B. (2006) - Dynamics of seagrass stability and change. In: Larkum A.W.D., Orth R.J., Duarte C.M. (eds), *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Dordrecht: 271-294.
- PANAYOTIDIS P., BOUDOURESQUE C.F., MARCOT-COQUEUGNIOT J. (1981) - Microstructure de l'herbier de *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile. *Bot. Mar.*, **24**: 115-124.
- PERGENT-MARTINI C., LEONI V., PASQUALINI V., ARDIZZONE G.D., BALESTRI E., BEDINI R., BELLUSCIO A., BELSHER T., BORG J., BOUDOURESQUE C.F., BOUMAZA S., BOUQUEGNEAU J.M., BUIA M.C., CALVO S., CEBRIAN J., CHARBONNEL E., CINELLI F., COSSU A., DI MAIDA G., DURAL B., FRANCOUR P., GOBERT S., LEPOINT G., MEINESZ A., MOLENAAR H., MANSOUR H.M., PANAYOTIDIS P., PEIRANO A., PERGENT G., PIAZZI L., PIRROTTA M., RELINI G., ROMERO J., SANCHEZ-LIZASO J.L., SEMROUD R., SCHEMBRI P., SHILI A., TOMASELLO A., VELIMIROV B. (2005) - Descriptors of *Posidonia oceanica* meadows: use and application. *Ecol. Indic.*, **5**: 213-230.
- VELÁZQUEZ E., MARTÍNEZ I., GETZIN S., MOLONEY K.A., WIEGAND T. (2016) - An evaluation of the state of spatial point pattern analysis in ecology. *Ecography*, **39**: 1042-1055.

S. BEVILACQUA

Dipartimento di Scienze della Vita (DSV), Università di Trieste, Italia.
sbevilacqua@units.it

INCONGRUENZA DEI PATTERN DI β -DIVERSITÀ COMPOSIZIONALE E FUNZIONALE: IMPLICAZIONI PER LE STRATEGIE DI CONSERVAZIONE DELL'AMBIENTE MARINO

INCONSISTENT PATTERNS OF COMPOSITIONAL AND FUNCTIONAL β -DIVERSITY: IMPLICATIONS FOR MARINE CONSERVATION PLANNING

Abstract - *The extent to which compositional and functional β -diversity may overlap, or diverge, is still poorly known in marine environments. We investigated patterns of turnover (replacement) and nestedness (gain or loss) in species and functional trait composition among subtidal sessile assemblages from six Mediterranean islands. A complex relationship between functional and compositional β -diversity emerged depending on depth. At 5 m, turnover was the dominant component for both compositional and functional β -diversity, indicating that changes in functional traits among assemblages reflected changes in species identities. At 15 m, compositional β -diversity was mostly due to turnover while functional β -diversity was driven by the nestedness component, indicating a spatial mismatch between variations in species and functional traits diversity. Our findings stress the importance of more inclusive spatial analyses, beyond species richness and composition, in order to unveil incongruent diversity patterns and optimize marine conservation planning.*

Key-words: *island biogeography, marine conservation, Mediterranean Sea, subtidal rocky reefs, sessile assemblages.*

Introduzione - La conservazione dell'ambiente marino si è storicamente concentrata sul proteggere aree ad elevata diversità in termini di specie e di habitat, partendo dal presupposto che un maggiore numero di specie possa esprimere anche una maggiore diversità delle funzioni. Negli ultimi decenni, inoltre, lo studio della β -diversità, ossia delle variazioni nella composizione in specie tra comunità, ha ricevuto una rinnovata enfasi nell'ecologia marina (Bevilacqua *et al.*, 2012), anche per la sua potenziale importanza nel guidare l'assetto spaziale di network di aree protette. La correlazione tra diversità composizionale e funzionale, ad ogni modo, è lungi dall'essere scontata, e in molti casi la sovrapposizione nello spazio tra questi differenti aspetti della diversità biologica è solo parziale (*e.g.*, Lindegren *et al.*, 2018). Recenti approcci hanno permesso una migliore comprensione di quanto le differenze nelle identità delle specie tra comunità possano essere allineate con quelle nei tratti funzionali, consentendo di separare le due componenti della β -diversità: *turnover* e *nestedness* (Baselga, 2010; Villéger *et al.*, 2013). La prima componente si riferisce ai cambiamenti della composizione dovuti alla sostituzione di specie tra comunità, la seconda a quelli causati dalla riduzione o aumento delle specie. Quantificare queste componenti è fondamentale per comprendere i processi ecologici alla base della distribuzione della diversità nello spazio e nel tempo. Da un punto di vista più pratico, integrare β -diversità composizionale e funzionale, separando *turnover* e *nestedness*, può guidare la pianificazione di network di aree protette che intercettino al meglio la diversità nel suo complesso, considerando sia le specie che i tratti ecologici ad esse associati (Carvalho *et al.*, 2012). In ambiente marino, tuttavia, le ricerche in questa direzione sono limitate e spesso circoscritte al solo aspetto composizionale (*e.g.*, Stuart *et al.*, 2017). In questo studio, i popolamenti macrobentonici sessili del subtidale roccioso in sei isole dell'arcipelago delle Ionie sono stati analizzati per quantificare le componenti di *turnover*

e *nestedness* compositiva e funzionale tra isole e valutarne la congruenza nello spazio e tra diverse profondità.

Materiali e metodi - Lo studio si è concentrato su popolamenti macrobentonici sessili a dominanza macroalgale su substrato roccioso subverticale. I popolamenti sono stati campionati fotograficamente a 5 e 15 m di profondità, in 4 siti per ognuna delle 6 isole oggetto dello studio. In totale sono stati identificati 67 taxa (90% identificati al livello di specie o genere), tra cui 32 taxa algali, 15 spugne, 6 briozoi, 5 ascidie, mentre i restanti 10 taxa includevano molluschi, policheti, cnidari e balani. Per ciascun taxon riscontrato si è costruita una matrice di 33 tratti funzionali collegati alla morfologia (complessità strutturale, dimensioni, flessibilità, fragilità), ciclo vitale (strategia di crescita, ciclo vitale, meccanismo di sviluppo, tasso di crescita, durata della vita), riproduzione (tipo di riproduzione, tipo di gameti, stagione riproduttiva, strategia riproduttiva), dispersione e colonizzazione (distribuzione, durata dello stadio larvale, riproduzione asessuale), preferenze ambientali (posizione sul substrato, forza di adesione, profondità minima, profondità massima, salinità minima, temperatura massima, concentrazione massima azoto, concentrazione massima fosforo, saturazione massima di ossigeno), interazioni biologiche (socialità, difesa, strutturazione di habitat, scala di habitat, dieta) e caratteristiche trofiche (abitudine alimentare, biomassa, contenuto calorico, contenuto di CaCO_3). La β -diversità compositiva è stata calcolata come dissimilarità di Jaccard e separata nelle due componenti di *turnover* e *nestedness* (Baselga, 2010). Per quanto riguarda le analisi funzionali, si è proceduto a costruire i volumi funzionali per ciascun popolamento sulla base della matrice dei tratti e, successivamente, si è calcolata la β -diversità funzionale e le sue componenti separate applicando l'indice di Jaccard al confronto tra i volumi funzionali (Villéger *et al.*, 2013). Un'analisi della dispersione multivariata (PERMDISP; Anderson *et al.*, 2006) è stata effettuata per testare potenziali differenze tra profondità nella β -diversità compositiva e funzionale tra isole. La congruenza tra i pattern spaziali di β -diversità compositiva e funzionale, e le eventuali correlazioni tra profondità, sono state testate con il test di Mantel.

Risultati - Il PERMDISP non ha rilevato differenze significative ($P > 0,05$) tra le due profondità nella β -diversità compositiva e funzionale, o nelle loro componenti. Tuttavia, a 5 m, il *turnover* costituiva la componente principale della β -diversità funzionale e compositiva (Fig. 1), che erano strettamente correlate ($r = 0,83$, $P = 0,01$). Tale correlazione non sussisteva a 15 m ($r = 0,16$, $P = 0,27$). A questa profondità, infatti, il *turnover* era la componente dominante della β -diversità compositiva, ma non di quella funzionale, che invece era determinata maggiormente dalla *nestedness* (Fig. 1).

Conclusioni - Lo studio è circoscritto alla diversità del benthos sessile apprezzabile attraverso un campionamento non distruttivo, non considerando gli organismi vagili e le specie criptiche. Tuttavia, il campionamento è stato idoneo a caratterizzare la componente macrobentonica strutturante dei popolamenti, dalla quale dipende la diversità della fauna vagile e dell'*understorey* associato. In un'ottica di conservazione, i risultati sottolineano l'importanza di esplorare i pattern di β -diversità compositiva e funzionale, ed in particolare di separare il differente contributo di *turnover* e *nestedness*, per definire i possibili scenari di protezione, specialmente nelle aree costiere dove l'eterogeneità spaziale dei popolamenti e la diversità di habitat può essere molto elevata. Un diverso contributo di *turnover* e *nestedness* nel determinare le

variazioni in specie tra comunità può, infatti, costituire il discriminante nella scelta di strategie di conservazione diametralmente opposte.

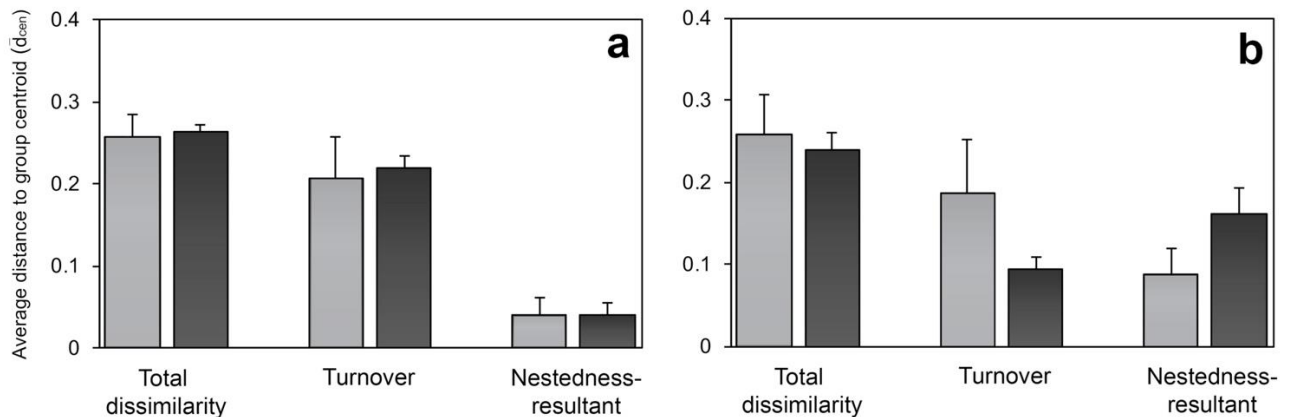


Fig. 1 - Distanza media (\pm ES) attorno al centroide (come misura di β -diversità) dei popolamenti nelle diverse isole a 5 m (barre grigio chiaro) e 15 m (barre grigio scuro) basata sulla dissimilarità (a) composizionale e (b) funzionale totale e delle rispettive componenti di *turnover* e *nestedness*.

Average distance (\pm SE) to the group centroid (as a measure of β -diversity) of assemblages at 5 m (light gray bars) and 15 m depth (dark gray bars) based on (a) compositional and (b) functional dissimilarity matrices, and their respective turnover and nestedness-resultant components.

Una *nestedness* elevata orienterebbe la selezione verso una o poche aree da proteggere, privilegiando quelle più rappresentative della diversità in specie a scala regionale. Al contrario, un elevato *turnover* suggerirebbe la scelta di siti multipli e complementari al fine di ottenere un network di aree protette più inclusivo possibile. Considerare esclusivamente la composizione e numero delle specie, però, potrebbe non essere sufficiente a definire aree prioritarie per la conservazione che, oltre a preservare la diversità in specie, garantiscano di massimizzare anche la protezione delle caratteristiche funzionali espresse (Loiseau *et al.*, 2017). Ad esempio, un elevato *turnover* in specie controbilanciato da un'elevata *nestedness* dei tratti funzionali porrebbe il problema di dover decidere tra proteggere uno, o pochi, *hotspot* funzionali che includono la maggior parte dei tratti funzionali trascurando gli altri siti, oppure privilegiare la protezione di maggior numero di specie possibile pianificando un numero molto più grande di siti da proteggere. Teoricamente, quest'ultima strategia costituirebbe la soluzione migliore a prescindere perché, probabilmente, proteggendo un numero di specie sufficientemente alto anche il numero di tratti funzionali associati dovrebbe essere altrettanto cospicuo. Inoltre, anche quando il contributo della *nestedness* alla β -diversità è dominante, o in altre parole, quando la diversità di uno o pochi siti tende a comprendere quella presente in tutti gli altri, difficilmente questi ultimi sarebbero dei sottoinsiemi perfetti dei primi e molti siti sarebbero comunque necessari per una protezione esaustiva del potenziale di biodiversità nell'area in oggetto. In un contesto reale, tuttavia, una strategia orientata a replicare al massimo i siti da proteggere è spesso difficilmente applicabile a causa di un insieme di fattori politici, socio-economici e logistici che tendono invece a limitarne il numero. Comprendere la natura delle variazioni spaziali della biodiversità nei suoi molteplici aspetti, attraverso la scomposizione di tali variazioni nelle loro costituenti fondamentali di *turnover* e *nestedness*, quindi, può fornire elementi indispensabili per una pianificazione ottimizzata degli sforzi di conservazione.

Bibliografia

- ANDERSON M.J., ELLINGSEN K.E., McARDLE B.H. (2006) - Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecol. Lett.*, **9** (6): 683-693.
- BASELGA A. (2010) - Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, **19** (1): 134-143.
- BEVILACQUA S., PLICANTI A., SANDULLI R., TERLIZZI A. (2012) - Measuring more of β -diversity: quantifying patterns of variation in assemblage heterogeneity. An insight from marine benthic assemblages. *Ecol. Indic.*, **18**: 140-148.
- CARVALHO J.C., CARDOSO P., GOMES P. (2012) - Determining the relative roles of species replacement and species richness differences in generating beta-diversity patterns. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, **21** (7): 760-771.
- LINDEGREN M., HOLT B.G., MacKENZIE B.R., RAHBEK C. (2018) - A global mismatch in the protection of multiple marine biodiversity components and ecosystem services. *Sci. Rep.*, **8**: 4099.
- LOISEAU N., LEGRAS G., KULBICKI M., MÉRIGOT B., HARMELIN-VIVIEN M., MAZOUNI N., GALZIN R., GAERTNER J.C. (2017) - Multi-component β -diversity approach reveals conservation dilemma between species and functions of coral reef fishes. *J. Biogeogr.*, **44** (3): 537-547.
- STUART C.T., BRAULT S., ROWE G.T., WEI C.-L., WAGSTAFF M., McCLAIN C.R., REX M.A. (2017) - Nestedness and species replacement along bathymetric gradients in the deep sea reflect productivity: a test with polychaete assemblages in the oligotrophic north-west Gulf of Mexico. *J. Biogeogr.*, **44** (3): 548-555.
- VILLÉGER S., GRENOUILLET G., BROSSE S. (2013) - Decomposing functional β -diversity reveals that low functional β -diversity is driven by low functional turnover in European fish assemblages. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, **22** (6): 671-681.

A. BONIFAZI, L. ARGENTI, D. CHIOTA, L. AGUZZI, E. VIAGGIU

ARPA Lazio, Dipartimento Stato dell'Ambiente, Servizio Monitoraggio delle Risorse Idriche, Roma, Italia.
andrea.bonifazi@arpalazio.it

**MONITORAGGIO DEI RIFIUTI MARINI NEGLI HABITAT
A CORALLIGENO E NEI FONDALI A RODOLITI, SECONDO
LA DIRETTIVA EUROPEA STRATEGIA MARINA (2008/56/CE),
LUNGO LE COSTE LAZIALI (ITALIA)**

**MONITORING THE MARINE LITTER IN CORALLIGENOUS HABITATS
AND IN RHODOLITH BEDS, ACCORDING TO
THE MARINE STRATEGY FRAMEWORK DIRECTIVE (2008/56/CE),
ALONG THE LATIUM COAST (ITALY)**

Abstract - In the Mediterranean Sea, coralligenous biocenosis and rhodolith beds are extremely important habitats, acting as biodiversity hot-spots and supporting a highly diversified fauna and a lot of macroalgal species. However, these habitats are sensitive to many anthropogenic impacts, among which one of the major threats is the marine litter, often represented by fishing gears. The monitoring activities carried out according to the Marine Strategy Framework Directive have allowed to increase the knowledge about the impact of the marine litter on coralligenous habitats and rhodolith beds along the Latium coast (Central Tyrrhenian Sea). The present work shows the quali-quantitative analysis of some categories of marine litter found in these sensitive habitats.

Key-words: habitat, coralligenous, rhodolith beds, marine litter, Marine Strategy.

Introduzione - Il coralligeno ed i fondali a rodoliti sono habitat di particolare pregio ecologico che, in Mediterraneo, si sviluppano in ambienti sciafili. Per habitat a coralligeno si intendono le biocenosi bentoniche dominate da alghe rosse appartenenti all'ordine Corallinales che si accrescono in condizioni di luminosità ridotta e temperature non elevate (Bressan e Babbini, 2003). Si tratta di ambienti fragili frutto dell'equilibrio dinamico tra processi costruttivi, derivanti dall'azione di organismi biocostruttori, e processi distruttivi operati da specie perforanti; di conseguenza il tasso di crescita è molto basso, mediamente compreso tra 0,11 e 0,26 mm/anno (Bonacorsi *et al.*, 2012). Anche i fondali a rodoliti sono originati dai talli calcarei di alghe rosse appartenenti all'ordine Corallinales la cui crescita avviene per sovrapposizione di una o più specie algali attorno ad un nucleo bioclastico o inorganico. A differenza del coralligeno, i talli di queste alghe hanno crescita libera su substrato mobile e, se le condizioni ambientali ed idrodinamiche sono favorevoli, possono formare letti a rodoliti particolarmente estesi (Frezza *et al.*, 2021). Essendo habitat molto sensibili e di grande valore ecologico, nel corso degli anni sono state definite numerose strategie di tutela e di monitoraggio, come quelle riportate nel "Piano d'azione per la conservazione del coralligeno e le altre concrezioni calcaree nel Mar Mediterraneo" della UNEP/MAP-RAC/SPA (2008), oltre a varie convenzioni internazionali, quali la Direttiva Habitat 92/43/CEE, il Protocollo SPA/BIO, la Convenzione di Barcellona, la Convenzione di Berna ed il Regolamento (CE) n. 1967/2006. Ad oggi, le principali azioni per monitorare questi habitat bentonici sono in applicazione dei Programmi di monitoraggio previsti dalla direttiva quadro sulla Strategia per l'ambiente marino (MSFD, *Marine Strategy Framework Directive*, 2008/56/CE), recepita in Italia dal D.Lgs. 190/2010. Grazie agli accordi di programma tra il Ministero della Transizione Ecologica, l'Ispra, le Regioni e le ARPA, a partire dal 2015, sono state avviate indagini volte all'identificazione, alla caratterizzazione e alla mappatura sia degli habitat a coralligeno che dei fondali a rodoliti al fine di colmare i

gap conoscitivi sullo stato ambientale degli ecosistemi marino costieri, permettendo tra l'altro di far luce sui principali impatti antropici a cui possono essere soggetti tali ambienti. Tra questi ultimi, sono stati presi in considerazione la presenza dei rifiuti marini, la loro distribuzione e la loro origine. I rifiuti marini sono monitorati ai sensi del Descrittore 10 della MSFD. È infatti noto che in questi habitat sia frequente imbattersi in rifiuti antropici di origine terrestre e in reti fantasma che possono avere impatti più o meno gravi sulle biocenosi presenti. In ambiente coralligeno è stato dimostrato che i rifiuti possono essere ingeriti o possono provocare intrappolamento, andando così a danneggiare la fauna sia vagile che sessile e, nello stesso tempo, alterando il fragile equilibrio dinamico tra biocostruttori e *bioeroders*, portando anche a fenomeni di necrosi ed epibiosi (Costanzo *et al.*, 2020; Ferrigno *et al.*, 2021; Pierdomenico *et al.*, 2021). Anche i letti a rodoliti possono essere fortemente impattati dai rifiuti dispersi sul fondo del mare, portando a conseguenze quali la riduzione dell'estensione della loro copertura, la diminuzione delle dimensioni generali, l'incremento della mortalità dei talli, ma anche la possibile risospensione del sedimento in grado di causare fenomeni di anossia (Rendina *et al.*, 2020). Conoscere l'abbondanza e la distribuzione dei rifiuti che impattano su questi fragili habitat è quindi di vitale importanza per definire una *baseline* utile per l'applicazione futura di programmi di monitoraggio ed adeguate azioni di tutela. Nel seguente lavoro vengono mostrati i dati quali-quantitativi relativi alle varie tipologie di rifiuto osservate lungo le coste laziali sia nell'habitat coralligeno che sui letti a rodoliti, rilevati grazie ai monitoraggi condotti tra il 2015 ed il 2020.

Materiali e metodi - Le aree monitorate sono state selezionate ai sensi della MSFD in modo da essere rappresentative delle diverse condizioni ambientali delle coste laziali e di differenti intensità di pressioni ed impatti. Sono state scelte sia aree per le quali non si avevano adeguate informazioni di presenza, estensione e condizioni dell'habitat che aree per cui erano già note presenza ed estensione. L'habitat coralligeno è stato indagato presso Montalto (VT), Capo Linaro (RM), Costacuti (RM), San Felice Circeo (LT) e Palmarola (LT) (Tab. 1), mentre i letti a rodoliti sono stati monitorati a Capo Linaro (RM), Costacuti (RM), Palmarola (LT) e Zannone (LT) (Tab. 2). Ai sensi della MSFD, ogni area indagata ha un'estensione di 25 km²: all'interno di ciascuna area, sono stati scelti 3 siti in cui sono stati identificati 3 transetti di circa 200 m ciascuno, per un totale di 9 transetti (circa 1800 m lineari indagati). Sia per il coralligeno che per i fondali a rodoliti, oltre all'acquisizione dei dati bati-morfologici, lungo i transetti sono stati raccolti immagini e video in alta definizione e georeferenziate con ROV (*Remotely Operated Vehicle*). Per quanto concerne il coralligeno, l'analisi video ha permesso di evidenziare la struttura dei popolamenti, l'abbondanza specifica e lo stato di salute con particolare attenzione alle specie arborescenti, mentre per i fondali a rodoliti l'utilizzo del ROV ha consentito di monitorare la densità e la vitalità dell'habitat. Contestualmente, per entrambi gli habitat le analisi video hanno permesso di identificare e catalogare i rifiuti presenti lungo i transetti. I rifiuti osservati sono stati divisi in cinque macrocategorie: reti, lenze, cavi e funi, oggetti in plastica, altro (*e.g.*, oggetti in metallo, legno, vetro e materiali tessili). Per la classificazione dei rifiuti si è fatto riferimento alla lista "*Joint List Marine Litter*" presente nello standard informativo fornito da ISPRA per la restituzione dei risultati del monitoraggio.

Risultati - Nell'ambito del monitoraggio per l'habitat a coralligeno, la maggiore abbondanza di rifiuti è rappresentata dagli attrezzi da pesca (reti, lenze e cime di varia natura); gli altri rifiuti sono stati accorpati nelle due categorie "oggetti in plastica"

(buste ed altro) ed "altro" (principalmente oggetti metallici e bottiglie di vetro). I risultati sono stati espressi come numero totale di rifiuti osservati in ciascuna area indagata, equivalente a 9 transetti da 200 m ciascuno. L'isola di Palmarola è risultata essere la zona meno impattata da rifiuti antropici. Le maggiori abbondanze sono state rilevate a Costacuti ed a Capo Linaro mentre le zone di Montalto e del Circeo hanno mostrato valori intermedi. È necessario osservare come Costacuti, indagata sia nel 2018 che nel 2020, abbia mostrato valori decisamente più bassi nel corso del secondo campionamento (Tab. 1). L'analisi quali-quantitativa dei rifiuti rilevati presso i letti a rodoliti ha evidenziato una marcata differenza in termini di abbondanza e tipologia. Le aree di Palmarola e Costacuti sono risultate complessivamente poco impattate da rifiuti di natura antropica, mentre Zannone e Capo Linaro hanno mostrato valori più elevati. Le scarse abbondanze in prossimità dei letti a rodoliti hanno mostrato sempre valori non comparabili con quelli rilevati in prossimità degli habitat a coralligeno (Tab. 2).

Tab. 1 - Per ciascuna località e per tipologia di rifiuto, si riporta l'abbondanza totale rilevata nell'ambito del monitoraggio dell'habitat coralligeno.

Total number of items of each type found in coralligenous habitats at the surveyed locations.

Località	Anno	Reti	Lenze	Cavi e funi	Oggetti in plastica	Altro
Circeo (LT)	2016	22	25	9	1	7
Montalto (VT)	2016	2	13	1	1	2
Capo Linaro (RM)	2016	9	73	9	4	2
Palmarola (LT)	2017	7	15	0	5	2
Costacuti (RM)	2018	32	100	34	10	12
Costacuti (RM)	2020	15	12	22	6	4
Totale		89	251	76	28	31

Tab. 2 - Per ciascuna località e per tipologia di rifiuto, si riporta l'abbondanza totale rilevata nell'ambito del monitoraggio dell'habitat dei letti a rodoliti.

Total number of items of each type found in rhodolith beds at the surveyed locations.

Località	Anno	Reti	Lenze	Cavi e funi	Oggetti in plastica	Altro
Zannone (LT)	2015	2	0	0	8	8
Capo Linaro (RM)	2016	2	0	9	3	0
Palmarola (LT)	2017	0	0	1	1	2
Costacuti (RM)	2018	0	0	0	2	0
Totale		4	0	10	14	10

In generale, il monitoraggio degli habitat a coralligeno ha evidenziato come le maggiori abbondanze siano attribuibili alle attività di pesca (251 lenze, 89 reti e 76 cavi e funi), mentre meno presenti sono gli oggetti di altro materiale (31) e gli altri oggetti in plastica (28) (Tab. 1). Per quanto riguarda i fondali a rodoliti, la categoria complessivamente più abbondante è quella degli altri oggetti in plastica (14), ma valori

similari sono stati osservati anche per cavi e funi (10) ed oggetti di altro materiale (10); a questi si aggiungono poche reti (4) e nessuna lenza (Tab. 2).

Conclusioni - Come tutti gli ambienti particolarmente ricchi ed ecologicamente rilevanti, anche il coralligeno ed i letti a rodoliti rappresentano habitat estremamente fragili e delicati, sui quali influiscono numerosi fattori che possono comprometterne definitivamente la vitalità. Il coralligeno delle coste laziali è risultato complessivamente molto impattato principalmente da un'intensa attività di pesca, con picchi raggiunti a Capo Linaro e a Costacuti, località ubicate rispettivamente a nord ed a sud di Roma, sebbene anche nel Circeo, in provincia di Latina, l'impatto sia marcato. A Capo Linaro e Costacuti è stato trovato un considerevole quantitativo di lenze, impatto causato primariamente dalla pesca sportiva, mentre la pesca, sia professionale che artigianale, evidenziata dalle reti rimaste ancorate al substrato, ha impattato maggiormente nella stessa Costacuti. Valori decisamente inferiori sono stati rilevati in prossimità dei letti a rodoliti anche a parità di località indagata: emblematico è il caso di Costacuti, con il coralligeno fortemente impattato ed i letti a rodoliti quasi privi di rifiuti. Oltre che alla collocazione geografica di queste località, più o meno influenzate sia dalle attività di pesca che dagli apporti di altro genere, le maggiori abbondanze di rifiuti sono da attribuire alla differente natura del substrato indagato. Infatti i letti a rodoliti sono orizzontali ed offrono poche possibilità di appiglio non solo per gli attrezzi da pesca, ma anche per materiali leggeri che possono venir spostati dalle correnti, mentre il coralligeno, eterogeneo e localmente ricco di specie strutturanti e rigide, si rivela ricco di sporgenze che possono costituire un ostacolo per reti e lenze. Le attività di monitoraggio condotte ai sensi della MSFD hanno quindi permesso di conoscere meglio i rifiuti che più impattano su questi vulnerabili habitat, colmando così le lacune conoscitive legate alla loro distribuzione lungo le coste laziali. Tali studi, sebbene preliminari, evidenziano l'importanza di programmi di monitoraggio finalizzati alla conservazione ed alla protezione di questi ambienti minacciati principalmente dalle attività di pesca non sostenibili.

Bibliografia

- BONACORSI M., PERGENT-MARTINI C., CLABAUT P., PERGENT G. (2012) - Coralligenous "atolls": discovery of a new morphotype in the Western Mediterranean Sea. *C. R. Biol.*, **335** (10-11): 668-672.
- BRESSAN G., BABBINI L. (2003) - Biodiversità marina delle coste italiane: Corallinales del Mar Mediterraneo: guida alla determinazione. *Biol. Mar. Mediterr.*, **10** (Suppl. 2): 237 pp.
- COSTANZO L.G., MARLETTA G., ALONGI G. (2020) - Assessment of marine litter in the coralligenous habitat of a marine protected area along the Ionian coast of Sicily (Central Mediterranean). *J. Mar. Sci. Eng.*, **8** (9): 656.
- FERRIGNO F., APPOLLONI L., DONNARUMMA L., DI STEFANO F., RENDINA F., SANDULLI R., RUSSO G.F. (2021) - Diversity loss in coralligenous structuring species impacted by fishing gear and marine litter. *Diversity*, **13** (7): 331.
- FREZZA V., ARGENTI L., BONIFAZI A., CHIOCCI F.L., DI BELLA L., INGRASSIA M., MARTORELLI E. (2021) - Benthic foraminiferal assemblages and rhodolith facies evolution in post-LGM sediments from the Pontine Archipelago shelf (Central Tyrrhenian Sea, Italy). *Geosciences*, **11** (4): 179.
- PIERDOMENICO M., BONIFAZI A., ARGENTI L., INGRASSIA M., CASALBORE D., AGUZZI L., VIAGGIU E., LE FOCHE M., CHIOCCI F.L. (2021) - Geomorphological characterization, spatial distribution and environmental status assessment of coralligenous reefs along the Latium continental shelf. *Ecol. Indic.*, **131**: 108219.
- RENDINA F., FERRIGNO F., APPOLLONI L., DONNARUMMA L., SANDULLI R., RUSSO G.F. (2020) - Anthropogenic pressure due to lost fishing gears and marine litter on different rhodolith beds off the Campania coast (Tyrrhenian Sea, Italy). *Ecol. Quest.*, **31** (4): 41-51.
- UNEP/MAP-RAC/SPA (2008) - *Action plan for the conservation of the coralligenous and other calcareous bioconcretions in the Mediterranean Sea*. RAC/SPA publ., Tunis: 21 p.

S. CARONNI¹, G. CECCHERELLI², S. CITTERIO¹, M.A. DELARIA², R. GENTILI¹,
C. MONTAGNANI¹, A. NAVONE³, P. PANZALIS³, D. BASSO^{1,4}

¹Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Terra, Università di Milano-Bicocca, Italia.

²Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Università di Sassari, Italia.

³Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo, Olbia (SS), Italia.

⁴Conisma, Url di Milano-Bicocca, Milano, Italia.

sarah.caronni@unimib.it

L’IMPORTANZA DELLA FORMA NELLE PERFORMANCE DI ALGHE CORALLINE SOGGETTE A STRESS: IMPLICAZIONI PER LA CONSERVAZIONE

THE IMPORTANCE OF FORM IN THE PERFORMANCES OF STRESSED CORALLINE ALGAE: IMPLICATIONS FOR CONSERVATION

Abstract – In the last few years several studies have focused on the relation existing for macroalgae between shape and performance but no data regarding coralline algae are available yet. The aim of this study was to investigate the performance of articulate and non-articulate corallines exposed to their main stressors: sediment burial and mucilage. To the purpose, 24 experimental units were prepared in a bay of Tavolara Punta Coda Cavallo Marine Protected Area, where the two morpho-functional groups of corallines were present. The amount of sediment and the presence of mucilage were manipulated on the substratum and the net primary production and survival (substratum percent cover) of corallines were considered as response variables. For both the groups, the lowest primary production was observed in units exposed to burial and mucilage. For the percent cover, instead, the lowest values were recorded for non-articulate coralline algae exposed to burial when mucilage was removed.

Key-words: coralline algae habitat, stressors, sediment burial, mucilage, conservation.

Introduzione - Le alghe coralline (Rhodophyta, Corallinophycidae) sono tra le più importanti componenti delle comunità macroalgali delle zone fotiche di gran parte dei mari e degli oceani e rappresentano uno tra i principali gruppi di organismi calcificanti del comparto bentonico, il cui declino può avere serie ripercussioni sull’intero ecosistema (Johansen, 1981). Tra le alghe coralline si annoverano specie appartenenti ad almeno 2 gruppi morfo-funzionali significativamente differenti: alghe non-articolate ed articolate (Lipkin e Silva, 2002). Negli ultimi 30 anni numerosi studi hanno dimostrato per molte specie macroalgali l’esistenza di una relazione diretta tra forma e performance, soprattutto in termini di attività fotosintetica e tasso di crescita. In linea generale, le macroalghe a tallo eretto sembrano essere in grado di raggiungere performance più elevate delle specie con talli più semplici (e.g. Littler, 1981). Inoltre, Norton (1991) ha suggerito che la forma di un’alga possa addirittura influenzarne la sopravvivenza in condizioni di stress ma, ad oggi, non sono disponibili a riguardo dati specifici relativi alle alghe coralline, che potrebbero fornire informazioni particolarmente utili per la conservazione degli habitat a coralline. Obiettivo di questo lavoro, che rientra in un ampio progetto di ricerca sulle alghe coralline condotto grazie ad una collaborazione tra l’Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo e l’Università di Milano-Bicocca, è stato indagare, per mezzo di un esperimento manipolativo di campo, le performance di alghe coralline non-articolate ed articolate, esposte ai due principali stress che sembrano danneggiarle maggiormente in ambiente naturale: l’infangamento e la presenza di mucillagine (Figueiredo e Steneck, 2002; Schiaparelli *et al.*, 2007). L’ipotesi alla base dell’esperimento era che gli *stressor* considerati avessero sulle coralline un effetto negativo sinergico, con performance strettamente correlate al gruppo morfo-funzionale di appartenenza. In particolare, ci si aspettava di osservare le

performance in assoluto meno elevate nel caso in cui fossero le specie non-articolate ad essere sottoposte all'effetto sinergico dei due *stressor*.

Materiali e metodi - L'esperimento di campo è stato condotto nel biennio 2016-2018 in una zona C dell'Area Marina Protetta Tavolara Punta Coda Cavallo (Punta Don Diego: 40°52,501' N; 9°39,306' E). Nella baia di Punta Don Diego sono risultati presenti popolamenti di alghe coralline sia non-articolate sia articolate (Caronni, comunicazione personale) e, negli ultimi anni, si sono osservati bloom mucilluginosi nei mesi estivi, in cui lo sviluppo delle coralline era massimo (Caronni *et al.*, 2014). Sul campo, a circa 1,5 m di profondità, sono state allestite 24 unità sperimentali (10×10 cm) su porzioni di substrato in cui il popolamento a alghe coralline era il più vario possibile per l'area di studio considerata, in modo da ridurre l'influenza della risposta delle singole specie alle condizioni ambientali. Un totale di 12 unità sono state ricavate su substrati con prevalenza di alghe coralline non-articolate (NA) (*Phymatolithon*, *Neogoniolithon* e *Pneophyllum*) e 12 dove le specie articolate (A) erano più abbondanti (generi *Amphiroa* e *Ellisolandia*). Dopo aver eliminato tutte le macroalghe a tallo molle presenti nelle unità (il cui ricoprimento del substrato non superava comunque il 15%), è stata manipolata la quantità di sedimento [aggiunto (S+) vs controllo (S)] e la presenza di mucillagine [rimossa (M-) vs controllo (M+)] (n=3). L'infangamento è stato simulato al momento di inizio dell'esperimento e le unità sono state controllate mensilmente nel primo anno di studio per verificarne il mantenimento. Il sedimento (~40 g per unità), che nell'area di studio è caratterizzato da una granulometria medio-fine (sabbie da grossolane a fini con componenti siltosi), è stato aspirato da porzioni di substrato circostante, utilizzando una siringa da 60 ml con il puntale tagliato, e depositato nelle unità da arricchire (Caetano *et al.*, 2002). La rimozione della mucillagine è stata effettuata manualmente ogni qualvolta si sia reso necessario nel corso dell'intero esperimento. La performance delle macroalghe è stata stimata considerando come variabili di risposta la loro produzione primaria netta e la loro sopravvivenza, intesa come percentuale di ricoprimento del substrato dell'intero popolamento a coralline presente in ogni unità. I dati relativi alle due variabili di risposta considerate sono stati raccolti ad inizio esperimento (giugno 2016: T₀) e poi ogni 12 mesi fino alla fine dell'esperimento (giugno 2018: T₂). La produzione primaria netta è stata valutata partendo dalla stima dei flussi di ossigeno su campioni di ciascun genere di coralline presente nelle unità (n=2), calcolandone area e volume in modo da ottenere dati confrontabili. La copertura del substrato, invece, è stata stimata tramite analisi di immagine su foto delle unità, secondo la metodologia descritta da Dethier *et al.* (1993). È stata considerata la percentuale di ricoprimento del substrato delle sole alghe vive, basandosi sulla colorazione, soprattutto per le specie non-articolate, come suggerito da Martin e Gattuso (2009). I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente con tecniche di analisi univariata (ANOVA, SNK test a posteriori), per confrontare la produzione e la copertura delle coralline appartenenti ai due gruppi morfo-funzionali considerati in relazione agli *stressor* simulati (GMAV5).

Risultati - All'inizio dell'esperimento (T₀) la percentuale di ricoprimento del substrato ad opera delle alghe coralline, sia articolate sia non-articolate, è risultata molto simile in tutte le unità sperimentali e l'ANOVA test ha escluso l'esistenza di differenze significative di copertura tra unità dovute ai trattamenti. Differenze significative nella produzione primaria netta, invece, sono state osservate tra gruppi morfo-funzionali già all'inizio dell'esperimento, con valori più elevati per i popolamenti di coralline articolate;

non sono state, invece, registrate differenze iniziali tra unità legate al trattamento. Al contrario, sia ad un anno dall'inizio (T_1) sia alla fine dello studio (T_2), differenze significative tra unità sono state osservate, per entrambe le variabili di risposta, in relazione non solo al gruppo morfo-funzionale ma anche al trattamento (Fig. 1a,b). Relativamente alla produzione primaria, per entrambi i gruppo-morfo-funzionali, i valori più bassi sono stati osservati nelle unità infangate con mucillagine ed i più elevati in assenza dei due *stressor*. Una situazione differente, invece, ha riguardato la copertura. Per le alghe coralline non-articolate, le percentuali di ricoprimento più basse sono state registrate nelle unità infangate senza mucillagine, mentre nelle unità in cui le alghe sono state sottoposte ad entrambi gli stress, le percentuali si sono mantenute più elevate. In presenza di coralline articolate, invece, i valori più bassi sono stati osservati nelle unità infangate con mucillagine (Fig. 1a,b).

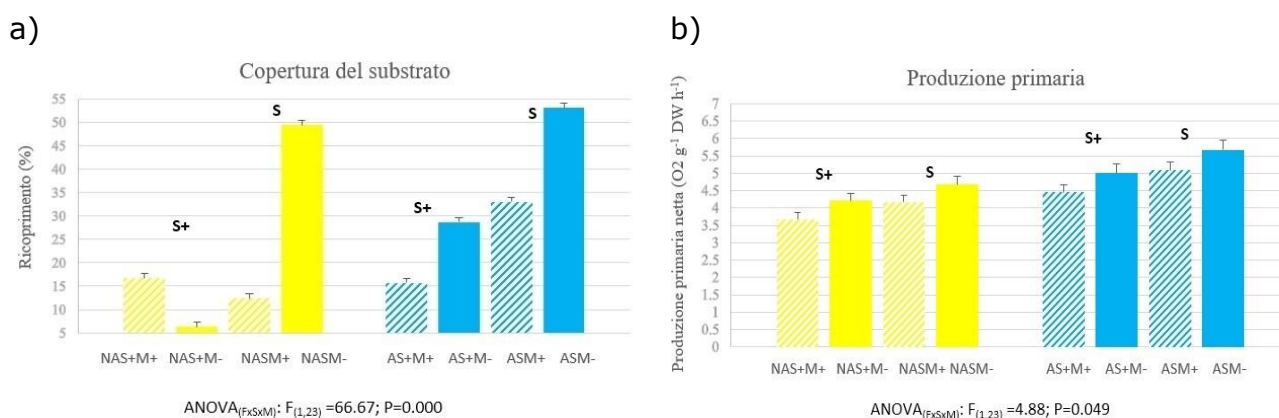


Fig. 1 - Percentuale media (+ES) di ricoprimento del substrato (a) e produzione primaria netta (b) delle alghe coralline in relazione al gruppo morfo-funzionale di appartenenza (NA: non-articolate; A: articolate) ed al trattamento (F: forma; S: sedimento; M: mucillagine) a fine esperimento. I principali risultati delle analisi statistiche sono indicati a fine grafico.

Mean percent cover (+ES) of the substratum (a) and net primary production (b) by coralline algae in relation to the morfo-functional group (NA: non-articulate; A: articulate) and to the treatment (F: form; S: sediment; M: mucilage) at the end of the experiment. The main results of the statistical analysis are reported at the end of the graphs.

Conclusioni - I risultati dello studio forniscono interessanti informazioni sulle risposte dei due principali gruppi morfo-funzionali di alghe coralline agli stress che maggiormente le danneggiano (Figueiredo e Steneck, 2002; Schiaparelli *et al.*, 2007). Nonostante non sia quindi possibile escludere che le differenze osservate siano in parte dovute all'azione di altri *stressor*, poiché le unità sperimentali erano tutte vicine, tali stress avrebbero comunque agito su tutti i popolamenti considerati. Inoltre, essendo i dati riferiti a popolamenti plurispecifici, è ragionevole escludere che il risultato sia viziato dalle caratteristiche e dalla tolleranza allo stress peculiari delle singole specie. Prima di tutto, le significative differenze di produzione primaria osservate tra gruppi morfo-funzionali all'inizio dell'esperimento confermano che le macroalghe incrostanti e formanti *turf* hanno performance minori in termini di produttività rispetto alle specie a tallo eretto. Inoltre, dai risultati ottenuti è emerso che, nonostante, sia le specie non articolate sia quelle articolate siano risultate assai danneggiate dai due *stressor* considerati, che hanno causato una significativa riduzione sia della loro produzione sia della loro sopravvivenza, tra i due gruppi morfo-fisiologici considerati si possano osservare performance diverse. Questi risultati confermano le ipotesi formulate da Norton (1991) per altre macroalghe e suggeriscono l'esistenza di una relazione tra

risposta allo stress e performance anche per le coralline. In particolare, mucillagine ed infangamento sembrano aver avuto un effetto sinergico sulle coralline articolate sia in termini di sopravvivenza sia in termini di produzione primaria. Per le coralline non-articolate, invece, i due *stressor* sembrano aver agito in modo antagonistico e sinergico, rispettivamente per copertura e produzione primaria. A riguardo, il risultato più interessante ed inatteso è apparso l'effetto antagonistico dei due *stressor* sulle coralline non-articolate, per le quali la presenza di mucillagine sembra aver ridotto gli effetti dell'infangamento. Questi dati possono essere in parte spiegati considerando che la mucillagine sul substrato, intrappolando il sedimento, può ridurre la deposizione sulle specie bidimensionali non-articolate, che, una volta terminato il *bloom* potrebbero risentire meno dell'infangamento. Nel complesso, i dati raccolti appaiono importanti soprattutto dal punto di vista gestionale perché forniscono informazioni utili alla conservazione delle alghe coralline, suggerendo che, almeno nelle zone di maggior interesse naturalistico, per individuarne le specifiche minacce alla conservazione ed attuare efficaci misure di tutela, è necessario considerarne il gruppo morfo-funzionale.

Bibliografia

- CAETANO M., VALE C., BEBIANNO M. (2002) - Distribution of Fe, Mn, Cu and Cd in upper sediments and sediment-trap material of Ria Formosa (Portugal). *J. Coastal Res.*, **36**: 118-123.
- CARONNI S., DELARIA M.A., NAVONE A., PANZALIS P., SECHI N., CECCHERELLI G. (2014) - Relevant scales of variability of the benthic allochthonous microalga *Chrysothrix taylorii*. *Mar. Biol.*, **161** (8): 1787-1798.
- DETHIER M.N., GRAHAM E.S., COHEN S., TEAR L.M. (1993) - Visual versus random-point percent cover estimations: 'objective' is not always better. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **96**: 93-100.
- FIGUEIREDO M.A.O., STENECK R.S. (2002) - Floristic and ecological studies of crustose coralline algae on Brazil's Abrolhos reefs. In: Moosa M.K., et al. (eds), *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium*. Bali. 23-27 Oct. 2000. Vol. 1: 493-498.
- JOHANSEN H.W. (1981) - *Coralline algae. A first synthesis*. CRC Press, Boca Raton: 249 pp.
- LIPKIN Y., SILVA P.C. (2002) - Marine algae and seagrasses of the Dahlak Archipelago, southern Red Sea. *Nova Hedwigia*, **75** (1-2): 1-90.
- LITTLER M.M. (1981) - The relationship between thallus form and the primary productivity of seaweeds. In: Fogg G.E., Jones W.E. (eds), *Proceedings of the 8th International Seaweed Symposium*. Bangor, North Wales, 18-23 August 1974: 398-403.
- MARTIN S., GATTUSO J.-P. (2009) - Response of Mediterranean coralline algae to ocean acidification and elevated temperature. *Glob. Change Biol.*, **15** (8): 2089-2100.
- NORTON T.A. (1991) - Conflicting constraints on the form of intertidal algae. *Brit. Phycol. J.*, **26** (3): 203-218.
- SCHIAPARELLI S., CASTELLANO M., POVERO P., SARTONI G., CATTANEO-VIETTI R. (2007) - A benthic mucilage event in North-Western Mediterranean Sea and its possible relationships with the summer 2003 European heatwave: short-term effects on littoral rocky assemblages. *Mar. Ecol.*, **28** (3): 341-353.

E. CASOLI^{1,2}, D. VENTURA^{1,2}, G. MANCINI^{1,2}, A. BELLUSCIO^{1,2}, G.D. ARDIZZONE^{1,2}

¹Dipartimento di Biologia Ambientale, Università di Roma "La Sapienza", Italy.

²CIBM, Consorzio Interuniversitario per il Centro di Biologia Marina ed Ecologia Applicata, Livorno, Italy.
edoardo.casoli@uniroma1.it

RECOVERY OF MARINE ECOSYSTEMS IN THE MEDITERRANEAN: THE CASE OF GIGLIO ISLAND

RECUPERO DI ECOSISTEMI MARINI IN MEDITERRANEO: IL CASO DELL'ISOLA DEL GIGLIO

Abstract - Monitoring, remediation, and restoration phases following the Costa Concordia wreck are here described. The monitoring of the benthic ecosystems' response to multiple human pressures and the assessment of their health status were carried out since 2012. Remediation involved cleaning the seabed from all the pressures directly related to the wreck removal (2015–2018). *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile, 1813, *Eunicella cavolini* (Koch, 1887), *Eunicella singularis* (Esper, 1791), and *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) transplants have followed (2019 - ongoing) the previously mentioned phases to support the natural recovery. A holistic approach, including both passive and active recovery actions proposed by the restoration ecology theory, was applied as a response to an impacted and anthropogenically changed environment with the aim to remove pressures and accelerate the recovery of natural benthic ecosystems.

Key-words: monitoring, remediation, restoration, transplants, human impact.

Introduction - Marine ecosystem recovery interventions are increasingly worldwide to mitigate the negative effects of human activities and address the consequent loss of biodiversity and ecosystem services (Perring *et al.*, 2015). The term recovery refers to the shift of a given system from a degraded or impacted condition, often interpreted as being in poor ecological quality, to a condition shown before the disturbance. Analogous to medical treatment, the return of the system to the original state will be with (active recovery) or without (passive recovery) human intervention (Elliot *et al.*, 2007). The former supposes the natural resilience of communities, whereas active interventions encompass management or restoration actions aimed at improving the condition of the ecosystem with respect to the impacted condition. Often, the ecosystem's restoration is carried out through the transplantation of organisms or the placement of artificial structures. Recently, the number of studies dealing with the transplantation of engineering species in the Mediterranean Sea has increased: *P. oceanica*, *Cystoseira* spp. C. Agardh, 1820, Porifera, Anthozoa, and Bryozoa are the most commonly used organisms (Linares *et al.*, 2008; Baldaconi *et al.*, 2010; Falace *et al.*, 2018; Pagès-Escolà *et al.*, 2020; Piazzini *et al.*, 2021). This work presents the results and defines the conceptual framework implemented during the different phases following the Costa Concordia disaster, to recognize disturbances and facilitate the recovery of benthic ecosystems.

Materials and methods - All the activities here mentioned were carried out along the east coast of Giglio Island, where the Costa Concordia cruise ship sunk on the 13th of January 2012. The interventions covered an area of approximately 16 ha. The activities can be distinguished in 3 temporarily different phases, each of those is propedeutic to the subsequent:

Baseline and monitoring (2012-2014): accurate benthic cartography of the wreckage area represented the first step, followed by continuous monitoring of water physico-chemical features and the assessment of the health status of benthic habitats (*P.*

oceanica meadows and coralligenous reefs) through the application of several indexes, such as PREI, ESCA, and COARSE. ROV and SCUBA diving surveys were carried out to detect the presence of disturbances due to the wreck removal works. Both surveys and samplings were carried out within the working area and in external sites used as a control.

Remediation (2015-2018): this phase aimed at cleaning the seabed from all the pressures and disturbances (*i.e.*, man-made structures, debris, and fine sediments) produced during wreck removal activities;

Restoration (2019–ongoing): this phase encompasses active (shallower than 40 m depth) and passive (deeper than 40 m depth) actions based on the transplantation of engineer species (*P. oceanica* and gorgonians) and monitoring of the habitats' natural recovery, respectively. Naturally and anthropogenically (as a consequence of boat anchoring and artisanal fishery gears) *P. oceanica* cuttings and colonies belonging to 3 gorgonians species were used for transplants.

Results - Baseline and monitoring: *P. oceanica* meadows, algal-dominated infralittoral rock, *Phyllophora crispa* (Hudson) P.S.Dixon turf, and coralligenous reefs characterized the seafloor of the wreckage area. The application of the PREI index showed a decrease in the *P. oceanica* meadows' health status (Fig. 1a) within the wreckage area from 2012 to 2014, especially in the area close to the Costa Concordia bow where the meadow completely disappeared. In proximity of the wreck stern, the index maintained a "sufficient" ecological quality (PREI=0.48). On the contrary, the meadows at the two control sites showed a "good" health status: PREI values ranged from 0.57 to 0.76. The COARSE index, applied for the evaluation of coralligenous reefs, showed a drastic decline from 2012 to 2014 in both bow and stern sectors (Fig. 1b).

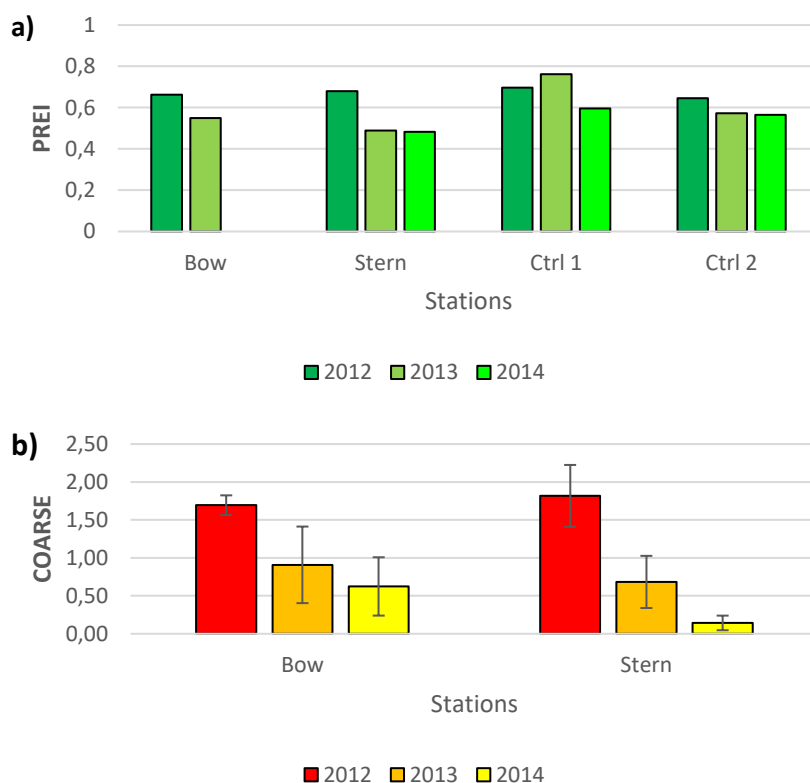


Fig. 1 - a) PREI and b) COARSE indices values measure in 2012, 2013, and 2014.
 Valori degli indici a) PREI e b) COARSE misurati nel 2012, 2013 e 2014.

The mean COARSE values changed from 1.76 ± 0.09 in 2012, to 0.38 ± 0.34 in 2014. The synergic action of several pressures related to the wreck removal works (man-made structures' installation, shading, dispersion of fine sediments, debris release, and the presence of non-indigenous species among which *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) caused a loss of habitats in the proximity of the wreck, from 5 to 75 m depth. This loss was quantified in approximately 8.615 m^2 of *P. oceanica* meadows and 15.884 m^2 of hard bottom communities (algal-dominated communities, *P. crispa* turf, and coralligenous reefs).

Remediation: this was the first active phase of recovery through the removal of the disturbances produced during the wreck removal works. About 58 t of *M. edulis* dead shells, transported as hull fouling through one of the vessels used during the works, were removed. In addition, all the man-made structures and debris were removed from an area of 86.000 m^2 ; a total of 25.000 t of fine sediments were removed from the seafloor using an air-lift pump. Cleaning activities revealed a large portion of dead matte and bare coralligenous reefs representing unique substrates to carry out restoration interventions and test the natural recovery of the benthic communities.

Restoration: to date, *P. oceanica* transplantation activities covered an area of approximately 2048 m^2 , between 10 and 23 m depth. The cuttings show mean survival rate is $\sim 80\%$. After 3 years since the transplantation, the shoot density variation showed a slight increase of $\sim 7\%$ (Fig. 2a). Furthermore, the transplanted *P. oceanica* showed a mean Daily Leaf Production ($\text{cm} \pm \text{SE}$) of $0.154 \pm 0.004 \text{ cm}$, higher than those measured on neighboring natural leaves ($0.130 \pm 0.004 \text{ cm}$). A total of 350 gorgonian colonies belonging to the three above-mentioned species were fixed on coralligenous reefs using a biocompatible epoxy resin. The transplanted gorgonians show survival rates of $\sim 85\%$. Transplanted and natural colonies - used as controls - were monitored and showed similar growth and healing rates: the monthly growth rates of transplanted colonies were seasonally influenced, with peaks measured during the winter season (Fig. 2b). Coralligenous reefs deeper than 40 m depth showed slow recovery rates (passive action). The COARSE index increased since 2019 due to the colonization of encrusting red algae, erect bryozoans, and erect ascidians on the bare surfaces of the reefs: the mean values were 1.12 ± 0.06 in 2019, 1.28 ± 0.23 in 2020, and 1.26 ± 0.27 in 2021.

Conclusions - The combined actions for restoring marine ecosystems at Giglio Island represent a pilot case in the Mediterranean Sea. Each work phase constituted a fundamental piece in the mosaic of the seafloor evolution within the study area. Above all, the cleaning (remediation) of the disturbances was mandatory for following transplants, representing a unique intervention in terms of both extent and accuracy. To date, the survival and growth rates of transplanted organisms support the effectiveness of the active restoration actions. However, habitats' recovery is still far to be addressed, and more time, and further analyses, are needed to assess the impact of transplants on the community resilience processes.

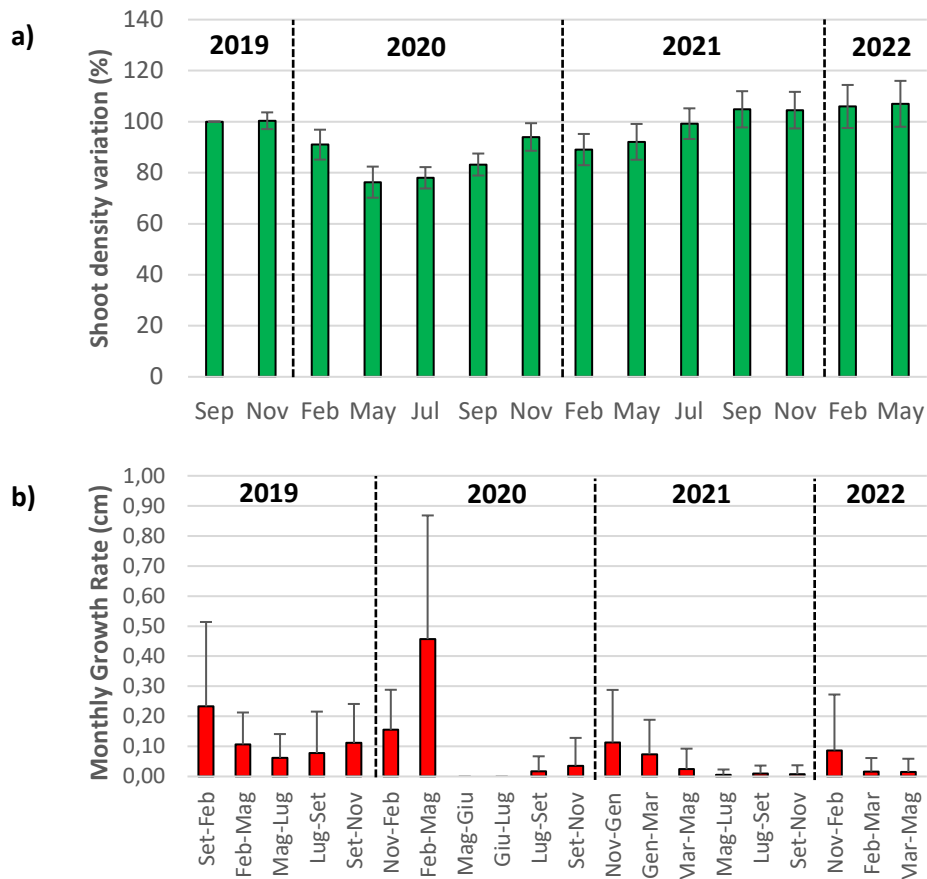


Fig. 2 - a) Shoot density variation (as %) and b) mean monthly growth rate of *P. oceanica* cuttings and gorgonians transplanted in the study area.

a) Variazione % della densità di fasci fogliari e b) crescita media mensile misurati rispettivamente su talee di *P. oceanica* e le gorgonie trapiantate nell'area di studio.

References

- BALDACCONI R., CARDONE F., LONGO C., MERCURIO M., NONNIS MARZANO C., GAINO E., CORRIERO G. (2010) - Transplantation of *Spongia officinalis* L. (Porifera, Demospongiae): a technical approach for restocking this endangered species. *Mar. Ecol.*, **31** (2): 309-317.
- ELLIOTT M., BURDON D., HEMINGWAY K.L., APITZ S.E. (2007) - Estuarine, coastal and marine ecosystem restoration: confusing management and science - A revision of concepts. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **74** (3): 349-366.
- FALACE A., KALEB S., DE LA FUENTE G., ASNAGHI V., CHIANTORE M. (2018) - Ex situ cultivation protocol for *Cystoseira amentacea* var. *stricta* (Fucales, Phaeophyceae) from a restoration perspective. *PLoS ONE*, **13** (2): e0193011.
- LINARES C., COMA R., ZABALA M. (2008) - Restoration of threatened red gorgonian populations: an experimental and modelling approach. *Biol. Conserv.*, **141** (2): 427-437.
- PAGÈS-ESCOLÀ M., LINARES C., GÓMEZ-GRAS D., MEDRANO A., HEREU B. (2020) - Assessing the effectiveness of restoration actions for bryozoans: the case of the Mediterranean *Pentapora fascialis*. *Aquat. Conserv.*, **30** (1): 8-19.
- PERRING M.P., STANDISH R.J., PRICE J.N., CRAIG M.D., ERICKSON T.E., RUTHROF K.X., WHITELEY A.S., VALENTINE L.E., HOBBS R.J. (2015) - Advances in restoration ecology: rising to the challenges of the coming decades. *Ecosphere*, **6** (8): 131.
- PIAZZI L., ACUNTO S., FRAU F., ATZORI F., CINTI M.F., LEONE L., CECCHERELLI G. (2021) - Environmental engineering techniques to restore degraded *Posidonia oceanica* meadows. *Water*, **13** (5): 661.

S. CIRIACO¹, A. FALACE², S. KALEB², M. SEGARICH¹, E. GORDINI³, L. FARESI⁴,
D. BORME³, N. BETTOSO⁴, V. BANDELJ³, F. MALFATTI², T. CIBIC³, P. DEL NEGRO³

¹Shoreline Soc. Coop., Trieste, Italia.

²Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste, Italia.

³Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale – OGS, Trieste, Italia.

⁴ARPA Friuli Venezia Giulia, Trieste, Italia.

pdelnegro@ogs.it

HABITAT BIOGENICI E MESOFOTICI DELL'ALTO ADRIATICO

THE NORTHERN ADRIATIC MESOPHOTIC BIOGENIC HABITATS

Abstract - *The Northern Adriatic Mesophotic Biogenic Habitats (MBHs) are arranged in a complex mosaic of isolated outcrops scattered in 10 to 40 m depth range, in dim light conditions, on a sedimentary seafloor. Since "Trecorala" project (Interreg Italy-Slovenia 2012-2015) until now the Gulf of Trieste sea floor was investigated by Side Scan Sonar and Multibeam echosounder surveys. A scientific underwater SCUBA diver team performed more than 150 dives for visual census and sediment sampling by push-cores handling, in soft and unconsolidated sediment, and by scraping and photography on hard substrates. More than 10 biogenic structures per square km were detected and a total of 573 taxa have been identified, including a relatively high number of macroalgae (191 taxa) considering the biogeographical context and the dispersal of outcrops on muddy-sandy bottoms far from coastal sources of spores and propagules.*

Key-words: *Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea, trezza, tegnue, biogenic outcrops.*

Introduzione - Gli Habitat Biogenici Mesofotici dell'Alto Adriatico (MBH), originati dall'azione costruttiva di organismi calcarei su substrati duri di diversa origine geologica, sono disposti in un complesso mosaico di affioramenti isolati sparsi tra i 10 e i 40 m di profondità, in condizioni crepuscolari, su un fondale sedimentario. La presenza, dal Golfo di Trieste al delta del Po, di questi MBH, localmente chiamati "tegnùe" o "trezze", è nota fin dal XVIII secolo. La loro localizzazione è stata individuata da pescatori attratti dal loro valore alieutico e spaventati dalla loro potenziale minaccia per la pesca a strascico. L'origine degli MBH dell'Alto Adriatico è ancora ampiamente dibattuta. Queste formazioni rocciose sono state inizialmente interpretate come rocce da spiaggia (Newton e Stefanon, 1976), mentre oggi l'ipotesi più accreditata sulla loro genesi è riconducibile a processi di infiltrazione del metano con conseguente cementazione e litificazione dei sedimenti, di origine continentale o marina, costituenti l'attuale fondale (Gordini *et al.*, 2012; Donda *et al.*, 2019; Gordini e Donda, 2020). Il modello considerato prevede la migrazione di gas poco profondi attraverso i sedimenti marini e la precipitazione di carbonato di calcio che funge da cemento all'interno del sedimento, altrimenti sciolto.

Materiali e metodi - Grazie al contributo di progetti come TRECORALA (Interreg Italia-Slovenia 2012-2015) e dei successivi TRETAMARA (Interreg Italia-Slovenia), ADRIREEF e ECOSS (Interreg Italia-Croazia), il fondale del Golfo di Trieste è stato ripetutamente indagato dal punto di vista geomorfologico, ecologico e biologico. Le indagini geofisiche (Multibeam, Singlebeam, Side Scan Sonar e Sub-bottom Profiler CHIRP) effettuate nell'ambito dei progetti citati, hanno permesso una conoscenza più dettagliata delle caratteristiche deposizionali ed erosionali dell'Alto Adriatico. Le indagini ecologiche e biologiche sono state svolte attraverso oltre 150 immersioni per il censimento visivo della fauna ittica, e il campionamento di sedimenti mobili e di substrati duri con l'uso di benne, grattaggi e campionamenti fotografici. Ulteriori indagini sono state condotte grazie all'uso di peschere sperimentali e alla posa di

strumenti sul fondo come i pannelli per il fouling e alcuni collettori per la raccolta delle larve, in particolare di molluschi bivalvi. Alle attività sul fondo sono state inoltre associate tecniche di mappatura e modellizzazione tramite GIS.

Risultati - Gli MBH dell'Alto Adriatico presentano un'ampia gamma di geomorfologie e di dimensioni (1-1000 m²), da forme piane allungate o alte diversi metri, a conglomerati sparsi di piccole rocce. Queste complesse strutture biogeniche contengono aree dominate da alghe, organismi filtratori, perforatori e anche fauna di fondo molle che vive nei sedimenti depositati in cavità e buche. A livello ecologico si ritiene che gli MBH dell'Alto Adriatico abbiano un grado significativo di somiglianza con gli affioramenti coralligeni, per quanto se ne discostino in composizione e struttura complessiva. È stata rilevata la presenza di oltre 10 strutture biogenetiche per km² e sono stati identificati un totale di 573 taxa, comprendenti un numero relativamente elevato di macroalghe (191 taxa), considerando il contesto biogeografico e la lontananza da fonti costiere di spore e propaguli. Sono state segnalate tutte le specie di macroalghe calcaree, riconosciute tra i più importanti biocostruttori coralligeni, anche se alcune con bassa copertura. Tra i 382 taxa macrozoobentonici, i più numerosi sono risultati i molluschi (107 taxa), i policheti (92 taxa), i poriferi (59 taxa) e i crostacei (50 taxa), la maggior parte dei quali sono filtratori (Tab. 1). La comunità ittica associata agli MBH studiati comprende sia specie residenti che migratorie. In totale sono state evidenziate 80 specie di pesci. Tra queste, 3 specie sono incluse nelle liste di protezione (RAC/SPA Ann. III; Berna App. 3; ASPIM Ann. II-III): *Hippocampus guttulatus* Cuvier, 1829, *Sciaena umbra* Linnaeus, 1758 e *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758). La maggior parte delle specie osservate sono bentoniche (38) o necto-bentoniche (33), con un basso numero di specie necto-pelagiche (4) e pelagiche (5); 37 specie hanno affinità con substrati rocciosi, 13 con ghiaia, 16 con sabbia, 6 con fango e 8 sono indipendenti dalla tipologia del fondo. Il fatto che il maggior numero di specie ittiche siano bentoniche e mostrino affinità con substrati rocciosi o ghiaia, suggerisce che tali specie siano residenti nei siti. In particolare, sono state trovate diverse specie di interesse per la pesca professionale. Le specie ittiche più abbondanti osservate sono: *Diplodus annularis* (Linnaeus, 1758), *Monochirus hispidus* Rafinesque, 1814, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758), *Scorpaena notata* Rafinesque, 1810, *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758, *Scorpaena scrofa* Linnaeus, 1758, *Spicara maena* (Linnaeus, 1758), *Symphodus tinca* (Linnaeus, 1758), *Trisopterus minutus* (Linnaeus, 1758) e *Zeugopterus regius* (Bonnaterre, 1788), alcune delle quali sono soggette ad alta pressione di pesca. Le MBH forniscono inoltre rifugio, *nursery* e rappresentano aree di riproduzione per molte specie, fungendo da fonti di ricolonizzazione per le specie bersaglio della pesca come *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798, *Pecten jacobaeus* (Linnaeus, 1758), *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758) e *Scorpaena scrofa* Linnaeus, 1758, tra le altre.

Conclusioni - La variabilità a diverse scale spaziali degli assemblaggi di MBH dell'Adriatico, in relazione all'ambiente abiotico locale, alla distanza dalla costa e alla geomorfologia degli affioramenti, è stata evidenziata sia per le macroalghe che per lo zoobenthos. In particolare è stato dimostrato (Falace *et al.*, 2015) che il gradiente costa-largo gioca un ruolo importante nella strutturazione delle comunità bentoniche in relazione all'influenza dell'acqua dolce costiera, che è il principale apporto di nutrienti nell'Alto Adriatico, e dell'approfondimento della colonna d'acqua nei siti *offshore*, che riduce la sensibilità della popolazione di fondo a certe dinamiche di superficie e rappresenta un *proxy* della luce disponibile, per gli organismi che crescono sugli

affioramenti. L'abbondanza di *turf* algali e spugne incrostanti aumenta con il contenuto di fango e di materia organica dei sedimenti vicini, mentre diminuisce con l'aumentare della distanza dalla costa e con l'aumentare della longitudine e della salinità. La copertura più alta di biocostruttori, in particolare *Lithophyllum incrustans* Philippi, 1837 e *Mesophyllum* spp., si trova sugli affioramenti situati ad una profondità di 23-25 m e ad una distanza di 10 km dalla costa. L'elevata variabilità locale è stata supportata anche da indagini condotte nelle vicinanze di 12 affioramenti con l'obiettivo di valutare l'abbondanza e la struttura della comunità microfitobentonica (composta prevalentemente da diatomee e cianobatteri) in diverse condizioni idrodinamiche (Cibic *et al.*, 2016). Le diatomee bentoniche, insieme a procarioti e cianobatteri, rappresentano i colonizzatori primari di qualsiasi substrato in mare, pertanto influenzano l'insediamento anche delle larve dispersive di molti invertebrati sessili (ad esempio cirripedi e ostriche). Tuttavia, a causa delle loro dimensioni limitate, questi gruppi di organismi sono solitamente trascurati nelle indagini ecologiche incentrate sui biocostruttori. L'inquinamento delle aree costiere e la pesca, ricreativa e commerciale, potrebbero giocare un ruolo chiave nella strutturazione dei popolamenti. In effetti, le immersioni subacquee hanno confermato l'impatto diffuso della pesca e dell'ancoraggio. Le MBH sono inoltre minacciate da danni meccanici legati alla pesca a strascico. Queste pratiche sono particolarmente distruttive a causa dei loro effetti diretti, e aumentano anche la torbidità e i tassi di sedimentazione, che influenzano negativamente la struttura e la composizione dei popolamenti. A causa della loro estensione, della biodiversità e delle implicazioni per la pesca, gli MBH dell'Adriatico sono stati riconosciuti come habitat prioritari per la conservazione. La crescente consapevolezza della vulnerabilità di questi habitat ha consentito di istituire un SIC (Sito di Interesse Comunitario) marino denominato "San Pietro e Bardelli", nomi di due degli affioramenti identificati dal presente lavoro, come meritevoli di protezione. Gli MBH dell'Alto Adriatico rappresentano una rete frammentaria di *hotspot* di biodiversità e, di conseguenza, tutti gli sforzi di conservazione dovrebbero essere indirizzati a preservare l'insieme dei siti tra loro ecologicamente connessi e non soltanto singoli affioramenti. Le attività già avviate dall'OGS con i progetti succitati che si concluderanno nel prossimo futuro, non solo consentiranno di approfondire le conoscenze degli MBH, valutandone lo stato ecologico, ma forniranno anche un quadro più chiaro dei servizi ecosistemici forniti; inoltre grazie ad azioni pilota specifiche, verranno sperimentate nuove tecnologie di indagine per specie considerate "*critically endangered*", come *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758, alcune forme di ripristino ambientale per biocostruttori, come le alghe calcaree o *Cladocora caespitosa* (Linnaeus, 1767), e infine saranno redatte linee guida transnazionali per garantire una gestione efficace di queste preziose risorse e una pianificazione sostenibile dello spazio marittimo.

Tab. 1 - Taxa comuni e abbondanti rinvenuti sugli affioramenti.
Common and abundant taxa found on outcrops.

Macroalgae	<i>Aglaothamnion</i> spp.	Porifera	<i>Suberites domuncula</i>
	<i>Cladophora</i> spp.		<i>Tedania (Tedania) anhelans</i>
	<i>Cryptonemia lomation</i>		<i>Tethya aurantium</i>
	<i>Dasya</i> spp.	Anthozoa	<i>Cereus pedunculatus</i>
	<i>Dictyota dichotoma</i>		<i>Cerianthus membranaceus</i>
	<i>Gracilariopsis longissima</i>		<i>Cornularia cornucopiae</i>
	<i>Halymenia floresii</i>		<i>Epizoanthus</i> spp.
	<i>Halopteris filicina</i>	Mollusca	<i>Arca noae</i>
	<i>Lithophyllum</i> spp.		<i>Bolma rugosa</i>
	<i>Lithothamnion</i> spp.		<i>Calliostoma zizyphinum</i>
	<i>Mesophyllum macrolastum</i>		<i>Haliotis tuberculata</i>
	<i>Nitophyllum punctatum</i>		<i>Hiatella arctica</i>
	<i>Peyssonelia</i> spp.		<i>Ostrea edulis</i>
	<i>Pseudoclorodesmis furcellata</i>	Crustacea	<i>Rocellaria dubia</i>
	<i>Rhodophyllis divaricata</i>		<i>Dromia personata</i>
	<i>Rhodymenia ardissonaei</i>	Echinodermata	<i>Homarus gammarus</i>
	<i>Scinaia complanata</i>		<i>Holothuria (Holothuria) tubulosa</i>
<i>Taonia atomaria</i>	<i>Ocnus planci</i>		
<i>Zanardinia typus</i>	<i>Ophiotrix fragilis</i>		
	<i>Spaeroechinus granularis</i>		
Porifera	<i>Antho (Antho) inconstans</i>	Tunicata	<i>Aplidium</i> spp.
	<i>Aplysina aerophoba</i>		<i>Cystodytes dellechiajei</i>
	<i>Axinella</i> spp.		<i>Microcosmus vulgaris</i>
	<i>Chondrosia reniformis</i>		<i>Phallusia</i> spp.
	<i>Cliona viridis</i>		<i>Polycitor adriaticus</i>
	<i>Dictyonella incisa</i>	Polychaeta	<i>Sabella spallanzanii</i>
	<i>Dysidea</i> spp.		<i>Serpula</i> spp.
	<i>Geodia cydonium</i>		<i>Spirobranchus triqueter</i>
	<i>Ircinia variabilis</i>		
	<i>Sarcotragus spinosulus</i>		

Bibliografia

- CIBIC T., ROGELJA M., QUERIN S., SEGARICH M., DEL NEGRO P. (2016) - Microphytobenthic community development under different hydrodynamic conditions nearby the rocky outcrops of the northern Adriatic Sea. *Biol. Mar. Mediterr.*, **23** (1): 174-177.
- DONDA F., TINIVELLA U., GORDINI E., PANIERI G., VOLPI V., CIVILE D., FORLIN E., FACCHIN L., BURCA M., COVA A., FERRANTE G.M. (2019) - The origin of gas seeps in the Northern Adriatic Sea. *Ital. J. Geosci.*, **138** (2): 171-183.
- FALACE A., KALEB S., CURIEL D., MIOTTI C., GALLI G., QUERIN S., BALLESTEROS E., SOLIDORO C., BANDELJ V. (2015) - Calcareous bio-concretions in the northern Adriatic Sea: habitat types, environmental factors that influence habitat distributions, and predictive modeling. *PLoS ONE*, **10** (11): e0140931.
- GORDINI E., DONDA F. (2020) - Emissioni gassose di metano in Adriatico Settentrionale: quale ruolo nei processi di cementazione dei sedimenti marini? *Mem. Descr. Carta Geol. d'It.*, **105**: 17-24.
- GORDINI E., FALACE A., KALEB S., DONDA F., MAROCCO R., TUNIS G. (2012) - Methane-related carbonate cementation of marine sediments and related macroalgal coralligenous assemblages in the Northern Adriatic Sea. In: Harris P.T., Baker E.K. (eds), *Seafloor geomorphology as benthic habitat. GeoHAB Atlas of seafloor geomorphic features and benthic habitats*. Elsevier: 185-200.
- NEWTON R.S., STEFANON A. (1976) - Primi risultati dell'uso simultaneo in Alto Adriatico di Side-Scan Sonar, sub-bottom profiler ed ecografo. *Mem. Biogeogr. Adriat.*, **9** (Suppl.): 33-60.

S. CIRIACO^{1,2}, M. FANTIN², C. SCRIGNER³, L. FARESI⁴, G. FURFARO⁵, E. TRAINITO⁶,
M. SEGARICH^{1,2}, M. SPOTO¹

¹WWF Area Marina Protetta di Miramare, Trieste, Italia.

²Shoreline Soc. Coop, Trieste, Italia.

³Sistiana Diving, Duino Aurisina (TS), Italia.

⁴ARPA Friuli Venezia Giulia, Trieste, Italia.

⁵Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università del Salento, Lecce, Italia.

⁶Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, Napoli, Italia.

saul@riservamarinamiramare.it

AGGIORNAMENTO DELLA PRESENZA DI "NUDIBRANCHI" NEL GOLFO DI TRIESTE - IL VALORE DELLA CITIZEN SCIENCE

UPDATE ON THE PRESENCE OF "NUDIBRANCHS" IN THE TRIESTE GULF - VALUE OF THE CITIZEN SCIENCE

Abstract - MPAs have always supported research and, through their awareness-raising activities, promoted the conscious use of resources. Citizen Science is one of the tools increasingly used to involve citizens who can directly contribute to increase scientific knowledge. Involvement is all the easier the more interesting the monitoring target is; this is the case of the nudibranchs (Mollusca - Heterobranchia). The Mediterranean nudibranch diversity to date is of about 270 species. The actions of sensitization on the theme of the sea-slugs, have allowed to update the already rich list of Heterobranchia molluscs inhabiting the Gulf of Trieste.

Key-words: nudibranchs, citizen science, Marine Protected Area, Miramare, Trieste Gulf.

Introduzione - Le AMP da sempre favoriscono la ricerca e attraverso le loro attività di sensibilizzazione promuovono l'uso consapevole delle risorse. Tra gli strumenti sempre più spesso utilizzati per il coinvolgimento dei cittadini c'è la *Citizen Science*. La *Citizen Science* è una forma di produzione di conoscenza attraverso la partecipazione attiva dei cittadini. Il coinvolgimento risulta tanto più semplice quanto più è interessante il target del monitoraggio; questo è il caso dei nudibranchi (Mollusca Gastropoda - Heterobranchia - Nudipleura - Nudibranchia). La ricchezza specifica di nudibranchi nel Mediterraneo è valutata ad oggi in circa 270 specie. Le azioni di sensibilizzazione sul tema dei nudibranchi hanno consentito di aggiornare la già ricca lista di molluschi Heterobranchi che vivono nel Golfo di Trieste.

Materiali e metodi - Gli avvistamenti segnalati nel libro "Guida illustrata ai nudibranchi del Golfo di Trieste" (Ciriaco e Poloniato, 2016) sono frutto di una prima collaborazione con il Club Sistiana Diving; il libro fotografico presentato nell'aprile 2017, ha fin da subito stimolato l'interesse dei subacquei più appassionati a cui è stato richiesta la compilazione ed il successivo invio di schede segnaletiche corredate da diversi dati ecologici (*i.e.* data e località di avvistamento, temperatura, profondità) fondamentali per successivi e più dettagliati studi. Il valore dell'immagine, quindi della fotografia subacquea come "dato" scientifico, è una preziosa eredità che già Trinchese (1881) aveva evidenziato: "*I naturalisti che studiarono prima di me l'interessante famiglia delle Aeolididae, o non si curarono di rappresentarle o le rappresentarono in modo rozzo e infedele... Si desiderano in esse quei caratteri di forma e di colore che guidano con sicurezza il naturalista nel riconoscere le specie.*" Le immersioni sono state condotte continuativamente durante tutto l'arco dell'anno e gli esemplari osservati sono stati tutti fotografati *in situ*. Per ogni specie ritenuta di particolare interesse o che necessitava di studi più approfonditi, si è provveduto alla raccolta di due o tre individui

(per specie) che sono stati successivamente fotografati in laboratorio, catalogati e conservati in alcol etilico 96% per possibili futuri lavori molecolari ed anatomici.

Risultati - Il Mediterraneo annovera ad oggi circa 270 species (Trainito e Doneddu, 2014; Furfaro e Mariottini, 2016). Zenetos *et al.* nel 2016 segnalano per il Mar Adriatico 223 specie di nudibranchi. Nel 2017 per il Golfo di Trieste si contavano 74 specie appartenenti a 28 famiglie tra cui le più rappresentative (contenenti almeno 5 specie) erano: Discodorididae (8), Facelinidae (7), Chromodorididae (6) e Pleurobranchidae (6). A seguito delle azioni di coinvolgimento dei club subacquei nel quinquennio 2018-2022 sono state aggiunte ulteriori 35 specie che portano il numero totale a 109 (Tab. 1). Anche il numero delle famiglie rappresentate aumenta da 28 a 32 ed in particolare si aggiungono: Akeridae, Piseinotecidae, Runcinidae e Trinchesiidae. L'aggiunta delle nuove specie incrementa significativamente la rappresentatività di famiglie già note come (i) Discodorididae le cui specie da otto diventano 12. È importante segnalare come alcune delle nuove specie rinvenute siano state avvistate e identificate sulle mitilocolture che, grazie a questo studio, si rivelano essere un habitat importante e potenzialmente molto promettente, anche se artificiale, per lo studio della diversità di questo interessante gruppo di molluschi marini. Proprio negli impianti di mitilicoltura, infatti, sono stati recentemente rinvenuti esemplari che potrebbero rivelarsi olotipi di specie non ancora note alla scienza ed attualmente in fase di studio. Ulteriori rinvenimenti sono stati possibili investigando alcuni supporti in terracotta utilizzati nell'ambito del progetto ROC-POPLife (progetto di restauro di foreste marine a *Cystoseira*). La superficie inferiore di queste strutture è risultata colonizzata da numerosi organismi quali: anellidi, briozoi, plateminti, molluschi bivalvi e naturalmente nudibranchi. Anche in questo caso si tratta di un habitat molto peculiare che ha consentito lo sviluppo di comunità specifiche. Anche per quanto riguarda le acque slovene si è registrato un considerevole aumento delle specie fino ad allora note passando dalle 75 specie rinvenute nel 2015 (Lipej *et al.*, 2015) alle 141 censite nel 2018 (Lipej *et al.*, 2018).

Tab. 1 - Lista degli Heterobranchia registrati in Golfo di Trieste prima del 2017 e tra il 2018-2022.
List of Heterobranchia recorded in the Gulf of Trieste until 2017 and within 2018-2022.

Ordine	Famiglia	Nome Scientifico	Prima del 2017	Tra il 2018-2022
Aplysiida	Akeridae	<i>Akera bullata</i>		x
	Aplysiidae	<i>Aplysia depilans</i>	o	
	Aplysiidae	<i>Aplysia punctata</i>	o	
	Aplysiidae	<i>Bursatella leachii</i>	o	
Cephalaspidea	Haminoeidae	<i>Haminoea exigua</i>		x
	Haminoeidae	<i>Haminoea hydatis</i>		x
	Haminoeidae	<i>Haminoea navicula</i>		x
	Haminoeidae	<i>Haminoea ortei</i>		x
	Aglajidae	<i>Philinopsis depicta</i>	o	
	Haminoeidae	<i>Roxaniella jeffreysi</i>	o	
	Haminoeidae	<i>Weinkauffia turgidula</i>		x
Nudibranchia	Aeolidiidae	<i>Aeolidiella alderi</i>	o	
	Janolidae	<i>Antiopella cristata</i>	o	
	Arminidae	<i>Armina tigrina</i>	o	
	Discodorididae	<i>Baptodoris cinnabarina</i>	o	
	Aeolidiidae	<i>Berghia coerulea</i>	o	
	Aeolidiidae	<i>Berghia verrucicornis</i>	o	
	Calmidae	<i>Calma gobioophaga</i>	o	
	Facelinidae	<i>Caloria elegans</i>	o	
Nudibranchia	Trinchesiidae	<i>Catriona aurantia</i>		x
	Coryphellidae	<i>Coryphella lineata</i>	o	
	Facelinidae	<i>Cratena peregrina</i>	o	

	Polyceridae	<i>Crimora papillata</i>		x
	Cumanotidae	<i>Cumanotus beaumonti</i>	o	
	Dendrodorididae	<i>Dendrodoris grandiflora</i>	o	
	Dendrodorididae	<i>Dendrodoris limbata</i>	o	
	Calycidorididae	<i>Diaphorodoris papillata</i>	o	
	Facelinidae	<i>Dicata odhneri</i>	o	
	Discodorididae	<i>Discodoris rosi</i>	o	
	Discodorididae	<i>Discodoris stellifera</i>	o	
	Dendrodorididae	<i>Doriopsilla areolata</i>	o	
	Dorididae	<i>Doris bertheloti</i>	o	
	Dorididae	<i>Doris pseudoargus</i>	o	
	Dorididae	<i>Doris ocelligera</i>		x
	Dotidae	<i>Doto cervicenigra</i>	o	
	Dotidae	<i>Doto coronata</i>		x
	Dotidae	<i>Doto floridicola</i>	o	
	Dotidae	<i>Doto paulinae</i>		x
	Dotidae	<i>Doto sp.</i>		x
	Flabellinidae	<i>Edmundsella pedata</i>	o	
	Eubbranchidae	<i>Eubbranchus exiguus</i>		x
	Eubbranchidae	<i>Eubbranchus farrani</i>	o	
	Eubbranchidae	<i>Eubbranchus linensis</i>	o	
	Facelinidae	<i>Facelina annulicornis</i>	o	
	Facelinidae	<i>Facelina dubia</i>	o	
	Facelinidae	<i>Facelina fusca</i>		x
	Facelinidae	<i>Facelina rubrovittata</i>		x
	Facelinidae	<i>Facelina vicina</i>	o	
	Facelinidae	<i>Favorinus branchialis</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimare orsinii</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimare picta</i>		x
	Chromodorididae	<i>Felimare tricolor</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimare villafranca</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimida krohni</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimida luteorosea</i>	o	
	Chromodorididae	<i>Felimida purpurea</i>	o	
	Flabellinidae	<i>Flabellina affinis</i>	o	
	Flabellinidae	<i>Flabellina cavolini</i>	o	
	Flabellinidae	<i>Flabellina gabinieri</i>		x
	Flabellinidae	<i>Flabellina ischitana</i>	o	
	Discodorididae	<i>Geitodoris planata</i>		x
	Goniodorididae	<i>Goniodoris castanea</i>	o	
	Discodorididae	<i>Jorunna tomentosa</i>	o	
	Onchidorididae	<i>Atalodoris neapolitana</i>	o	
	Onchidorididae	<i>Atalodoris pictoni</i>		x
	Polyceridae	<i>Limacia inesae</i>	o	
	Myrrhinidae	<i>Nemesignis banyulensis</i>	o	
	Goniodorididae	<i>Okenia elegans</i>	o	
	Discodorididae	<i>Paradoris indecora</i>	o	
	Discodorididae	<i>Peltodoris atromaculata</i>	o	
	Piseinotecidae	<i>Piseinotecus sphaeriferus</i>		x
	Discodorididae	<i>Platydoris argo</i>	o	
	Polyceridae	<i>Polycera hedgpethi</i>	o	
	Polyceridae	<i>Polycera quadrilineata</i>	o	
	Facelinidae	<i>Pruvotfolia pselliotes</i>		x
	Discodorididae	<i>Rostanga rubra</i>	o	
	Aeolidiidae	<i>Spurilla neapolitana</i>	o	
	Discodorididae	<i>Taringa armata</i>		x
	Discodorididae	<i>Tayuva lilacina</i>		x
	Tergipedidae	<i>Tergipes tergipes</i>	o	
	Tethydidae	<i>Tethys fimbria</i>	o	
Nudibranchia	Discodorididae	<i>Thordisa filix</i>		x
	Goniodorididae	<i>Trapania graeffei</i>		x
	Goniodorididae	<i>Trapania lineata</i>	o	

	Goniodorididae	<i>Trapania maculata</i>	o	
	Trinchesiidae	<i>Trinchesia genovae</i>		x
	Trinchesiidae	<i>Trinchesia morrowae</i>		x
	Trinchesiidae	<i>Trinchesia sp.</i>		x
Pleurobranchida	Pleurobranchidae	<i>Berthella stellata albocrossata</i>		x
	Pleurobranchidae	<i>Berthella aurantiaca</i>		x
	Pleurobranchidae	<i>Berthella ocellata</i>	o	
	Pleurobranchidae	<i>Berthella plumula</i>	o	
	Pleurobranchaeidae	<i>Pleurobranchaea meckeli</i>	o	
	Pleurobranchidae	<i>Pleurobranchus membranaceus</i>		x
Runcinida	Runcinidae	<i>Runcina adriatica</i>		x
Sacoglossa	Hermaeidae	<i>Aplysiopsis elegans</i>		x
	Plakobanchidae	<i>Bosellia mimetica</i>	o	
	Plakobanchidae	<i>Elysia margaritae</i>	o	
	Plakobanchidae	<i>Elysia hetta</i>	o	
	Plakobanchidae	<i>Elysia timida</i>	o	
	Plakobanchidae	<i>Elysia viridis</i>		x
	Limapontiidae	<i>Ercolania coerulea</i>	o	
	Limapontiidae	<i>Ercolania viridis</i>	o	
	Hermaeidae	<i>Hermaea bifida</i>	o	
	Hermaeidae	<i>Hermaea variopicta</i>	o	
	Limapontiidae	<i>Placida dendritica</i>		x
	Limapontiidae	<i>Placida verticilata</i>	o	
	Plakobanchidae	<i>Thuridilla hopei</i>	o	
Umbraculida	Tylodiniidae	<i>Tylodina perversa</i>	o	

Conclusioni - Il Golfo di Trieste costituisce solo una piccola parte del Mar Adriatico e la lista delle 109 specie sinora rinvenute non è da considerarsi completa. Come spesso accade, infatti, ad uno sforzo maggiore di ricerca, come quello svolto tra il 2018 ed il 2022 e riportato in questo lavoro, spesso corrisponde anche un aumento delle specie avvistate, trend questo maggiormente amplificato dall'esplorazione mirata di habitat e microhabitat finora scarsamente studiati.

Ringraziamenti: Questo lavoro è dedicato a Barbara Camassa, subacquea appassionata, prematuramente scomparsa nel 2017; senza di lei non sarebbe stata possibile l'edizione del libro *Guida illustrata ai "nudibranchi" del Golfo di Trieste*, che ha dato anche l'avvio al coinvolgimento dei club subacquei nel presente lavoro.

Bibliografia

- CIRIACO S., POLONIATO D. (2016) - *Guida illustrata ai nudibranchi del Golfo di Trieste*. Pandion Edizioni, Roma: 85 pp.
- FURFARO G., MARIOTTINI P. (2016) - Check-list of the Nudibranchs (Mollusca Gastropoda) from the biodiversity hot spot "Scoglio del Corallo" (Argentario promontory, Tuscany). *Biodivers. J.*, **7** (1): 67-78.
- LIPEJ L., MAVRIČ B., TRKOV D. (2015) - First records of two *Cuthona* species (Gastropoda: Nudibranchia) in the Adriatic Sea. *Natura Sloveniae*, **17** (1): 17-24.
- LIPEJ L., TRKOV D., MAVRIČ B. (2018) - *Polži zaškrGARJI slovenskega morja*. Nacionalni inštitut za biologijo, Morska biološka postaja, Piran: 299 pp.
- TRAINITO E., DONEDDU M. (2014) - *Nudibranchi del Mediterraneo*. Il Castello, Cornaredo (MI): 192 pp.
- TRINCHESE S. (1881) - *Aeolididae e famiglie affini del porto di Genova*. Parte Seconda. Tipi del Salviucci, Roma: 142 pp.
- ZENETOS A., MAČIĆ V., JAKLIN A., LIPEJ L., POURSANIDIS D., CATTANEO-VIETTI R., BEQIRAJ S., BETTI F., POLONIATO D., KASHTA L., KATSANEVAKIS S., CROCCETTA F. (2016) - Adriatic 'opisthobranchs' (Gastropoda, Heterobranchia): shedding light on biodiversity issues. *Mar. Ecol.*, **37** (6): 1239-1255.

D. CURIEL¹, A. RISMONDO¹, C. MIOTTI¹, E. CHECCHIN¹, A. PIERINI¹,
E. MOLIN², Z. JAKL³

¹SELC Soc. Coop, Marghera Venezia, Italia.

²Studio Emiliano Molin, Venezia, Italia.

³Sunce (Association for Nature, Environment and Sustainable Development), Split, Croatia.
curiel@selc.it

IL PROGETTO INTERREG ITALIA-CROAZIA SASPAS PER LA SALVAGUARDIA DELLE PRATERIE A FANEROGAME: RISULTATI PRELIMINARI

THE INTERREG PROJECT ITALIA-CROAZIA "SASPAS" TO PRESERVE SEAGRASS MEADOWS: PRELIMINARY RESULTS

Abstract - SASPAS is an "INTERREG programme" project, to enhance the conservation of the Adriatic Sea ecosystem biodiversity, improving marine seagrasses preservation and restoration through the laying of safe anchorage systems and pilot transplantations in three Natura 2000 sites: Gulf of Panzano, Monfalcone (IT), Brindisi Coast in the Regional Natural Park Coastal Dunes (IT) and National Park Kornati (CRO).

Key-words: *Posidonia oceanica*, safe anchorage systems, seagrasses transplantations, Natura 2000 sites.

Introduzione - SASPAS (Safe Anchoring and Seagrass Protection in the Adriatic Sea) è un progetto INTERREG del programma Italia-Croazia (2018-2022), volto a testare, su piccola scala in Adriatico, buone prassi per preservare lo stato di conservazione delle fanerogame marine dall'ancoraggio di imbarcazioni da diporto, anche di modeste dimensioni, nell'ottica di un equilibrio tra fruizione, protezione e conservazione. Il progetto ha previsto azioni pilota, per verificare e misurare l'applicabilità e l'efficacia di sistemi di ancoraggio eco-compatibili e di trapianti di fanerogame marine.

Materiali e metodi - In tre siti della Rete Natura 2000 (Fig. 1), il Golfo di Panzano (Monfalcone), il litorale del Parco Naturale Regionale Dune Costiere tra Torre Canne e Torre San Leonardo (Brindisi) e il Parco Nazionale delle Isole Incoronate (Croazia) è stata eseguita una mappatura delle praterie mediante osservazioni dirette e campionamenti. In ogni sito sono state individuate nove stazioni di controllo ripartite in tre transetti per acquisire una serie di indicatori (Tab. 1) considerando le macrofite, i diversi protocolli di monitoraggio esistenti e le tempistiche del progetto (Buia *et al.*, 2004; UNEP/MAP-RAC/SPA, 2011). Per la classificazione ecologica di *Posidonia oceanica* (L.) Delile sono stati adottati quella *sensu* Water Framework Directive (EC, 2000) divisa in cinque classi (UNEP/MAP-RAC/SPA, 2011) e l'indice di conservazione CI (Montefalcone, 2009); per il Golfo di Panzano, dove è assente *Posidonia oceanica* e si rinvenivano altre fanerogame marine, si è fatto riferimento all'*Ecological Evaluation Index* (EEI-c) (Orfanidis *et al.*, 2011). I due trapianti a *Posidonia oceanica* alle Isole Incoronate eseguiti uno nell'ottobre 2019 (Kravljačica) e uno nell'ottobre 2021 (Levrnaka), hanno previsto ciascuno l'impianto di circa 1.000 talee. Il primo è stato eseguito installando le talee su supporti biodegradabili (Mater-Bi) (Calvo *et al.*, 2014), il secondo su supporti in legno ad alta densità ancorati al fondale. Il trapianto a *P. oceanica* nel litorale brindisino, eseguito nel febbraio 2021, ha previsto l'impianto di circa 1.000 talee su supporti biodegradabili (Mater-Bi). I siti donatori dei tre trapianti si caratterizzavano per praterie continue senza segni visibili di disturbo e bassa

sedimentazione. Sia alle Isole Incoronate, sia nel Parco Dune Costiere, i trapianti sono stati eseguiti su profondità di 10-12 m, ciascuno su un'estensione di circa 200 m.



Fig. 1 - Localizzazione dei tre siti di studio facenti parte della Rete Natura 2000.
Location of the three Natura 2000 project sites.

Nel Golfo di Panzano sono stati eseguiti, nel settembre 2020 e nell'aprile 2021, due trapianti di *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, ciascuno dell'estensione di circa 100 m², utilizzando per entrambi due differenti tecniche manuali. Una mediante la raccolta e la messa a dimora di 100 zolle con sedimento (\varnothing 22 cm e h 30 cm) e una seconda che ha previsto la raccolta di 100 talee successivamente ancorate con graffette. Gli ancoraggi eco-compatibili sono stati predisposti nel Golfo di Panzano e alle Isole Incoronate su profondità rispettivamente dell'ordine di 3-4 m nel primo sito e di circa 10-12 m nel secondo. Nel Golfo di Panzano è stato predisposto un campo di 30 boe, tra loro distanti 40-45 m, esteso per circa 360×85 m, di permanenza stagionale (maggio-settembre) per imbarcazioni non superiori a 12 m, che dista dal porto di Monfalcone e dall'adiacente spiaggia circa 450 m. Per l'ancoraggio è stata usata la tecnica "manta-ray" con la presenza di una piccola boa sommersa per evitare i danni della catena al fondale. Nel Parco Nazionale delle Isole Incoronate, in quattro isole (Kravljacića, Strižnja, Šipnate e Tomasovac), sono state posate un totale di 40 boe, 10 per isola, per imbarcazioni sino a 16 m di lunghezza. L'ancoraggio è avvenuto mediante l'inserimento in profondità, dopo trivellazione con un pontone, di un tondino metallico. Una seconda piccola boa sommersa evita che la corda o la catena danneggino il fondale.

Risultati - La Tab. 1 riporta gli indicatori/indici rilevati in campo. Nel Golfo di Panzano le praterie, presenti sino a -4 m, sono in prevalenza a *Cymodocea nodosa* cui si associano, in praterie miste, *Zostera marina* Linnaeus e *Zostera noltei* Hornemann nei siti più superficiali. Nelle Isole Incoronate, i monitoraggi, condotti nelle baie di due isole dell'arcipelago (Kravljacića e Borovnik), hanno evidenziato la sola presenza di *P. oceanica* fra le fanerogame marine, tra il limite superiore posto a -9/10 m e quello inferiore a -30 m. Sul fondale erano visibili danni da ancoraggio e rifiuti tipici da

frequentazione diportistica (plastica, lattine, ecc.). Nel Parco Dune Costiere, su praterie di *Posidonia oceanica* che si estendono tra -5 e -25 m di profondità, i monitoraggi sono stati condotti a circa 500 m dalla costa, a -8 m, in siti dove è limitata la pressione antropica da ancoraggio di barche di medie dimensioni. Nei tre siti non sono state rilevate specie aliene ma, nel parco delle Isole Incoronate, è stata segnalata la presenza di *Caulerpa cylindracea* Sonder. Per quanto riguarda i trapianti, nei due siti di Monfalcone, oltre il 50% delle zolle risultano in accrescimento mentre, è meno evidente lo sviluppo delle talee per la loro minore resilienza agli eventi meteo-marini (venti di bora). Il trapianto nel Parco Dune Costiere evidenzia un trend positivo per l'attecchimento dei ciuffi installati, ma si segnalano numerose perdite di supporti biodegradabili a causa della pesca amatoriale e degli eventi meteo-marini. Nei due trapianti delle Isole Incoronate si rileva una limitata perdita dei supporti biodegradabili, ma risultano evidenti i segnali di sofferenza dei ciuffi dovuti alla sedimentazione e all'impatto antropico per la sosta delle imbarcazioni. Durante il periodo di esercizio delle boe, sia a Monfalcone che nelle Isole Incoronate, sono state programmate verifiche alla tenuta e manutenzione dell'impianto, alla risposta-gradimento dei diportisti e alle fanerogame marine presso i campi boe o nelle immediate vicinanze.

Tab. 1 - Principali indicatori ed indici considerati.

List of the main indicators and indices.

	Golfo di Panzano	Parco Nazionale delle Isole Incoronate	Parco Naturale Regionale Dune Costiere
Specie	3 fanerogame marine	<i>Posidonia oceanica</i>	<i>Posidonia oceanica</i>
Copertura (%) continua/discontinua	70-80 continua	28-85 continua/discontinua	21-88 continua/discontinua
Matte morte (%)	-	sì	sì
Prof. limite inf. (m) -- Protocollo <i>balises</i>	3-4 -- no	30-35 -- sì	20 -- sì
Tipologia substrato	sabbioso-limoso	sabbioso-limoso	sabbioso
Densità dei ciuffi fogliari (ciuffi/m ²)	437-798 <i>C. nodosa</i> 267-356 <i>Z. marina</i> 1.202-2.800 <i>Z. noltei</i>	83-154 (B. Kravljačica) 203-368 (B. Borovnik)	271-380
Misure morfometriche - lungh. fasci (cm)	12,2-29,2	37,9-61,7	33,9-64,1
Misure morfometriche - n. foglie/fascio	2,7-3,1	5,3-6,8	4,8-6,0
Presenza di <i>bloom</i> algali	no	no	no
N. taxa phyto- zoobenthos	19 phyto - 20 zoo	12 phyto - 27 zoo	8 phyto - 36 zoo
Presenza del bivalve <i>Pinna nobilis</i>	sì	sì	no
Presenza/assenza pressioni sull'habitat	solchi elica/reti da pesca	ancoraggi/rifiuti	segni ancoraggi
Stato Ecologico <i>sensu</i> WFD	-	BAD (Kravljačica) POOR (Borovnik)	POOR
Indice Conservazione (C.I.)	-	POOR (Kravljačica) GOOD (Borovnik)	GOOD-HIGH
Ecological Evaluation Index (EEI-c)	HIGH	-	-

Conclusioni - Le attività avviate confermano come nei siti a *Posidonia oceanica* si rilevi stress da ancoraggio, da pesca o da eventi meteo-marini. Nel sito delle Isole Incoronate, pur caratterizzato da un'elevata naturalità, qualità delle acque, isolamento e scarsa antropizzazione (ridottissimo numero di infrastrutture e residenti), le praterie a *Posidonia oceanica* hanno evidenziato indici ecologici bassi (BAD-POOR). I trapianti, pur facendo registrare un buon attecchimento, sono però contraddistinti da condizioni di stress dovuto al forte regime sedimentario. Nelle praterie del Golfo di Panzano, gli

indici ecologici hanno presentato valori complessivamente elevati (GOOD-HIGH). I trapianti hanno segnato un andamento positivo per quelli a zolle mentre lo sviluppo delle talee è stato ostacolato dalla loro minore resilienza agli eventi meteo-marini (venti di bora). Non sono stati osservati significativi danni da elica. Nel sito del Parco Dune Costiere, le praterie a *Posidonia oceanica* hanno evidenziato indici ecologici bassi (POOR). Il trapianto ha evidenziato un trend positivo per l'attecchimento dei ciuffi installati, ma risente di numerose perdite di supporti biodegradabili a causa della pesca e degli eventi meteo-marini.

Bibliografia

- BUJIA M.C., GAMBI M.C., DAPPIANO M. (2004) - Seagrass systems. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds), Mediterranean marine benthos: a manual of methods for its sampling and study. *Biol. Mar. Mediterr.*, **11** (Suppl. 1): 133-183.
- CALVO S., SCANNAVINO A., LUZZU F., DI MAIDA G., PIRROTTA M., ORESTANO C., PAREDES F., MONTAGNINO F.M., TOMASELLO A. (2014) - Tecnica di reimpianto mediante supporto biodegradabile. In: "Conservazione e gestione della naturalità negli ecosistemi marino-costieri. Il trapianto delle praterie di *Posidonia oceanica*". *Manuali e Linee Guida*, **106**. ISPRA, Roma: 47-51.
- EC (2000) - Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, L. 327: 1-72.
- MONTEFALCONE M. (2009) - Ecosystem health assessment using the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*: a review. *Ecol. Indic.*, **9** (4): 595-604.
- ORFANIDIS S., PANAYOTIDIS P., UGLAND K.I. (2011) - Ecological Evaluation Index continuous formula (EEI-c) application: a step forward for functional groups, the formula and reference condition values. *Mediterr. Mar. Sci.*, **12** (1): 199-231.
- UNEP/MAP-RAC/SPA (2011) - Draft guidelines for the standardization of mapping and monitoring methods of marine Magnoliophyta in the Mediterranean. 10th Meeting of Focal Points for SPAs Marseilles, France, 17-20 May 2011. RAC/SPA Publ., UNEP(DEPI)/MED WG 359/9: 1-59.

A.M. DE BIASI¹, L. PACCIARDI¹, M. PERTUSATI¹, M.F. CINTI¹,
L. PIAZZI², A. PORCHERA³

¹Centro Interuniversitario di Biologia Marina "E. Bacci", Livorno, Italia.

²Dipartimento di Scienze Chimiche, Fisiche, Matematiche e Naturali, Università di Sassari, Italia.

³Area Marina Protetta Secche della Meloria, Parco di Migliarino, San Rossore, Massaciuccoli, Pisa, Italia.
lpiazzii00@gmail.com

MONITORAGGIO E GESTIONE DELL'AREA MARINA PROTETTA DELLE SECHE DELLA MELORIA

MONITORING AND MANAGEMENT OF SECHE DELLA MELORIA MARINE PROTECTED AREA

Abstract - The study aimed at obtaining a bionomic map of the Secche della Meloria Marine Protected Area and at assessing the ecological conditions of the main habitats and assemblages. Results showed a good ecological status of the main assemblages. Moreover, the data obtained allow to propose a new zonation of the MPA related to the conservation of the most sensitive habitats and species.

Key-words: Marine Protected Area, mapping, monitoring, management.

Introduzione - Le Secche della Meloria sono un'ampia piattaforma rocciosa situata a 3 miglia dalla città di Livorno. Studi condotti a partire dagli anni Sessanta del secolo scorso hanno messo in evidenza un elevato valore naturalistico delle secche (Cinelli, 1971; De Biasi *et al.*, 2003) tanto da portare, nel 2014, all'istituzione dell'Area Marina Protetta (AMP). Nel 2018 è stato intrapreso un programma di studio e monitoraggio delle secche con l'obiettivo primario di ottenere la cartografia bionomica e la caratterizzazione ecologica dei principali habitat e popolamenti.

Materiali e metodi - La mappatura bionomica è stata effettuata con ecoscandaglio *multibeam* e *side scan sonar*, coadiuvati dall'utilizzo di telecamere a comando remoto e immersioni SCUBA per le verità a mare. Lo stato ecologico delle praterie di *Posidonia oceanica* (L.) Delile è stato valutato tramite l'indice PREI (Gobert *et al.*, 2009), mentre per il coralligeno e per le pareti dei "catini" (depressioni della *beach rock* sul cui fondo si accumula sedimento organogeno) è stato usato l'indice ESCA (Piazzii *et al.*, 2017). Sono stati inoltre censiti i popolamenti di *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 e la fauna ittica mediante campionamento visivo e quantificate le specie alloctone calcolando l'indice ALEX (Piazzii *et al.*, 2015). Per ogni livello di protezione (A, B, C, non protetto) sono stati campionati tre siti distanti centinaia di metri tra loro. Il numero di repliche variava in base al popolamento studiato. Le colonie di *Cladocora caespitosa* (Linnaeus, 1767) sono state studiate attraverso metodi fotografici e mappatura 3d.

Risultati - *Posidonia oceanica* occupa gran parte dell'area sviluppandosi a tratti su matte, a tratti su substrato eterogeneo di sabbia, bioconcrezione (Fig. 1a) con una densità variabile da pochi fasci/m² a prateria densa. La parte più superficiale intorno alla torre e al faro è costituita da roccia con popolamento algale fotofilo che si estende nella parte orientale della secca interrompendo la prateria. In quest'area si trova la maggiore concentrazione di *Cladocora caespitosa* (Fig. 1b). La porzione orientale degrada su un substrato fangoso alternato a matte morta. Nella parte sud-occidentale la prateria si interrompe su un fondale di sabbie grossolane organogene appartenenti alla biocenosi del detritico costiero con facies a maërl. Sul bordo della secca è ben sviluppato il coralligeno sia di parete che di piattaforma. I "catini" sono diffusamente

presenti dove domina il substrato roccioso. La prateria è risultata ben strutturata con uno stato ecologico elevato in zona A e buono nelle zone B e C (Fig. 2). Il coralligeno ha mostrato uno stato ecologico buono ovunque (Fig. 3a), mentre il popolamento delle pareti dei "catini" è risultato di qualità sufficiente (Fig. 3b). La popolazione di *Pinna nobilis* aveva bassi valori di densità (Fig. 4) ed era costituita principalmente da esemplari di dimensioni medie. In seguito alla moria avvenuta tra il 2018 e il 2019 non sono stati rinvenuti individui vivi della specie. Il popolamento ittico mostra differenze tra la zona A e le altre per una maggiore diversità (Fig. 5) e abbondanza di organismi di specie target. Tra le alghe alloctone, *Caulerpa cylindracea* Sonder era la specie più abbondante su substrato orizzontale dove era assente una *canopy* di macrofite, *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston era abbondante solo sui rizomi di *P. oceanica* e *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R.E. Norris nei popolamenti coralligeni. L'indice ALEX ha mostrato un'elevata qualità in tutta l'area di studio (Fig. 6). La zona A tra 6 e 8 m ospita un'ampia colonia di *Cladocora caespitosa*: le colonie avevano una densità media di $2,5 \pm 0,8 \text{ m}^{-2}$, un diametro medio di $11,47 \pm 1,14 \text{ cm}$ e un'altezza di $8,28 \pm 0,82 \text{ cm}$. La percentuale di necrosi era di $24,1 \pm 5,2$.

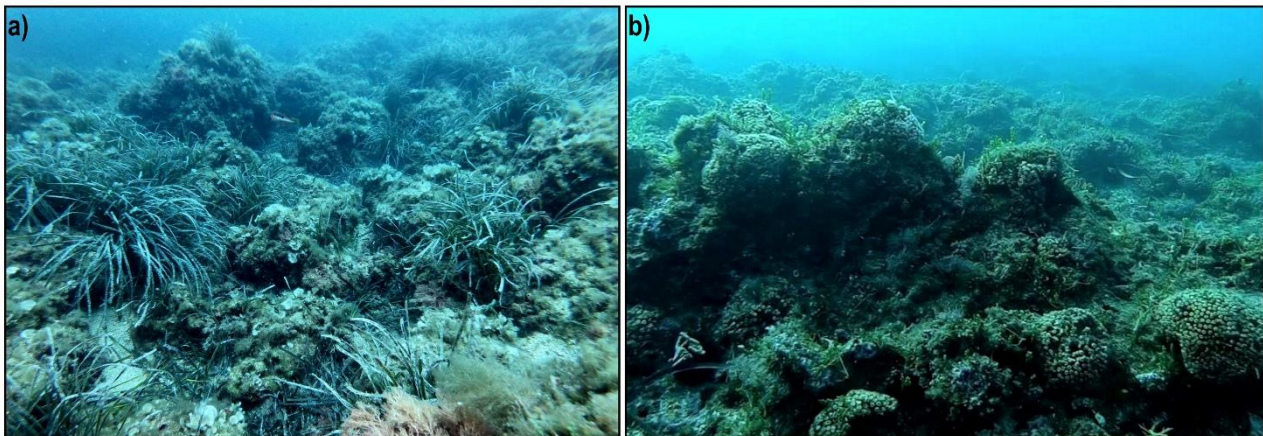


Fig. 1 - a) *P. oceanica* su bioconcrezione; b) popolamento di *C. caespitosa*.
a) *P. oceanica* on biogenic substrate; b) *C. caespitosa* assemblage.

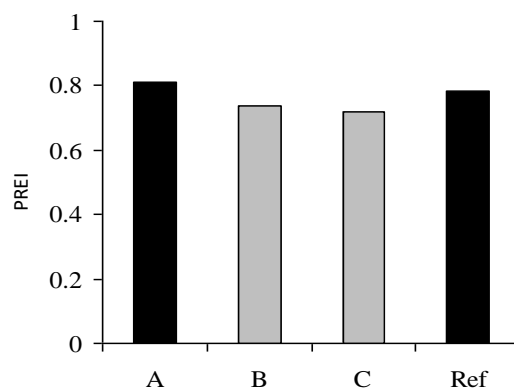


Fig. 2 - Valori dell'indice PREI per *P. oceanica* nelle zone dell'AMP (A, B e C) e in un sito esterno (Ref). Nero: elevato; grigio: buono; bianco: sufficiente.
Values of PREI index on *P. oceanica* beds within AMP zones (A, B and C) and in a site outside AMP boundaries (Ref). Black: high; grey: good; white: moderate.

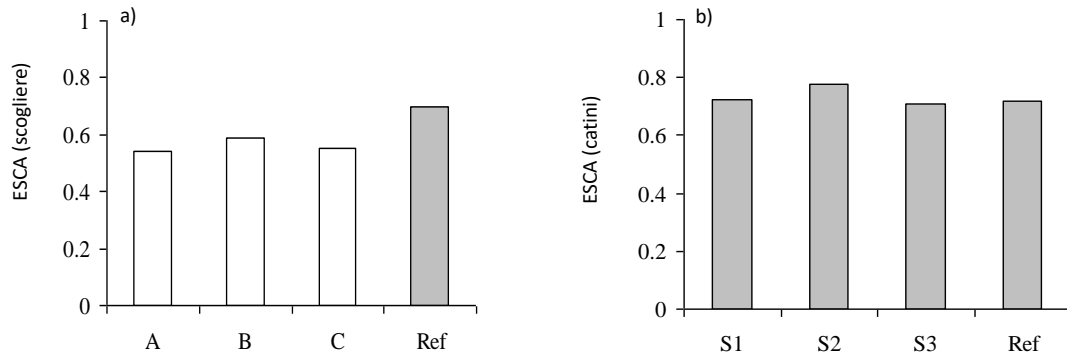


Fig. 3 - Valori dell'indice ESCA per il coralligeno di parete (a) e le pareti dei "catini" (b) nelle zone dell'AMP (A, B e C) e in un sito esterno (Ref). Nero: elevato; grigio: buono; bianco: sufficiente. Values of ESCA index on coralligenous reefs (a) and on "catini" walls (b) within AMP zones (A, B and C) and in a site outside AMP boundaries (Ref). Black: high; grey: good; white: moderate.

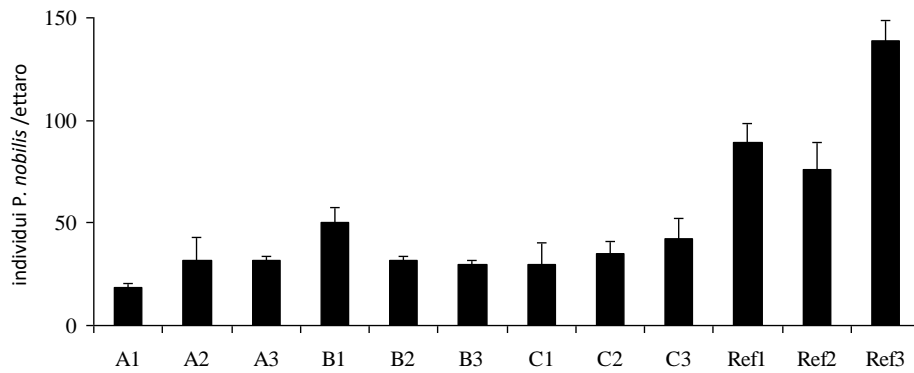


Fig. 4 - Densità di *P. nobilis* nelle zone dell'AMP (A, B e C) e in un sito esterno (Ref). Density of *P. nobilis* within AMP zones (A, B and C) and in a site outside AMP boundaries (Ref).

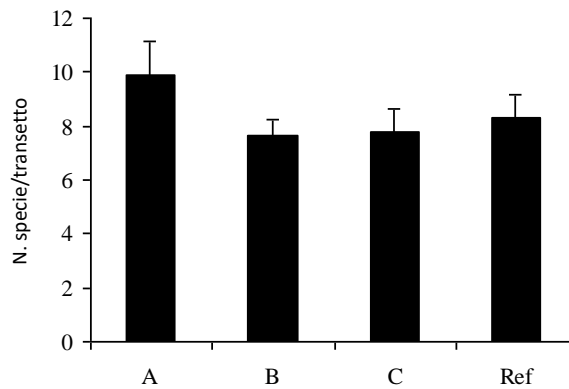


Fig. 5 - Numero medio di specie ittiche per campione nelle zone dell'AMP (A, B e C) e in un sito esterno (Ref). Mean number of fish species per sample within AMP zones (A, B and C) and in a site outside AMP boundaries (Ref).

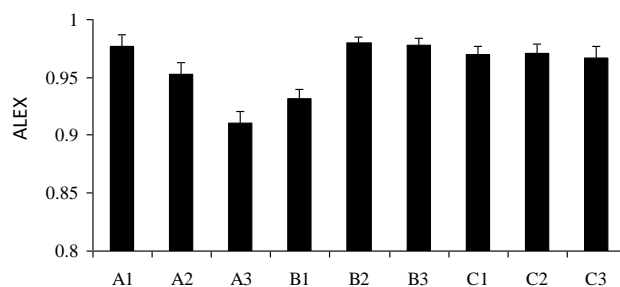


Fig. 6 - Valori dell'indice ALEX nelle zone dell'AMP (A, B e C).
 Values of ALEX index within AMP zones (A, B and C).

Conclusioni - Gli habitat delle Secche sono risultati in buono stato ecologico, sebbene l'evidente impoverimento dei popolamenti rispetto a quanto descritto negli anni '60 del secolo scorso (Cinelli, 1971). I popolamenti dei "catini" e del coralligeno in particolare mostrano un'elevata abbondanza di feltro algale, segno di un disturbo di media intensità, probabilmente legato a sedimentazione/eutrofizzazione (Piazzi *et al.*, 2012). Il popolamento ittico ha mostrato un'abbondanza di specie target inferiore a quella tipica delle aree marine protette (La Mesa e Vacchi, 1999), probabilmente relazionabile al modesto tempo di istituzione dell'AMP insufficiente per ricostituire la struttura tipica di aree non sfruttate. L'invasione di specie aliene è per il momento contenuta, ma il mantenimento di specie costituenti una *canopy* sembra rappresentare l'aspetto principale nella gestione delle specie aliene. La popolazione di *Pinna nobilis* ha subito una forte moria dovuta ad *Haplosporidium pinnae* sp. nov. (Catanese *et al.*, 2018) con effetti ancora da valutare. Il popolamento di *Cladocora caespitosa* rappresenta l'unico caso di scogliera nell'area biogeografica del Tirreno-Mar Ligure, e tra le poche segnalate in Mediterraneo (Kersting e Linares, 2012). I dati raccolti sono di primaria importanza per il calcolo della contabilità ambientale e consentono di riconsiderare la validità della zonazione in base ad una più precisa conoscenza della distribuzione degli habitat e del loro valore ecologico.

Bibliografia

- CATANESE G., GRAU A., VALENCIA J.M., GARCIA-MARCH J.R., VÁZQUEZ-LUIS M., ALVAREZ E., DEUDERO S., DARRIBA S., CARBALLAL M.J., VILLALBA A. (2018) - *Haplosporidium pinnae* sp. nov., a haplosporidan parasite associated with mass mortalities of the fan mussel, *Pinna nobilis*, in the Western Mediterranean Sea. *J. Invertebr. Pathol.*, **157**: 9-24.
- CINELLI F. (1971) - Biologia delle Secche della Meloria (Mar Tirreno). IV. Contributo alla conoscenza della vegetazione bentonica marina (1). *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, **26** (1-2): 5-19.
- DE BIASI A.M., GAI F., PACCIARDI L. (2003) - Benthic assemblage in a "Catino" of the Meloria Shoals (Southern Ligurian Sea). *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. Mem. Serie B.*, **110**: 3-7.
- GOBERT S., SARTORETTO S., RICO-RAIMONDINO V., ANDRAL B., CHERY A., LEJEUNE P., BOISSERY P. (2009) - Assessment of the ecological status of Mediterranean French coastal waters as required by the Water Framework Directive using the *Posidonia oceanica* Rapid Easy Index: PREI. *Mar. Pollut. Bull.*, **58** (11): 1727-1733.
- KERSTING D.-K., LINARES C. (2012) - *Cladocora caespitosa* bioconstructions in the Columbretes Islands Marine Reserve (Spain, NW Mediterranean): distribution, size structure and growth. *Mar. Ecol.*, **33** (4): 427-436.
- LA MESA G., VACCHI M. (1999) - An analysis of the coastal fish assemblage of the Ustica Island Marine Reserve (Mediterranean Sea). *Mar. Ecol.*, **20** (2): 147-165.
- PIAZZI L., GENNARO P., BALATA D. (2012) - Threats to macroalgal coralligenous assemblages in the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **64** (12): 2623-2629.
- PIAZZI L., GENNARO P., CECCHERELLI G. (2015) - Suitability of the ALien Biotic IndEX (ALEX) for assessing invasion of macroalgae across different Mediterranean habitats. *Mar. Pollut. Bull.*, **97** (1-2): 234-240.
- PIAZZI L., GENNARO P., CECCHI E., SERENA F., BIANCHI C.N., MORRI C., MONTEFALCONE M. (2017) - Integration of ESCA index through the use of sessile invertebrates. *Sci. Mar.*, **81** (2): 283-290.

C. FACCA, F. CAVRARO, S. REDOLFI BRISTOL, L. SCAPIN, P. FRANZOI

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica (DAIS),
Università Ca' Foscari di Venezia, Italia.
pfranzoi@unive.it

IMPORTANZA CONSERVAZIONISTICA DELLE BARENE NEL RECLUTAMENTO DEI GIOVANILI DI MUGILIDI

CONSERVATION IMPORTANCE OF SALTMARSHES IN THE RECRUITMENT OF GREY MULLET JUVENILES

Abstract - The role of saltmarsh sub-habitats in favouring Mugilidae recruitment was investigated by measuring parameters that describe the trophic chain in 3 saltmarsh areas of the Venice lagoon from March to June 2019. *Chelon ramada* juveniles, the most abundant Mugilidae species in the present paper, were found to clearly prefer the creeks inside the saltmarsh, while *C. auratus*, *C. saliens* and *C. labrosus* were more abundant on the saltmarsh outer edges. Focusing on their diet preference, the microphytobenthos abundance was estimated and it was demonstrated the higher productivity of the creeks inside the saltmarsh compared to the open outer areas.

Key-words: *Mugilidae*, *microphytobenthos*, *saltmarshes*, *Venice lagoon*.

Introduzione - Le lagune costiere sono ampiamente riconosciute per la loro elevata produttività, soprattutto se confrontate con le aree marine ad esse adiacenti. Molte specie ittiche a riproduzione marina compiono migrazioni periodiche all'interno delle lagune costiere per utilizzare gli habitat lagunari come aree di *nursery* e/o di pascolo e, quindi, sfruttare le abbondanti risorse trofiche presenti in questi sistemi. Tuttavia, in termini di sopravvivenza e di crescita delle specie ittiche migratrici, sono evidenziabili differenze fra lagune e fra differenti habitat all'interno di uno stesso ambiente lagunare (per una sintesi relativa alle lagune costiere mediterranee: Kara e Quignard, 2018). La variabilità idromorfologica tipica dei sistemi lagunari, con l'alternarsi di varie tipologie di habitat (praterie di fanerogame, barene, piane fangose...), determina una struttura spaziale a mosaico che offre alla fauna ittica risorse molto diversificate in termini di rifugio e di disponibilità trofica. Tra le specie migratrici che colonizzano annualmente i bassi fondali delle lagune costiere mediterranee, risultano particolarmente comuni ed abbondanti le specie di Mugilidi del genere *Chelon* (Rossi, 1986; Kara e Quignard, 2018). Questi mugilidi appartengono al gruppo trofico dei detritivori, poiché si cibano delle microalghe, della microfauna e del detrito presenti nello strato superficiale del sedimento (Ferrari e Chierigato, 1981; Franco *et al.*, 2008; Salvarina *et al.*, 2018). In laguna di Venezia, i giovanili di queste specie risultano associati soprattutto agli habitat acquatici di barena e di piana fangosa (Franzoi *et al.*, 2010). Il presente contributo si propone di descrivere il ruolo di alcuni sub-habitat di barena della laguna di Venezia, per alcune specie di mugilidi del genere *Chelon* che reclutano in laguna allo stadio giovanile.

Materiali e metodi - Campioni di acqua, sedimento e popolamento nectonico sono stati raccolti durante 5 campagne di campionamento da marzo a giugno 2019 in 3 barene della laguna settentrionale di Venezia. In ciascuna barena, i campioni sono stati prelevati sia all'esterno di essa (bordo barena), che all'interno, in un canale tidale (ghebo), per evidenziare il diverso ruolo di questi sub-habitat. Temperatura, salinità e torbidità sono state misurate in campo con sonda multiparametrica, mentre le concentrazioni di clorofilla, nitrati, nitriti, solidi sospesi, materia organica nel sedimento

e percentuale di sabbia nel sedimento sono state determinate in laboratorio. L'abbondanza cellulare del microfitobenthos è stata stimata in accordo con Facca e Sfriso (2007), mentre la comunità neotonica è stata campionata con una sciabica da spiaggia a maglia fitta (internodo 2 mm) lunga 10 metri e alta 2 metri nel sacco centrale. Il dataset finale è costituito da un totale di 30 osservazioni, 10 per ogni barena (5 all'interno e 5 all'esterno). L'analisi della varianza ad una via (ANOVA), calcolata usando Excel (Office 365), ha permesso di verificare la significatività delle differenze tra i sub-habitat. La varianza è stata considerata significativa per valori di $p < 0,05$. L'analisi delle ridondanze (software Canoco v. 5) ha dimostrato come i parametri abiotici possano spiegare la variabilità delle variabili biotiche (concentrazione di clorofilla, abbondanza del microfitobenthos, densità delle quattro specie di mugilidi), che, per l'elaborazione, sono state trasformate logaritmicamente.

Risultati - Le catture di giovanili di *Chelon ramada* Risso, 1827 sono state più abbondanti, rispetto a quelle delle altre tre specie studiate (*C. auratus* Risso, 1810, *C. labrosus* Risso, 1827, *C. saliens* Risso, 1810), sia all'interno che all'esterno della barena (Tab. 1). Tuttavia, la densità media di *C. ramada* nei ghebi è stata doppia rispetto a quella ritrovata nel bordo barena (Fig. 1), sebbene la differenza non sia risultata statisticamente significativa (ANOVA $p > 0,05$). Le densità delle altre specie sono risultate molto più basse ma, al contrario di *C. ramada*, i valori sono stati più elevati nei bordi barena rispetto ai ghebi (Tab. 1). Nell'insieme, le densità maggiori di mugilidi sono state registrate a giugno.

Tab. 1 - Valori medi di densità e relative deviazioni standard di *C. ramada*, *C. auratus*, *C. labrosus* e *C. saliens* nell'area esterna (bordo barena) e in quella interna (ghebo) alla barena.

Mean values and standard deviations of *C. ramada*, *C. auratus*, *C. labrosus* and *C. saliens* outside saltmarshes (edge) and inside (tidal creek).

individui per 100 m ²	<i>C. ramada</i>	<i>C. auratus</i>	<i>C. labrosus</i>	<i>C. saliens</i>
Ghebo	22,3±33,6	0,41±1,46	0,03±0,12	0
Bordo barena	9,1±15,2	1,80±4,62	0,29±1,11	0,10±0,25

Il microfitobenthos è risultato composto per il 94% da diatomee, prevalentemente appartenenti alla classe Bacillariophyceae, e per il restante 6% da piccoli flagellati, senza particolari distinzioni di composizione tassonomica dentro e fuori dalle barene. Tuttavia, le abbondanze sono state significativamente maggiori all'interno dei ghebi (ANOVA, $p < 0,05$; Fig. 1). Al contrario, il fitoplancton (concentrazione di clorofilla in acqua), ha mostrato una distribuzione più omogenea, ma con valori leggermente maggiori nel bordo barena (Fig. 1). Entrambe le comunità microalgali sono risultate più abbondanti all'inizio della primavera, ma il fitoplancton ha mostrato un andamento bimodale, con un incremento a giugno. La stagionalità è una delle forzanti che influenzano di più il sistema, essendo ben correlata con l'asse delle ascisse nell'analisi delle ridondanze di Fig. 2 (varianza non vincolata del 67,8%; varianza vincolata 23,1%) e determinando la distribuzione delle repliche in funzione del mese di campionamento (nel piano cartesiano nei quadranti 2° e 3° sono raggruppati i mesi di marzo aprile; e nei quadranti 1° e 4° i mesi tardo primaverili). Lungo l'asse delle ordinate (varianza non vincolata del 21,3%; varianza vincolata 7,3%) è ben netta la separazione tra i siti di bordo barena e di ghebo, che si caratterizzano per una più elevata percentuale di sabbia, una maggiore concentrazione di nutrienti e di microfitobenthos. L'analisi conferma la preferenza di *C. ramada* per i ghebi, a differenza delle altre specie di mugilidi.

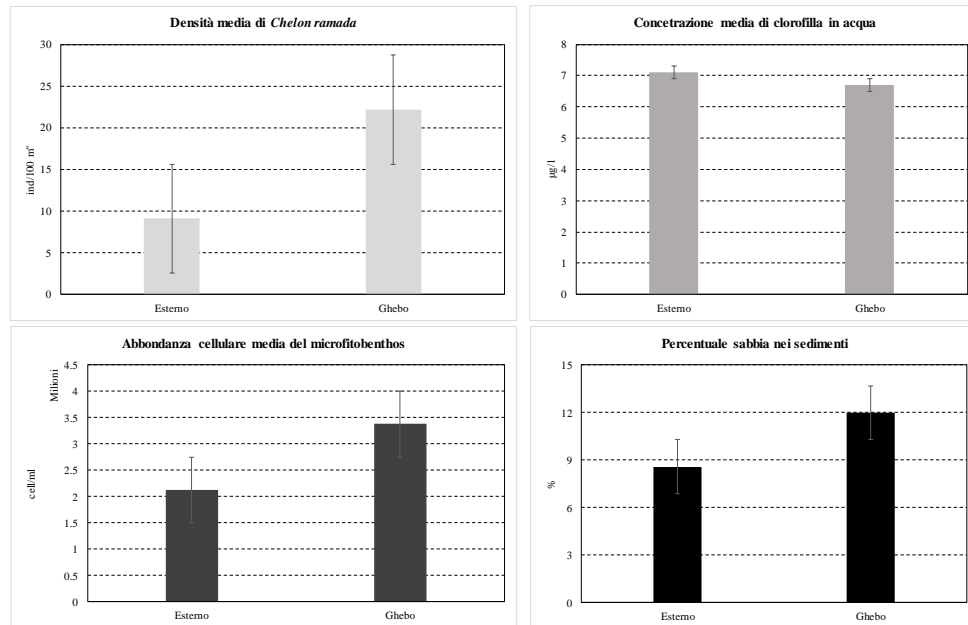


Fig. 2 - Valori medi di densità di *C. ramada*, di fitoplancton, di microfitobenthos e della percentuale di sabbia tra l'area esterna alla barena e quella interna (ghebo). Le barre d'errore indicano l'errore standard. Mean values outside saltmarshes (edge) and inside (tidal creek) for *C. ramada* density, phytoplankton, microphytobenthos and sand percentage. Error bars show standard errors.

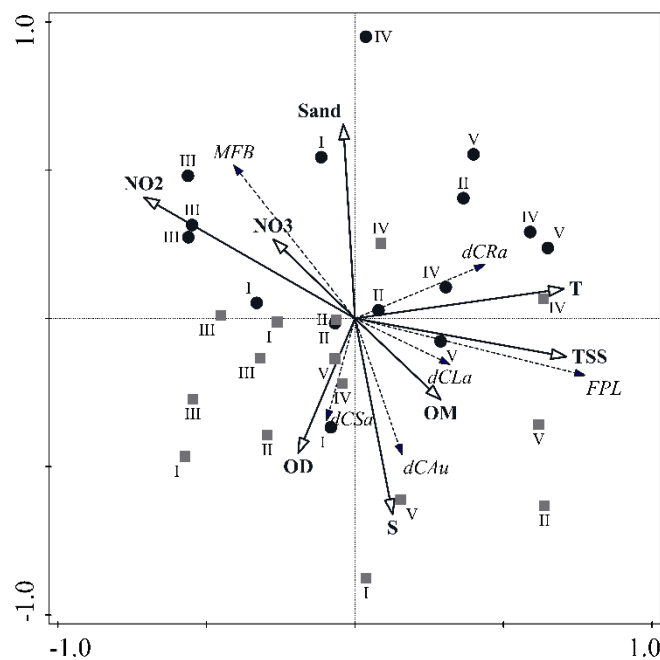


Fig. 3 - Analisi delle ridondanze. Pallini neri: aree di ghebo, Quadrati grigi: bordi barena. T: temperatura, S: salinità, OD: ossigeno disciolto, TSS: solidi sospesi, OM: materia organica, NO2: nitriti, NO3: nitrati, MFB: microfitobenthos, FPL: fitoplancton, dCRa: densità *C. ramada*, dCLa: densità *C. labrosus*, dCAu: densità *C. auratus*, dCSa: densità *C. saliens*. I numeri romani indicano la sequenza delle campagne di campionamento. Redundancy analysis. Black dots: inside saltmarshes ("ghebo"), Grey squares: outside. T: temperature, S: salinity, OD: dissolved oxygen, TSS: suspended solids, OM: organic matter, NO2: nitrites, NO3: nitrates, MFB: microphytobenthos, FPL: phytoplankton, dCRa: *C. ramada* density, dCLa: *C. labrosus* density, dCAu: *C. auratus* density, dCSa: *C. saliens* density. Roman numbers indicate the sampling sequency.

Conclusioni - Le maggiori densità di *C. ramada*, nei ghebi possono essere riconducibili alla più alta disponibilità di risorse trofiche in questo sub-habitat. Le abbondanze nei ghebi di microalghe bentoniche, uno dei principali componenti della dieta dei giovanili di questa specie (Ferrari e Chierogato, 1981; Salvarina *et al.*, 2018), sono risultate, infatti, maggiori di quelle ai bordi barena e, in generale, anche di quelle degli habitat lagunari aperti (Facca e Sfriso, 2007). I ghebi sono strutture capillari, protette dal moto ondoso naturale e antropico, con acque basse e spesso limpide, che permettono lo svilupparsi di un'importante catena trofica a partire dalle diatomee bentoniche, che fioriscono in aree con elevata disponibilità di luce e assenza di fenomeni di risospensione. La perdita e la semplificazione morfologica delle barene è un processo che sta interessando globalmente le lagune costiere, come dimostrato dalle valutazioni fornite dagli Stati membri dell'Unione Europea per cui lo stato di conservazione dell'habitat mediterraneo prioritario "lagune costiere" (Direttiva 92/43/CEE) è attualmente "sfavorevole/cattivo" proprio in conseguenza dell'alterazione delle strutture morfologiche ed idrodinamiche (<https://nature-art17.eionet.europa.eu>). Il processo di erosione sta rappresentando una seria minaccia per il reclutamento dei giovanili, che perderebbero aree rifugio estremamente più produttive della laguna aperta.

Bibliografia

- FACCA C., SFRISO A. (2007) – Epipelagic diatom spatial and temporal distribution and relationship with the main environmental parameters in coastal waters. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, **75** (1-2): 35-49.
- FERRARI I., CHIEREGATO 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** (2-3): 243-257.
- FRANCO A., ELLIOTT M., FRANZOI P., TORRICELLI P. (2008) - Life strategies of fishes in European estuaries: the functional guild approach. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **354**: 219-228.
- FRANZOI P., FRANCO A., TORRICELLI P. (2010) – Fish assemblage diversity and dynamics in the Venice lagoon. *Rend. Lincei Sci. Fis.*, **21** (3): 269-281.
- KARA M.H., QUIGNARD J.-P. (2018) - *Fishes in lagoons and estuaries in the Mediterranean 1: Diversity, bioecology and exploitation*. ISTE Ltd, London: 265 pp.
- ROSSI R (1986) - Occurrence, abundance and growth of fish fry in Scardovari Bay, a nursery ground of the Po River Delta (Italy). *Arch. Oceanol. Limnol.*, **20**: 259-280.
- SALVARINA I., KOUTRAKIS E., LEONARDOS I. (2018) – Comparative study of feeding behaviour of five Mugilidae species juveniles from two estuarine systems in the North Aegean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **98** (2): 283-297.

Attività scientifica effettuata con il contributo del Provveditorato Interregionale Opere Pubbliche per il Veneto, Trentino-Alto Adige e Friuli-Venezia Giulia erogato attraverso il Concessionario Consorzio Venezia Nuova e coordinata dal CORILA.

M.P. FERRANTI¹, J. GUALLART², V. ASNAGHI¹, M. CHIANTORE¹¹Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Università di Genova, Italy.²Laboratorio di Biologia Marina, Dip. di Zoologia, Università di Valencia, Spain.
mariapaola.ferranti@edu.unige.it

**UPDATE ON THE CURRENT DISTRIBUTION
OF *PATELLA FERRUGINEA* GMELIN, 1791 (MOLLUSCA, GASTROPODA)
ALONG THE ITALIAN COASTS**

**AGGIORNAMENTO SULL'ATTUALE DISTRIBUZIONE
DI *PATELLA FERRUGINEA* GMELIN, 1791 (MOLLUSCA, GASTROPODA)
LUNGO LE COSTE ITALIANE**

Abstract - The ferruginous limpet is endemic of the Western Mediterranean Sea, where is considered the most threatened invertebrate species and is addressed by national and international conservation measures. The knowledge of its current distribution is an essential information for its management. *Patella ferruginea* was considered almost completely extinct along the Italian continental coasts. A comprehensive review of its current distribution along the Italian coasts according to published information, personal communications and authors unpublished data is presented here, reporting new records fostered by an increasing public awareness on the species. The synthesis presented here can also be useful to debate about the natural dispersal ability of the species and for enforcement of conservation measures.

Key-words: distribution, ferruginous limpet, Italian coasts, *Patella ferruginea*.

Introduction - The ferruginous limpet is endemic of the Western Mediterranean Sea (Fig. 1), where it is considered the most threatened invertebrate and is included in different national and international convention (CEE Habitat Directive 92/43-Annex IV; Berna Convention-Annex II; Barcelona Convention-Annex II; Spanish Catalog of Endangered Species; French decree of 26 November 1992).



Fig. 1 - *P. ferruginea* specimen.

Esemplare di P. ferruginea.

Patella ferruginea populations were largely distributed until the 19th century (Laborel-Deguen and Laborel, 1991) and slowly confined into small populations in few restricted areas due to human harvesting for food and baits (Espinosa *et al.*, 2009).

Consequently, the species was considered almost completely extinct along the Italian continental mainland (Espinosa *et al.*, 2014) and most of the specimens were found in some areas of Sardinia (Casu *et al.*, 2011). A comprehensive review of its current distribution along the Italian coasts (both continental and along its numerous small islands) is presented here, updating previously published information, reporting new records fostered by an increasing public awareness on the species. Such information is fundamental not only for the assessment of species occurrence but also for the eventual planning of restocking actions of the species, such as for the RELIFE project (LIFE15 NAT/IT/000771) that supported this data collection, in order to select most suitable sites where restocking is more likely to be effective.

Materials and methods - A map of the distribution of this species along the Italian coasts has been created, reporting both the data found in the literature and recent records. Circles of increasing size were used to indicate isolated specimens and different ranges of number of specimens (isolated specimens, 20-50, 50-500, 500-2000, >2000) observed. Additionally, we reported on the map also the locations specifically investigated for *P. ferruginea* presence but where the species was not found (indicated with a yellow X symbol). For completeness, we also report information about the populations present in other neighbor Mediterranean countries (indicated with circles with countour only and X in black).

Results - The available information shows an extremely fragmented distribution of *P. ferruginea* along the Italian coasts (Fig. 2). In most of the localities where the species is reported only isolated specimens or groups in the order of tens of limpets are found, which therefore represent populations which cannot self-sustain (Luque *et al.*, 2018). The healthiest populations are in North Sardinia, in particular in Tavolara Punta Coda Cavallo and Asinara MPAs (Casu *et al.*, 2011; Luque *et al.*, 2018). It is remarkable the presence in several locations of the Ligurian Sea (Ferranti *et al.*, 2019), where *P. ferruginea* was believed almost extinct (Asnaghi and Mangialajo, 2006 pers. obs.) or extinct (Espinosa *et al.*, 2014; Luque *et al.*, 2018). In addition to the findings reported in Ferranti *et al.* (2019), thanks to further monitoring performed between 2019 and 2022, in particular in Portofino and Cinque Terre MPAs, additional 45 specimens of *P. ferruginea* were found, reporting a total of 77 specimens along the Ligurian coast. Conversely, its presence in the Tyrrhenian Sea seems more limited: in fact in most of the islands of the Tyrrhenian Sea it seems that no specimens of *P. ferruginea* have been found (Espinosa *et al.*, 2014). Important records have been made available also thanks to surveys conducted by Regional Agencies for Environmental Protection (ARPAs) in the framework of the Marine Strategy implementation.

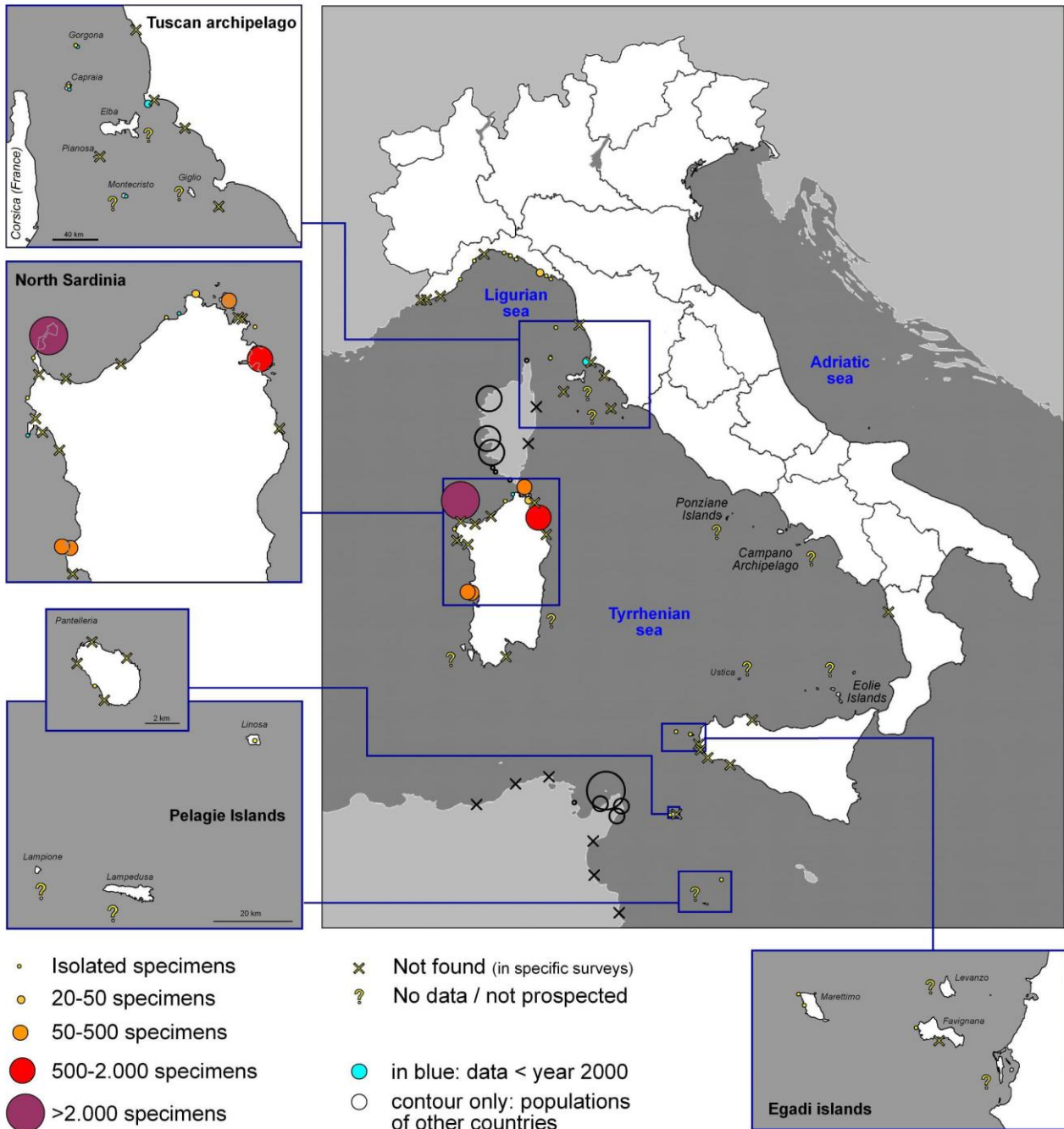


Fig. 2 - Present known distribution of *P. ferruginea* along Italian coasts.
Distribuzione attuale di P. ferruginea lungo le coste italiane.

Conclusions - The presence of isolated specimens, far from supposedly viable populations, provides information about the dispersal capacity of the species, that was considered very low, suggesting that it is actually larger than previously thought. This hypothesis is supported by the results obtained from the study of artificial reproduction and larval breeding conducted in the laboratory by Ferranti *et al.* (2022). In this study, the duration of the swimming larval phase was observed to range between 7 and 32 day post fertilization (up to even 40), making possible exchanges between the distant populations, as the larvae could cover larger distances than expected. Consequently, on the basis of the greater larval dispersal capacity, it would be useful to understand the causes for which the distribution of this species along the

Tuscan coasts and in the neighboring areas is very rarefied, despite the presence of populations in good condition in N-E Sardinia (e.g. Tavolara MPA). The same observation can be made for the situation along the coasts of western Sicily (Espinosa *et al.*, 2014 and some personal communications), where the species is extremely rare despite the presence of conspicuous populations located along the north-eastern coast of Africa (e.g. Zembra Island, Zarrouk *et al.*, 2016), probably because of actual lack of ecological connectivity and/or lack of proper investigations, that undelooked the presence of the species along these coasts. In fact, there are still many areas to be surveyed along the Italian coasts, in particular several small islands where potentially the species could be present. For this reason, it is important to continue to monitor the Italian coasts and understand the reason for this distribution, also in relation to future repopulation actions of *P. ferruginea*. Moreover, increased awareness on conservation issues of the species thanks to implementation of the Marine Strategy requirements and research projects (e.g. RELIFE: LIFE15 NAT/IT/000771) enables to better understand the actual conservation state of the species, its natural dispersal ability also in light of enforcement of conservation measures.

References

- CASU M., RIVERA-INGRAHAM G.A., COSSU P., LAI T., SANNA D., DEDOLA G.L., SUSSARELLU R., SELLA G., CRISTO B., CURINI-GALLETTI M., GARCÍA-GÓMEZ J.C., ESPINOSA F. (2011) - Patterns of spatial genetic structuring in the endangered limpet *Patella ferruginea*: implications for the conservation of a Mediterranean endemic. *Genetica*, **139** (10): 1293-1308.
- ESPINOSA F., RIVERA-INGRAHAM G.A., FA D., GARCÍA-GÓMEZ J.C. (2009) - Effect of human pressure on population size structures of the endangered ferruginean limpet: toward future management measures. *J. Coastal Res.*, **25** (4): 857-863.
- ESPINOSA F., RIVERA-INGRAHAM G.A., MAESTRE M., GONZÁLEZ A.R., BAZAIRI H., GARCÍA-GÓMEZ J.C. (2014) - Updated global distribution of the threatened marine limpet *Patella ferruginea* (Gastropoda: Patellidae): an example of biodiversity loss in the Mediterranean. *Oryx*, **48** (2): 266-275.
- FERRANTI M.P., GUALLART J., FANCIULLI G., PANZALIS P., CHIANTORE M. (2022) - Advancements towards restoration of the endangered limpet *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 through controlled reproduction. *Aquac. Res.*, **53** (3): 782-798.
- FERRANTI M.P., MONTEGGIA D., ASNAGHI V., DAGNINO A., GAINO F., MORETTO P., PARODI V., TIXI L., CAPPANERA V., VALERANI C., BAVA S., CHIANTORE M. (2019) - Distribution of the Mediterranean ribbed limpet *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 along the Ligurian coast and implications for conservation actions. *Mediterr. Mar. Sci.*, **20** (3): 496-501.
- LABOREL-DEGUEN F., LABOREL J. (1991) - Statut de *Patella ferruginea* Gmelin en Méditerranée. In: Boudouresque C.-F., Avon M., Gravez V. (eds), *Les espèces marines à protéger en Méditerranée*. GIS Posidonie Publ., Marseille: 91-103.
- LUQUE A.A., GUALLART J., TEMPLADO J., POLA M. (2018) - *Recopilación y análisis de la información científica disponible sobre Patella ferruginea*. Sociedad Española de Malacología, Madrid: 250 pp.
- ZARROUK A., ROMDHANE M.S., ESPINOSA F. (2016) - Usefulness of marine protected areas as tools for preserving the highly endangered limpet, *Patella ferruginea*, in the Mediterranean Sea. *Mar. Biol. Res.*, **12** (9): 917-931.

F. FRAU¹, S. ACUNTO², F. ATZORI¹, M.F. CINTI¹¹Area Marina Protetta Capo Carbonara, Villasimius (CA), Italia.²Marea Studio Associato, Cecina (LI), Italia.

frafrau81@gmail.com

**RIPRISTINO DELLA PRATERIA DI *POSIDONIA OCEANICA*
MEDIANTE TECNICHE DI INGEGNERIA NATURALISTICA
NELL'AREA MARINA PROTETTA CAPO CARBONARA (SUD SARDEGNA)**

**RESTORATION OF THE *POSIDONIA OCEANICA* MEADOW
THROUGH NATURALISTIC ENGINEERING TECHNIQUES
IN THE CAPO CARBONARA MARINE PROTECTED AREA (SOUTH SARDINIA)**

Abstract - The meadows constituted by the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile are considered one of the most important habitats of the Mediterranean coastal systems. In the Marine Protected Area Capo Carbonara, Villasimius (Sardinia), the seabed is characterized by a dense *P. oceanica* meadow within which dead matte areas have been identified. Within the Life+ RESMARIS project (LIFE13 NAT/IT/000433 Recovering Endangered habitats in the Capo Carbonara MARIne area, Sardinia), one of the objectives was to favour the *P. oceanica* meadow restoration by intervening with naturalistic engineering techniques and using exclusively naturally detached plants collected in neighbouring areas. Positive results both for the effectiveness of the chosen substrate and for the survival rate of the transplanted plants after 48 months from their planting have been obtained.

Key-words: habitat restoration, *Posidonia oceanica*, naturalistic engineering techniques, Marine Protected Areas, Sardinia.

Introduzione - In questi ultimi anni, la riforestazione di praterie di fanerogame marine è divenuta un'azione fondamentale nell'ambito di progetti di conservazione e ripristino ambientale (Paulo *et al.*, 2019). In Mediterraneo il trapianto di *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813, viene effettuato fin dagli anni '80 del secolo scorso a scopo di sperimentazione, ripristino e come misura di compensazione di opere a mare (Bacci *et al.*, 2014; Bacci e La Porta, 2022). Mantenere l'integrità delle praterie di *P. oceanica* costituisce un indiscutibile strumento di protezione per il sistema marino costiero. Il valore ambientale di questo habitat può diminuire per cause legate alla sua frammentazione (diminuzione della copertura) e omogeneizzazione (riduzione della biodiversità). Nell'ambito del progetto Life+ RESMARIS (LIFE13 NAT/IT/000433 Recovering Endangered habitats in the Capo Carbonara MARIne area, Sardinia), uno degli obiettivi era quello di favorire il ripristino di alcune porzioni della prateria di *P. oceanica* presente all'interno dell'Area Marina Protetta Capo Carbonara, Villasimius (Sardegna). Dopo le indagini preliminari (Acunto *et al.*, 2017), è stato individuato il sito di intervento caratterizzato da porzioni sufficientemente ampie a *matte* morta dove è stato deciso di intervenire con un progetto di riforestazione per favorire il processo di ricolonizzazione e ripristino della continuità della prateria. Come suggerito in precedenti studi, la scelta delle strutture da utilizzare per l'ancoraggio delle talee, del substrato di impianto e della profondità dell'intervento sono elementi cruciali per la riuscita di un trapianto (Bacci *et al.*, 2014). È stato deciso di eseguire l'azione di ripristino mediante tecniche di ingegneria naturalistica già precedentemente testate (Cinelli *et al.*, 2007; Bacci *et al.*, 2014) ma utilizzando, per la prima volta direttamente in mare, esclusivamente talee già eradiccate per fenomeni naturali (es. mareggiate). Tale scelta, come sperimentato e suggerito da Balestri *et al.* (2011), può rappresentare un'alternativa non distruttiva al prelievo di talee da praterie donatrici ed è stata ritenuta

particolarmente adatta per gli obiettivi del progetto tenendo conto delle finalità del trapianto all'interno di un'Area Marina Protetta.

Materiali e metodi - Il sito interessato dal trapianto è situato al largo della spiaggia di Campulongu, grande baia ad ovest del promontorio di Capo Carbonara, Villasimius (Sardegna, Italia), all'interno dell'Area Marina Protetta. Il fondale è caratterizzato da una prateria densa di *Posidonia oceanica* all'interno della quale sono state selezionate due aree a *matte* morta che interrompevano in modo innaturale la continuità della prateria e dove, per questo motivo, è stato deciso di intervenire. Queste due aree si sviluppano su una superficie totale di circa 1.000 m² ad una profondità compresa tra 15 e 20 m. La scelta del "substrato di crescita" delle talee è ricaduta sulle geostuoie "Maccaferri MacMat®" già precedentemente sperimentate e ritenute idonee all'utilizzo su *matte* (Cinelli *et al.*, 2007; Bacci *et al.*, 2014). Per il ripristino delle due aree sono state utilizzate esclusivamente talee di *P. oceanica* già eradiccate e selezionate prediligendo quelle con rizoma plagiotropo. La raccolta è stata eseguita ad una profondità di circa 20 m in zone di accumulo limitrofe alle aree di intervento. Le talee sono state portate in superficie, mantenute idratate all'interno di vasche, selezionate e preparate per essere messe a dimora dopo poche ore. La prima sessione di ripopolamento è stata eseguita a settembre 2016 con la composizione di *patches* da 20 talee/m², per un totale di 20.000 talee reimpiantate, distribuite su un totale di 40 geostuoie. Tra maggio e giugno 2017 è stato condotto un primo monitoraggio per verificare il tasso di sopravvivenza delle talee e la tenuta delle geostuoie. Contemporaneamente, è stata eseguita una seconda sessione di ripopolamento per il rafforzamento della densità fino a 30 talee/m², portando quindi il numero di talee reimpiantate a 30.000. Nel mese di settembre 2017, allo scopo di valutare la vitalità delle talee messe a dimora, è stato calcolato il tasso di sopravvivenza su un campione di 3 *patches* per ciascuna delle 40 stuoie ed è stato eseguito uno studio fenologico su un campione di 20 talee prelevate con campionamento casuale. I monitoraggi successivi alla seconda sessione di ripopolamento sono stati eseguiti a maggio 2018, luglio 2019, giugno 2020 e ottobre 2021. È stata sempre valutata la percentuale di substrato colonizzato dalle talee di *P. oceanica* (n° di *patches* di ricolonizzazione presenti rispetto al numero inizialmente messo a dimora) e la percentuale di sopravvivenza delle talee mediante conteggio di quelle sopravvissute nelle singole *patches*. A partire dal 2019 è stata calcolata la densità media dei fasci per *patch*, equivalente alla densità per metro quadrato.

Risultati - Nel corso del monitoraggio di maggio 2017, tutte le geostuoie e tutti i nuclei di ricolonizzazione risultavano *in situ* e la percentuale totale di sopravvivenza è risultata del 63,05%. A settembre 2017, dopo 12 mesi dal posizionamento delle geostuoie e 4 mesi dalla seconda sessione di ripopolamento (30 talee/*patch*) tutte le geostuoie apparivano integre e tutte le *patches in situ* con una densità media di 25,45±1,63 talee/*patch* e con un tasso di sopravvivenza dell'84,83%. Per quanto concerne la vitalità delle piante, l'analisi fenologica eseguita sulle talee campionate (n=20) (Fig. 1a,b) ha evidenziato la presenza di foglie giovanili (1,9±0,7 foglie per fascio), sicuramente nate nel periodo successivo al momento del trapianto, e nel 65% dei casi è stato osservato un apparato radicale ben sviluppato. Anche a distanza di 20 mesi (maggio 2018) tutte le geostuoie apparivano integre e con evidenti segni di rinaturalizzazione; tutte le *patches* erano *in situ* e la percentuale totale di sopravvivenza (considerando insieme entrambe le aree) risultava pari al 63,5%, in linea con il risultato

del primo monitoraggio (settembre 2016 – maggio 2017). Dopo 48 mesi dalla seconda sessione di ripopolamento, 6 delle geostuoie di una delle due aree sono risultate perse a causa sia di condizioni meteo marine sfavorevoli, sia degli ancoraggi, per un successo di ricolonizzazione pari a 85%. Le geostuoie dell'altra area hanno mostrato un ottimo stato di conservazione, un ancoraggio ancora efficace ed evidenti segnali di rinaturalizzazione, con una percentuale totale di sopravvivenza pari a 43,6% ed una media di $13,1 \pm 2,5$ talee/patch (Fig. 2). La densità dei fasci è passata da $25,8 \pm 4,1$ fasci/m² nel 2019 a $19,3 \pm 3,7$ fasci/m² nel 2021 (Fig. 3).



Fig. 1 - a) e b) Caratterizzazione fenologica delle talee a distanza di un anno dalla loro piantumazione.
a) and b) Phenological characterization of plants one year after their replanting.

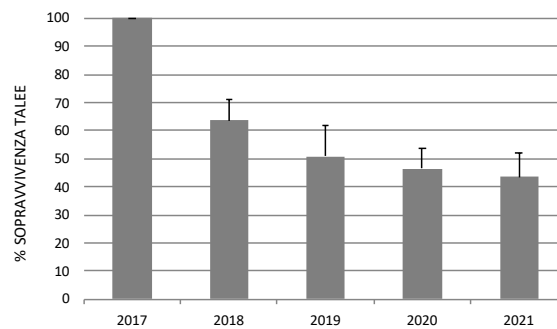


Fig. 2 - Percentuale di sopravvivenza delle talee nel tempo.
Survival percentage of plants over time.

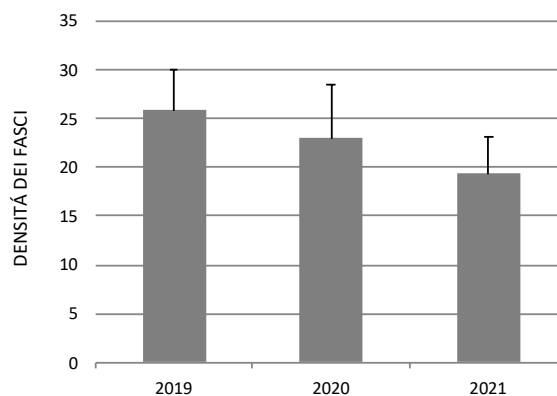


Fig. 3 - Densità dei fasci fogliari (fasci/m²).
Shoot density (leaf bundles/m²).

Conclusioni - Le geostuoie scelte come materiale di supporto delle talee di *P. oceanica* si sono dimostrate ad elevata stabilità e resistenti al forte idrodinamismo che caratterizza l'area. I dati sulla vitalità delle talee ad un anno dalla prima sessione di ripopolamento ed a pochi mesi dalla seconda hanno mostrato buoni risultati ed un buon adattamento all'ambiente, come indicato dal fatto che la totalità dei campioni analizzati presentava foglie giovanili ed il 65% possedeva nuove radici. Inoltre, tenendo conto dell'utilizzo esclusivo di piante già eradiccate e rinvenute *in situ* in aree di accumulo, la percentuale di sopravvivenza rilevata a 48 mesi dalla seconda sessione di messa a dimora, pari complessivamente a circa il 44%, può considerarsi comunque non negativa (Piazzi *et al.*, 2021; Bacci e La Porta, 2022). Infatti, gli impianti di *P. oceanica* realizzati a partire da talee non prelevate da praterie donatrici tendono ad avere una forte mortalità iniziale (Balestri *et al.*, 2011) seguita da un periodo di assestamento di lunghezza variabile (Piazzi *et al.*, 2021). Una volta che l'impianto si è assestato, una mortalità intorno al 50% può essere compensata nel tempo dall'allungamento e dalla ramificazione delle talee rimaste (Calumpang e Fonseca, 2001). L'impianto di Capo Carbonara non sembra aver raggiunto ancora la stabilità necessaria per avviare la fase di ricolonizzazione, come si evince dalla tendenza alla diminuzione del tasso di sopravvivenza e della densità dei fasci, anche se l'elevata variabilità dei dati, quantificata dalla deviazione standard, non permette di determinare delle reali differenze nei valori degli ultimi tre anni. Sarà necessario un monitoraggio più lungo per valutare la riuscita dell'impianto. I dati sulla vitalità delle talee ad un anno dalla prima sessione di ripopolamento ed a pochi mesi dalla seconda hanno mostrato buoni risultati ed un buon adattamento all'ambiente come indicato dal fatto che la totalità dei campioni analizzati presentava foglie giovanili ed il 65% possedeva nuove radici. In conclusione, i risultati fin qui ottenuti confermano che le talee recuperate *in situ* e impiantate in poche ore possono essere favorevolmente utilizzate per attività di ripristino delle praterie, rappresentando una valida alternativa non distruttiva alla rimozione da praterie donatrici.

Bibliografia

- ACUNTO S., BACCHETTA G., BORDIGONI A., CADONI N., CINTI M.F., DURÀ NAVARRO M., F. FRAU, LENTINI L., LIGGI M.G., MASALA V., MELONI F., PINNA R., PODDA L., SANNA A. (2017) - The LIFE+ project " RES MARIS – Recovering Endangered habitatS in the Capo Carbonara MARIne area, Sardinia": first results. *Plant Sociol.*, **54** (Suppl. 1): 85-95.
- BACCI T., LA PORTA B. (2022) - *Manuale delle tecniche e delle procedure operative per il trapianto di Posidonia oceanica*. LIFE SEPOSSO (LIFE 16 GIE/IT/000761). GESI, Roma: 133 pp.
- BACCI T., LA PORTA B., MAGGI C., NONNIS O., PAGANELLI D., RENDE F.S., TARGUSI M., BOCCALARO F., BOVINA G., CANTASANO N., POLIFRONE M. (2014) - Conservazione e gestione della naturalità negli ecosistemi marino-costieri. Il trapianto delle praterie di *Posidonia oceanica*. *Manuali e Linee Guida*, **106**. ISPRA, Roma: 97 pp.
- BALESTRI E., VALLERINI F., LARDICCI C. (2011) - Storm-generated fragments of the seagrass *Posidonia oceanica* from beach wrack – A potential source of transplants for restoration. *Biol. Conserv.*, **144** (5): 1644-1654.
- CALUMPONG H.P., FONSECA M.S. (2001) - Seagrass transplantation and other seagrass restoration methods. In: Short F.T., Coles R.G. (eds), *Global seagrass research methods*. Elsevier Publications, Amsterdam: 425-443.
- CINELLI F.L., BOCCALARO F., BURGASSI M., RENDE F., CINELLI F., PIAZZI L., ZANELLA M. (2007) - Utilizzo sperimentale in mare di sistemi tecnici già impiegati dall'ingegneria naturalistica terrestre. *Biol. Mar. Mediterr.*, **14** (2): 342-343.
- PAULO D., CUNHA A.H., BOAVIDA J., SERRÃO E.A., GONÇALVES E.J., FONSECA M. (2019) - Open coast seagrass restoration. Can we do it? Large scale seagrass transplants. *Front. Mar. Sci.*, **6**: 52.
- PIAZZI L., ACUNTO S., FRAU F., ATZORI F., CINTI M.F., LEONE L., CECCHERELLI G. (2021) - Environmental engineering techniques to restore degraded *Posidonia oceanica* meadows. *Water*, **13** (5): 661.

F. GIANNI¹, V. BANDELJ¹, M. ABBIATI², B. CALCINAI³, A. CARAGNANO³, S. CIRIACO⁴,
F. COSTANTINI⁵, S. KALEB⁶, C. LAURENT¹, M. PONTI⁵, S. PUCE³, S. QUERIN¹,
F. RINDI³, C. SOLIDORO¹, E. TURICCHIA⁵, A. FALACE⁶

¹National Institute of Oceanography and Applied Geophysics - OGS, Trieste, Italy.

²Interdepartmental Research Centre for Environmental Sciences, University of Bologna, Ravenna, Italy.

³Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy.

⁴WWF Miramare MPA, Trieste, Italy.

⁵Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, University of Bologna, Ravenna, Italy.

⁶Department of Life Sciences, University of Trieste, Italy.

fgianni@ogs.it

BENTHIC ASSEMBLAGES OF BIOGENIC REEFS IN THE NORTHERN ADRIATIC SEA: SYNTHESIS AND NEW INSIGHTS

POPOLAMENTI BENTONICI SUGLI AFFIORAMENTI ROCCIOSI DELL'ALTO ADRIATICO: SINTESI E NUOVE CONOSCENZE

Abstract - Biogenic reefs in the northern Adriatic Sea have a high ecological and economic value, but they are subject to different impacts and require more protection. Here we reviewed recent literature on biogenic reefs and presented new data on their diversity, connectivity and the potential factors affecting species distribution. Results showed that biogenic reefs have a high spatial heterogeneity primarily driven by hydrodynamic factors and nutrient loads. Connectivity simulation helped to explain this diversity and stressed that current protection measures should be extended to other important sites for species dispersal.

Key-words: macrobenthic communities, connectivity, temperate reefs, coralligenous, Mediterranean.

Introduction - Biogenic reefs in the northern Adriatic Sea are considered a hotspot of biodiversity (Ballesteros, 2006) with a great economic value for the ecosystem services they provide (Tonin, 2018). At present, different studies have assessed their genesis and the environmental factors affecting their assemblages (e.g. Ponti *et al.*, 2011; Falace *et al.*, 2015). However, since the reefs in this region are numerous and heterogeneous, many remain unexplored and much information is still needed to enhance their protection. In this note, we summarized past studies that assessed benthic assemblages of northern Adriatic biogenic reefs, integrating them with new data on community structure and composition, connectivity and bio-geophysical factors accounting for their spatial variability.

Materials and methods - The text was organized into three sections describing: 1) diversity and habitat typology; 2) environmental factors influencing species distribution; 3) hydrodynamic connectivity. In the first two sessions, we reviewed primary literature (Ponti *et al.*, 2011; Falace *et al.*, 2015 and references therein) and presented new data on composition and cover of species collected between 2014 and 2017 by photographic sampling (ten random photo-quadrates, 17×26 cm) at each of 21 reefs (Fig. 1). To identify groups of sites with similar taxa, we applied a fuzzy k-means (FKM) clustering method. A redundancy analysis (RDA), applied to the results of the FKM and performed as in Falace *et al.* (2015), was used to model the relationship with hydrodynamic, abiotic and morphological variables. Data on hydrodynamic variables (yearly mean and maximum velocity and mean kinetic energy of currents) and physicochemical variables [yearly median, fifth (P5) and ninety-fifth (P95) percentile of chlorophyll, temperature, salinity, NH₄, NO₃, PO₄, dissolved oxygen] at the surface and bottom were obtained as described in Falace *et al.* (2015). We used P5 and P95 instead of the absolute minimum and maximum values to avoid possible biases. Morphological data of the reefs (depth,

height, extent and distance from the coast) were obtained as in Ponti *et al.* (2011). Connectivity among these biogenic reefs has never been assessed and we presented results of recent simulations (Bandelj *et al.*, 2020) between 10 coastal segments and 33 reefs (filled circles in Fig. 1), using the LTRANS Zlev model (Laurent *et al.*, 2020). Different pelagic propagule durations (PPDs) (3 hours, 1 day, 3 days, 1 week, 2 weeks, 1 month) were considered to account for different reproductive and spreading habits of species. Passive particles were released from each reef and coastal segment (nodes) for all PPDs over the whole three-month seasons. Connectivity graphs were constructed with the graph analysis method (Carrington *et al.*, 2005) and we calculated three structural measures: connectedness (*Conn*), graph hierarchy (*Hier*) and redundancy (*Red*) (Everett and Krackhardt, 2012). To select the nodes that guarantee the highest network connectivity, we first calculated the individual importance of each node using the M-reach closeness centrality and then we applied the keyplayer algorithm (An and Liu, 2016). The final subset of nodes was chosen considering how many times each node is selected in each season and PPD. Analyses were performed in R.

Results - Diversity and habitat typology. A total of 573 taxa are reported in literature: 191 seaweeds and 382 invertebrates. In our sampling, a high number of taxa (92) was also recorded, with species richness varying between 3.5 ± 0.4 to 15.1 ± 1.2 (mean \pm SE) taxa among sites. 'Sponges' was the category more representative with 31 taxa, followed by 'Ascidians' (16 taxa), 'Reef builders' (14 taxa) and 'Turf' (9 taxa). Four taxa were classified as 'Bioeroders' and 'Non-calcareous (NC) encrusting algae'. Past studies and the results of the FKM clustering agreed on classifying biogenic reefs in three habitat typologies according to the dominant taxa. A first cluster comprises sites closer to the coast, in front of Chioggia (Fig. 1), characterized by opportunistic and stress-tolerant species: algal turf (*e.g.* *Antithamnion* spp.), encrusting sponges and bioeroders of the genus *Cliona*. On the contrary, reef builders are abundant at sites far from the coast and deeper, mainly represented by coralline algae (*e.g.* *Lithophyllum* spp.), serpulids and some Anthozoa. The third group includes sites with intermediate characteristics, mainly located offshore Grado, dominated by sponges, NC encrusting algae (*Peyssonnelia* spp.) and ascidians.

Environmental factors. An onshore-offshore gradient, caused by the river inflows and nutrient loads, is the main responsible factor for the differences of the reefs (Ponti *et al.*, 2011; Falace *et al.*, 2015). The RDA model (R^2 adj=0.82) confirmed this gradient: sites near Chioggia are clearly influenced by the mean kinetic energy of currents and the P5 of chlorophyll at the surface, the P95 of PO_4 at the bottom, sedimentation and mud sediments. Contrarily, the other groups of sites, dominated by sensitive species, are located relatively offshore, where the effect of these factors is reduced. The median salinity, the P95 of temperature and the P5 of NH_4 at the surface, positively influence sites offshore Grado. Presence of sites of the third group was not clearly explained by the model, being negatively affected by these factors and positively influenced by the P5 of chlorophyll at the surface.

Connectivity. At short PPDs the system is made by several disconnected subgraphs and isolated nodes. Coastal segments are connected for short PPDs, but disconnected from the reefs until PPD of 3 days. At higher PPDs, the connectivity graphs are more complex, and it is more difficult to analyse them visually (Fig. 2). *Conn* increases with PPDs and the graphs results fully connected at PPD 1 day in autumn and 3 days in the other seasons. *Hier* is high for PPDs up to 3 days, meaning that particles mainly moved in one direction between nodes (asymmetry). Contrarily, symmetric relationships between the

nodes predominated at higher PPDs. The lowest *Red* values were at PPDs up to 3 days, while the highest at PPDs 1 month, when all nodes were connected. The keyplayer procedure selected 16 reefs as the most important for species dispersal, each 8 or more times for all seasons and PPDs. Only 5 of them are currently protected (Fig. 1).

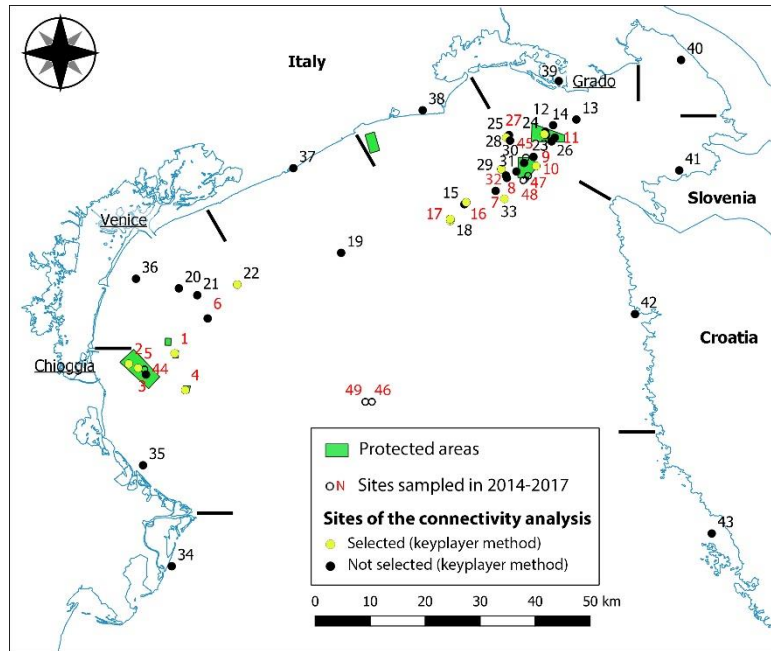


Fig. 1 - Study reefs.
Affioramenti studiati.

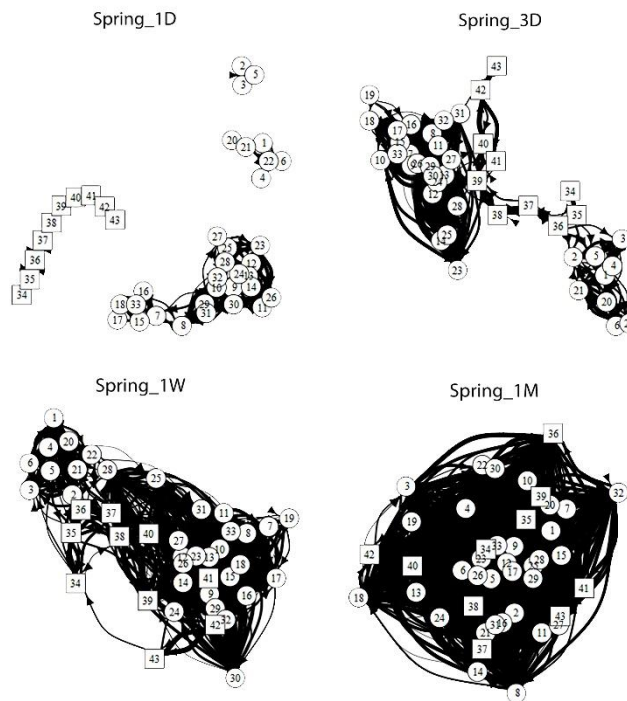


Fig. 2 - Connectivity graphs for different PPDs in spring (numbers as in Fig. 1). Circles=biogenic reefs, squares=coastal segments.
Grafici di connettività per diverse PPD in primavera (numeri come in Fig. 1). Cerchi=affioramenti, quadrati=tratti costieri.

Conclusions - Results obtained in our sampling agreed with previous studies showing an ecological gradient as the distance from the coast increases. However, part of the variability among the outcrops rests unexplained. Likely, the interaction among the environmental factors and other impacts plays a crucial role that deserves further investigations. Hydrodynamic connectivity may also explain the observed differences, since up to 3 days biogenic reefs and the mainland are split in subgroups, thus different meta-community dynamics can be expected. Our analysis also showed that the current protection is not representative since it does not include the 'key-outcrops' that better guarantee cross-scale connectivity. The establishment of a protected area network, including highly connected reefs, should be the primary goal for the conservation of these habitats.

References

- AN W., LIU Y.-H. (2016) - keyplayer: an R package for locating key players in social networks. *R J.*, **8** (1): 257-268.
- BALLESTEROS E. (2006) - Mediterranean coralligenous assemblages: a synthesis of present knowledge. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **44**: 123-195.
- BANDELJ V., SOLIDORO C., LAURENT C., QUERIN S., KALEB S., GIANNI F., FALACE A. (2020) - Cross-scale connectivity of macrobenthic communities in a patchy network of habitats: the mesophotic biogenic habitats of the northern Adriatic Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **245**: 106978.
- CARRINGTON P.J., SCOTT J., WASSERMAN S. (2005) - *Models and methods in social network analysis*. Cambridge University Press: 328 pp.
- EVERETT M.G., KRACKHARDT D. (2012) - A second look at Krackhardt's graph theoretical dimensions of informal organizations. *Soc. Networks*, **34** (2): 159-163.
- FALACE A., KALEB S., CURIEL D., MIOTTI C., GALLI G., QUERIN S., BALLESTEROS E., SOLIDORO C., BANDELJ V. (2015) - Calcareous bio-concretions in the northern Adriatic Sea: habitat types, environmental factors that influence habitat distributions, and predictive modeling. *PLoS ONE*, **10** (11): e0140931.
- LAURENT C., QUERIN S., SOLIDORO C., CANU D.M. (2020) - Modelling marine particle dynamics with LTRANS-Zlev: implementation and validation. *Environ. Modell. Softw.*, **125**: 104621.
- PONTI M., FAVA F., ABBIATI M. (2011) - Spatial-temporal variability of epibenthic assemblages on subtidal biogenic reefs in the northern Adriatic Sea. *Mar. Biol.*, **158**: 1447-1459.
- TONIN S. (2018) - Economic value of marine biodiversity improvement in coralligenous habitats. *Ecol. Indic.*, **85**: 1121-1132.

D. GRANCAGNOLO¹, A. MIRASOLE², R. CHEMELLO¹¹Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università di Palermo, Italia.²Stazione Zoologica Anton Dohrn, Ischia Marine Centre, Ischia (NA), Italia.
desiree.grancagnolo@community.unipa.it

PRIMA VALUTAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ DELLO "SCOGLIO DELLA FORMICA" (TIRRENO MERIDIONALE) E DELLE SUE MINACCE

A FIRST ASSESSMENT OF THE "SCOGLIO DELLA FORMICA" BIODIVERSITY (SOUTHERN TYRRHENIAN SEA) AND ITS THREATS

Abstract - The 'Scoglio della Formica' is a shoal made by three main rocks that raise up from a muddy bottom (from 60 m depth) in the southern Tyrrhenian sea (about a mile north from the Sicilian coast). Although it represents a very popular site among recreational divers due to the presence of a well developed coralligenous habitat, it is almost unknown from a scientific point of view. This study is a first assessment of the distribution of rare or conservationistic important species belonging to coralligenous biocenosis, through photographic materials and questionnaires collected with a Citizen Science method. Moreover, the presence of lost fishing gears has been documented and it represents an evident threat for the local biodiversity. The results showed a difference in species distribution by slopes and depths, while fishing gears are mainly located in specific areas of the shoal (between 30 and 40 m depth).

Key-words: biodiversity, citizen science, coralligenous, fishing gear impact, recreational diving.

Introduzione - L'impiego della *Citizen Science* (CS) ha contribuito nel fornire informazioni biologiche ed ecologiche spesso difficilmente reperibili a causa della recente implementazione di programmi di monitoraggio scientifico a lungo termine (Thiel *et al.*, 2014). Il crescente interesse verso l'ambiente marino ha portato ad un incremento delle attività ricreative come le immersioni subacquee, con conseguenti vantaggi per le economie locali (Chimienti *et al.*, 2017) e, allo stesso tempo, ha reso disponibili una notevole quantità di informazioni ai ricercatori (Thierry de Ville d'Avray *et al.*, 2019). In assenza di dati scientifici pregressi sull'area, questo studio punta a mettere in risalto l'importanza dello 'Scoglio della Formica' come possibile *hotspot* di biodiversità attraverso le conoscenze di *key-informants* (es. subacquei ricreativi e professionisti, fotografi e documentaristi) che frequentano il sito da anni. L'habitat a coralligeno rappresenta un *hotspot* di biodiversità e può essere considerato come una 'comunità puzzle' per via della sua complessa struttura che consente lo sviluppo di differenti organismi (Ballesteros, 2006). Tuttavia, sia le attività antropiche con impatti immediatamente visibili (es. pesca, ancoraggi, immersioni subacquee) che i cambiamenti climatici (es. aumento delle temperature medie e acidificazione oceanica) possono danneggiare l'habitat a coralligeno (Ponti *et al.*, 2014). L'obiettivo di questo studio è stato quello di raccogliere informazioni su alcune delle specie iconiche del coralligeno [es. *Antipathella subpinnata* (Ellis e Solander, 1786), *Astroides calycularis* (Pallas, 1766), *Eunicella cavolini* (Koch, 1887), *Eunicella singularis* (Esper, 1791), *Eunicella verrucosa* (Bertoloni, 1910), *Paramuricea clavata* (Risso, 1826), *Savalia savaglia* (Bertoloni, 1819)], stimandone la distribuzione su differenti versanti e profondità della Secca, e valutare il possibile impatto causato dalla presenza di attrezzi da pesca abbandonati.

Materiali e metodi - La raccolta dei dati si è articolata in tre fasi. La prima ha riguardato la collezione di materiale fotografico e video di specie bentoniche e attrezzi da pesca attraverso ricerche sui *social network*. Nella seconda fase sono state

identificate le possibili specie iconiche a partire dal materiale fotografico. Durante la terza fase è stato organizzato un incontro pubblico al “Museo del Mare” di Palermo (25/02/2020) per identificare tutti i possibili *key-informants* (subacquei ricreativi e professionisti, fotografi e documentaristi, biologi marini). Su circa 100 partecipanti, 46 hanno manifestato interesse nel contribuire alla raccolta dei dati tramite questionari e 28 questionari sono stati compilati. Successivamente gli autori hanno validato i dati ottenuti svolgendo delle immersioni sul sito.

Risultati – Lo “Scoglio della Formica” rappresenta un *hotspot* di biodiversità per l’elevata presenza e abbondanza di specie bentoniche appartenenti all’habitat a coralligeno che si trovano sotto protezione da parte di differenti direttive di conservazione (IUCN, Bern, Natura 2000, CITES, Barcelona, Aspim). Tramite il materiale fotografico sono state censite 94 specie, tra le quali risulta essere di particolare interesse la presenza di *Antipathella subpinnata* sul versante Nord-Ovest e ad una profondità compresa tra i 40 e i 60 m. *Paramuricea clavata* è la specie di gorgonia più abbondante ma, secondo gli intervistati, le sue condizioni di salute sono le peggiori insieme alla madrepora *Astroides calycularis*. Mentre le immersioni subacquee non sono state selezionate dai *key-informants* tra le principali minacce per l’habitat a coralligeno, tra le identificate, oltre alla presenza di attrezzi da pesca abbandonati, l’incremento delle temperature è stato segnalato come possibile causa del peggioramento dello stato di salute delle specie appartenenti al coralligeno. Dalle immersioni condotte dagli autori per validare i dati sono però emerse evidenze di danni meccanici provocati alla madrepora *Astroides calycularis*, la sua presenza negli strati meno profondi della colonna d’acqua la rende, infatti, particolarmente vulnerabile a contatti non intenzionali da parte dei subacquei meno esperti che manifestano difficoltà nel controllo e nella gestione dell’assetto. Gli attrezzi da pesca abbandonati sono stati segnalati sia in aree ben localizzate, come attrezzi presenti da tempo e ormai colonizzati, che su aree nuove a differenti batimetrie e su tutti i versanti della “Secca”, principalmente come lenze provenienti dalla pesca ricreativa (Fig. 1, Tab.1). Dei 19 ricercatori ai quali è stato inviato il questionario solamente 1 era in possesso delle conoscenze di base necessarie per rispondere alle domande contenute, confermando che il sito rimane poco studiato dalla comunità scientifica che trascura anche gli aspetti ricreativi ed economici che quest’area può ricoprire.

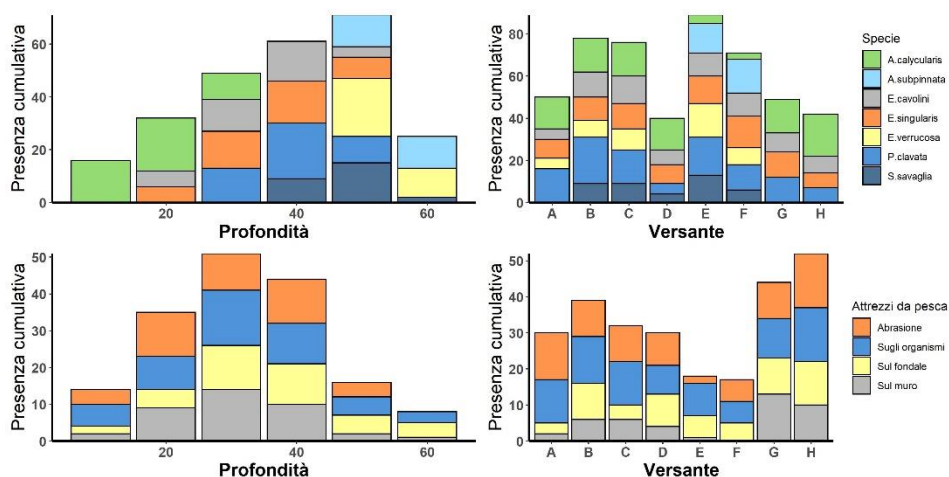


Fig. 1 - Distribuzione generale delle specie (in alto) e degli attrezzi abbandonati (in basso) nei diversi versanti e profondità dello ‘Scoglio della Formica’.

Species distribution (on the top) and lost fishing gears (below) for different slopes and depths of the ‘Scoglio della Formica’.

Tab. 1 - Percentuale (%) di risposte per ciascuna specie in termini di abbondanza, ad ogni profondità e versante dello Scoglio. Viene inoltre riportata la percentuale di N.A. per ciascuna domanda.

Percentage (%) of answers for each species in terms of abundance, at each depth and slope of the Scoglio. The percentage of N.A. for each question is also reported.

	<i>Astroides calycularis</i>	<i>Antipathella subpinnata</i>	<i>Eunicella cavolini</i>	<i>Eunicella singularis</i>	<i>Eunicella verrucosa</i>	<i>Paramuricea clavata</i>	<i>Savalia savaglia</i>
Abbondanza							
In aree ristrette	40,7	70,4	22,2	40,7	7,4	51,9	18,5
In aree ampie	51,9	11,1	11,1	7,4	0,0	44,4	0,0
Individui isolati	7,4	11,1	59,3	51,9	88,9	0,0	70,4
Nessuna risposta (N.A.)	0,0	7,4	7,4	0,0	3,7	3,7	11,1
Profondità							
0 -10	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10-20	62,5	0,0	18,8	18,8	0,0	0,0	0,0
20-30	19,6	0,0	23,5	27,5	0,0	25,5	3,9
30-40	0,0	0,0	22,7	24,2	9,1	31,8	12,1
40-50	0,0	17,9	6,0	11,9	28,4	14,9	20,9
50-60	0,0	64,7	0,0	0,0	23,5	5,9	5,9
Nessuna risposta (N.A.)	0,0	22,2	22,2	11,1	11,1	0,0	33,3
Versante							
A	28,8	1,9	9,6	17,3	9,6	30,8	1,9
B	19,8	3,7	14,8	13,6	9,9	27,2	11,1
C	21,3	5,3	17,3	16,0	10,7	21,3	8,0
D	34,9	4,7	16,3	20,9	2,3	11,6	9,3
E	5,2	10,4	14,3	16,9	16,9	23,4	13,0
F	4,5	17,9	16,4	22,4	11,9	17,9	9,0
G	29,1	1,8	16,4	21,8	5,5	21,8	3,6
H	41,3	2,2	17,4	15,2	2,2	15,2	6,5
Nessuna risposta (N.A.)	0,0	15,8	21,1	15,8	21,1	0,0	26,3

Conclusioni – Questo studio rappresenta una valutazione preliminare di un *hotspot* di biodiversità mediterranea come quello rilevato presso lo “Scoglio della Formica” (Tirreno meridionale, N Sicilia). Tramite lo strumento della *Citizen Science* è emersa la presenza di specie rare o di particolare interesse conservazionistico come *A. subpinnata* e di attrezzi di differenti tipologie appartenenti sia alla pesca sportiva che a quella professionale, nonostante esista un’ordinanza emanata dalla Capitaneria di Porto di Porticello che vieta ogni attività di prelievo definendo il sito come “Area sottoposta a regolamento”. L’attività di pesca è stata riconosciuta come uno dei principali impatti sull’ambiente marino, causando perdita di biodiversità e di eterogeneità degli habitat, con evidenti conseguenze sul funzionamento ecosistemico (Jennings e Kaiser, 1998; Jackson *et al.*, 2001; Worm *et al.*, 2006). Tramite questo studio viene sottolineata l’importanza della *Citizen Science* come strumento di raccolta di dati altrimenti difficilmente reperibili e come metodo di coinvolgimento in campagne di monitoraggio finalizzate ad accrescere il livello di consapevolezza e conoscenza dei principali *stakeholder*. È essenziale ottenere delle conoscenze di base da condividere con conservazionisti, gestori e mondo politico per individuare le migliori pratiche che

possano supportare in modo efficiente anche l'aspetto sociale ed economico degli ecosistemi marini costieri. La presenza di habitat e specie importanti dal punto di vista conservazionistico evidenzia la necessità di considerare lo 'Scoglio della Formica' in futuri progetti di gestione e monitoraggio, con la possibilità di includerla nel già esistente Sito di Interesse Comunitario (SIC) della Rete Natura 2000 di Capo Zafferano (ITA020052) estendendone i confini.

Bibliografia

- BALLESTEROS E. (2006) - Mediterranean coralligenous assemblages: a synthesis of present knowledge. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **44**: 123-195.
- CHIMIANTI G., STITHOU M., DALLE MURA I., MASTROTOTARO F., D'ONGHIA G., TURSI A., IZZI C., FRASCHETTI S. (2017) - An explorative assessment of the importance of Mediterranean coralligenous habitat to local economy: the case of recreational diving. *J. Environ. Account. Manage.*, **5** (4): 315-325.
- JACKSON J.B.C., KIRBY M.X., BERGER W.H., BJORN DAL K.A., BOTS FORD L.W., BOURQUE B.J., BRADBURY R.H., COOKE R., ERLANDSON J., ESTES J.A., HUGHES T.P., KIDWELL S., LANGE C.B., LENIHAN H.S., PANDOLFI J.M., PETERSON C.H., STENECK R.S., TEGNER M.J., WARNER R.R. (2001) - Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science*, **293** (5530): 629-637.
- JENNINGS S., KAISER M.J. (1998) - The effects of fishing on marine ecosystems. *Adv. Mar. Biol.*, **34**: 201-352.
- PONTI M., PERLINI R.A., VENTRA V., GRECH D., ABBIATI M., CERRANO C. (2014) - Ecological shifts in Mediterranean coralligenous assemblages related to gorgonian forest loss. *PLoS ONE*, **9** (7): e102782.
- THIEL M., PENNA-DÍAZ M.A., LUNA-JORQUERA G., SALAS S., SELLANES J., STOTZ W. (2014) - Citizen scientists and marine research: volunteer participants, their contributions, and projection for the future. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **52**: 257-314.
- THIERRY DE VILLE D'AVRAY L., AMI D., CHENUIL A., DAVID R., FÉRAL J.-P. (2019) - Application of the ecosystem service concept at a small-scale: the cases of coralligenous habitats in the North-western Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **138**: 160-170.
- WORM B., BARBIER E.B., BEAUMONT N., DUFFY J.E., FOLKE C., HALPERN B.S., JACKSON J.B.C., LOTZE H.K., MICHELI F., PALUMBI S.R., SALA E., SELKOE K.A., STACHOWICZ J.J., WATSON R. (2006) - Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science*, **314** (5800): 787-790.

B. LA PORTA¹, V. LUCIA¹, D. PAGANELLI¹, M. PENNA¹, C. D'ANNA¹, T. PACIONE¹,
 A. CACCIUNI¹, M. TARGUSI¹, F. BERTASI¹, M. SCARDI², F. BADALAMENTI³,
 G. D'ANNA³, C. PIPITONE³, A. ZENONE³, S. CALVO⁴, A. TOMASELLO⁴, C. MANCUSI⁵,
 E. CECCHI⁵, C. BULLERI⁶, F. SOZZI⁶, S. CONCONI⁷, A. PIAZZI⁸, T. BACCI¹

¹ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Roma, Italia.

²Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", Roma, Italia.

³Ist. per lo studio degli impatti Antropici e Sostenibilità in ambiente marino (IAS CNR),
 Castellammare del Golfo (TP), Italia.

⁴Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università di Palermo, Italia.

⁵Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana (ARPAT), Livorno, Italia.

⁶Autorità di Sistema Portuale del Tirreno Settentrionale, Piombino (LI), Italia.

⁷VESENDA Srl, Pavia, Italia.

⁸SETIN Srl, Roma, Italia.

barbara.laporta@isprambiente.it

IL TRAPIANTO DI *POSIDONIA OCEANICA*: QUALE COMPENSAZIONE?

IS *POSIDONIA OCEANICA* SHOOT TRANSPLANTATION A SUITABLE MEASURE OF COMPENSATION?

Abstract - National Environmental Impact Assessment decrees of marine infrastructural works affecting *P. oceanica* meadows and the prescription relating to transplant and monitoring were analysed. Three decrees were also compared with the performance of the prescribed transplants. Results highlighting the scarce homogeneity of both transplant and monitoring indications that may compromise the restoration of the damaged meadows.

Key-words: *Posidonia oceanica*, habitat restoration, Environmental Impact Assessment.

Introduzione - Le principali cause della regressione delle praterie di *Posidonia oceanica* (L.) Delile 1813, habitat prioritario 1120* *sensu* Direttiva Habitat (1992/43/EEC) ed endemico del Mediterraneo, sono associate all'inquinamento delle acque, alla realizzazione di opere infrastrutturali costiere, alla posa di condotte e cavi sottomarini, agli ancoraggi, agli impianti di acquacoltura e alla pesca a strascico (Boudouresque *et al.*, 2006). Per la Direttiva Habitat la presenza di praterie di *P. oceanica* può comportare l'istituzione di Siti di Importanza Comunitaria (SIC) e di Zone Speciali di Conservazione (ZSC) che, facenti parte delle Rete Natura 2000, hanno lo scopo di tutelarne lo stato di conservazione. La vulnerabilità delle praterie agli impatti antropici e la lentezza dei processi di ricolonizzazione naturale hanno, negli ultimi decenni, favorito l'affermarsi dell'idea che il trapianto potesse contribuire a favorire e/o accelerare i processi di rigenerazione naturale. In Italia, il trapianto viene prescritto come misura di compensazione per i danni causati alle praterie da opere e infrastrutture costiere sottoposte a Valutazione d'Impatto Ambientale (VIA, Direttiva 2014/52/UE e precedenti). Nel caso in cui la prateria danneggiata sia compresa nella Rete Natura 2000, le opere dovranno essere sottoposte anche alla Valutazione di Incidenza (VINCA) (Direttiva Habitat Art. 6 par. 3 e 4) che ha lo scopo di verificare, preventivamente, l'incidenza negativa delle opere sullo stato di conservazione dell'habitat. Laddove non sia possibile individuare misure di mitigazione o non sia possibile trovare soluzioni per le opere in grado di prevenire gli impatti su SIC e ZSC, come "ultima possibilità" è d'obbligo realizzare misure di compensazione. Queste hanno la finalità di mantenere la coerenza ecologica globale della Rete Natura 2000. I trapianti realizzati ad oggi in Italia come compensazione sono stati realmente risarcitori del danno? E quale esito hanno

avuto? Il progetto LIFE S.E.POS.S.O. ha tra i suoi obiettivi quello di contribuire a migliorare l'efficacia e l'efficienza delle procedure che includono il trapianto come misura di recupero di praterie danneggiate da opere e infrastrutture costiere assoggettate a VIA/VINCA. In questo lavoro vengono presentati i risultati dell'analisi dei decreti di VIA nazionale di opere impattanti praterie di *P. oceanica* e del confronto con le *performance* dei trapianti prescritti nei siti di S. Marinella (RM), Piombino (LI) ed Ischia (NA).

Materiali e Metodi - La ricognizione di progetti sottoposti a VIA nazionale che danneggiavano anche praterie di *P. oceanica*, è stata effettuata a partire dal 2000, utilizzando il database "I.De.A." (ISPRA Decreti Ambientali) e il portale della Direzione Valutazioni Ambientali del MITE (<https://va.mite.gov.it/it-IT>). Per analizzare le "condizioni ambientali" (prescrizioni) dei decreti è stata fatta una ricerca utilizzando le parole chiave: *Posidonia oceanica*, *Posidonia*, *P. oceanica*, *posidonieto/i*, *fanerogama/e*, *prateria/e*. Inoltre, sono state selezionate le prescrizioni riferite a "compensazioni" e "monitoraggio ambientale". Tra i decreti delle opere attualmente realizzate, sono stati selezionati e analizzati tre decreti, nell'ambito dei quali, in ottemperanza di specifiche prescrizioni, sono stati effettuati dei trapianti su vasta scala spaziale e i relativi monitoraggi: 1) "Variante al Piano Regolatore Portuale di Civitavecchia (RM) - Darsena Energetica Grandi Masse (DEGM) (DEC/VIA 6923/2002)" e progetti successivi nell'area portuale; 2) "Progetto del gasdotto sottomarino nel tratto di mare fra il Lago del Fusaro nel Comune di Bacoli (NA) e la Punta San Pietro nel Comune di Ischia (NA) (DEC/VIA 10/2008)"; 3) "Piano Regolatore Portuale del Porto di Piombino (LI) (DEC/VIA 478/2012)".

Risultati - Dal 2000, sono stati individuati 32 decreti di VIA nazionale relativi ad opere con potenziale impatto su praterie di *Posidonia*. Le opere più frequenti sono la realizzazione o l'ampliamento di 13 porti, la posa di 8 gasdotti-oleodotti e la realizzazione di 5 rigassificatori, quelle meno frequenti sono risultate la posa di due elettrodotti, la realizzazione di una centrale elettrica, di un aeroporto e di un terminale marittimo. Di queste, al 2021, sono state realizzate o in fieri 17 opere. Dai 32 decreti sono state estrapolate 102 condizioni ambientali relative a *P. oceanica*. Le indicazioni legate al trapianto ricorrono in 25 condizioni tra "compensazione" e "monitoraggio ambientale", con una diversa frequenza nelle opere di riferimento (Fig. 1).

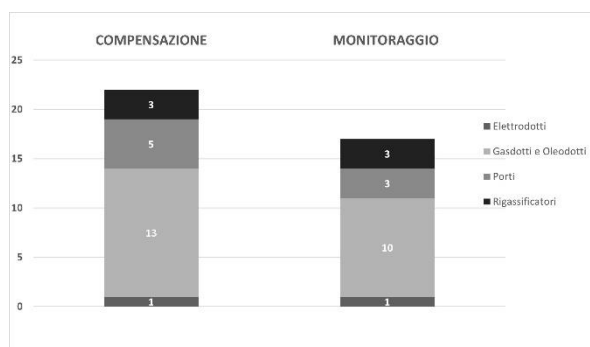


Fig. 1 – Frequenza con cui le condizioni ambientali "compensazione" e "monitoraggio ambientale" sono state prescritte per alcune opere relative ai 32 decreti nazionali.

Frequency of "compensation" and "environmental monitoring" environmental conditions prescribed in some of the 32 national decrees of some coastal-infrastructure works.

Tra le opere realizzate, il trapianto è stato effettuato solo in 6 casi tra cui i tre casi di studio oggetto del presente lavoro. In Tab. 1 vengono sintetizzate le informazioni dei tre casi di studio contenute nei decreti e nelle condizioni ambientali relative ai trapianti

e ai monitoraggi prescritti. Sono, inoltre, riportate le date e l’arco temporale degli eventuali ulteriori monitoraggi realizzati su base volontaria dai proponenti, e le performance dei trapianti, ottenute dal monitoraggio del progetto SEPOSSO del 2018. La performance di Civitavecchia e Ischia è il rapporto tra fasci osservati nel monitoraggio 2018/totale fasci trapiantati in origine nei moduli monitorati, non considerando le aree di trapianto andate completamente perse (Bacci *et al.*, 2019); quella di Piombino è il rapporto tra il numero delle zolle con stato di conservazione medio-alta/totale delle zolle monitorate. Lo stato di conservazione è stato valutato secondo la dimensione della zolla e la sua copertura (AA.VV., 2020).

Tab. 1 – Sintesi delle informazioni relative ai decreti VIA, prateria danneggiata e trapianto dei tre casi di studio (*=indicazioni non prescritte ma indicate dai proponenti).

Summary of information relating to EIA decrees, damaged meadow and transplants of the three case studies (=indications not prescribed but proposed by the proposers).*

Decreto VIA	Numero	DEC/VIA 6923/2002	DEC/VIA 10/2008;	DEC/VIA 478/2012
	Sito	Civitavecchia (RM)	Ischia (NA)	Piombino (LI)
	Proponente	ENEL produzioni SpA	CPL Concordia Soc. Coop.	Autorità Portuale di Piombino
Prateria danneggiata	Causa del danno	Dragaggio darsena DEGM del porto di Civitavecchia e realizzazione 2 banchine per adiacente centrale ENEL	Scavo trincea per posa gasdotto	Dragaggio canale di accesso al porto di Piombino
	Superficie	ca.80.000 m ²	1600 m ²	1362 m ²
	Stato di conservazione	frammentato	buono	frammentato
Trapianto	SIC/ZSC	ZSC IT6000005 “Fondali tra Punta S. Agostino e Punta della Mattonara”	ZSC IT8030010 “Fondali marini di Ischia, Procida e Vivara”	-
	Sito ricevente	Sup persa/sup. trapiantata: << 1:1 Sup. tot.: 10.000 m ² SIC/ZSC: ZSC IT6000007	Sup persa/sup. trapiantata: 1:1 Sup. tot.: 1600 m ² SIC/ZSC: ZSC IT8030010	Sup persa/sup. trapiantata: 1:1 Sup. tot.: 1362 m ² SIC/ZSC: -
	Tecnica	Tecnica*: Cornice in cemento	Tecnica: Cornice in cemento	Tecnica*: benna (sup. presa 4m ²)
Monitoraggio (anni)	Dati	Inizio trapianto: 2004 N. fasci trapiantati*: 306.592	Inizio trapianto: 2009 N. fasci trapiantati: 50.032	Inizio trapianto: 2014 N. zolle trasferite*: 340
	Monitoraggio	Prescritto: 5 anni (2005-2010) Volontario*: 4 anni (2015-2019) SEPOSSO: 1 anno (2018)	Prescritto: 5 anni (2009-2014) Volontario*: 2 anni (2015 e 2017) SEPOSSO: 1 anno (2018)	Prescritto: 3 anni (2014-2017) Volontario: - SEPOSSO: 1 anno (2018)
	Performance	812,5%	1.075%	45,1%

Conclusioni - L’analisi dei 32 decreti di VIA nazionale ha evidenziato che, dal 2000 al 2021, in Italia, molte opere di rilevante interesse pubblico, principalmente porti, gasdotti-oleodotti e rigassificatori, sono state e saranno realizzate con una incidenza negativa sulle praterie di *P. oceanica*. Per le opere individuate, le prescrizioni di trapianto sono sempre associate a quelle relative al loro monitoraggio. Solo in pochi decreti, le indicazioni di trapianto sono state divise in più prescrizioni con un elevato dettaglio tecnico. Dall’analisi dei tre progetti di VIA è emerso che la superficie di prateria danneggiata, non sempre specificata nelle prescrizioni, varia in funzione dell’incidenza delle diverse opere, con conseguenze diverse sull’habitat. A Civitavecchia, per la realizzazione della Darsena DEGM e delle due banchine ENEL, è stato prodotto lo sbancamento di una porzione della ZSC comprendente circa 80.000 m² della frammentata prateria. Nella ZSC di Ischia, lo scavo della trincea per l’approdo del gasdotto ha generato una perdita di circa 1600 m² di prateria e conseguente frammentazione di un habitat in buono stato. A Piombino, il dragaggio del canale di accesso al porto ha distrutto circa 1300 m² della parzialmente frammentata prateria antistante, compresa nel Sito di Interesse Nazionale (SIN). Inoltre, poiché la procedura di VINCA prevede che il ripristino dell’habitat avvenga prima dell’impatto, in questi casi, i fasci da trapiantare sono stati quelli provenienti dalle praterie soggette al danno. Sebbene a Piombino la prateria danneggiata non sia protetta dalla Rete Natura 2000, le prescrizioni relative al recupero del danno sono state analoghe agli altri casi. Infatti, le zolle di *Posidonia* sono state prelevate con una benna contemporaneamente al

dragaggio, e la superficie totale delle zolle prelevate equiparava quella del danno. Il sito di trapianto a Ischia e Piombino è prossimo all'area del danno mentre il danno generato nella ZSC di Civitavecchia è stato compensato nella ZSC di S. Marinella. Sebbene la selezione delle aree idonee al trapianto rappresenti un momento cruciale della pianificazione di tale attività (La Porta e Bacci, 2022), in nessun caso è stato possibile, per il proponente, scegliere tale area perché è stata specificata a priori nel decreto. A Civitavecchia è stato prescritto il trapianto di 10000 m² come una compensazione molto parziale del danno. Nei restanti casi, a prescindere dallo stato di conservazione della prateria danneggiata, il rapporto tra la superficie di prateria persa e quella di trapianto prescritta non è stato mai minore di 1:1, *sensu* Direttiva Habitat. Attraverso l'analisi dei dati dei monitoraggi S.E.POS.S.O, si deduce che tale rapporto non abbia garantito il ripristino delle condizioni originarie delle praterie danneggiate, in termini di superficie e di funzioni ecologiche. Infatti, anche se le elevate *performance* di Ischia mostrano, al 2018, un numero di fasci elevato rispetto al numero di fasci trapiantati, tale valore non eguaglia il numero totale dei fasci persi nel danno, neanche dopo 9 anni dal trapianto. Accanto ad aree in cui il trapianto ha generato una condizione assimilabile alla prateria naturale circostante, sono state osservate aree in cui l'attecchimento è stato nullo (perdita delle cornici) o estremamente basso (Bacci *et al.*, 2019). A Piombino, è risultato che solo la metà delle zolle monitorate era in uno stato di conservazione medio-alta (AA.VV., 2020), ma solamente ulteriori monitoraggi permetteranno di valutare l'esito dell'intervento nel tempo. L'elevata eterogeneità nei dettagli delle prescrizioni, a volte estremamente ridotti o poco chiari, a cui i proponenti si sono dovuti attenere, può aver contribuito a compromettere il buon esito del trapianto. Grazie all'analisi di dettaglio effettuata, successivamente, in tutti i 32 decreti di VIA selezionati, è stato possibile definire indicazioni tecniche e gestionali per la formulazione dei quadri prescrittivi dei decreti di VIA e VINCA, per migliorare la *performance* dei trapianti come misura di compensazione (Lucia *et al.*, 2022). Inoltre, il progetto LIFE S.E.POS.S.O ha raccolto le informazioni dettagliate e le modalità esecutive delle principali tecniche di trapianto impiegate lungo le coste italiane e nel Mediterraneo (Bacci e La Porta, 2022) e definito un *iter* procedurale per un'efficace ed efficiente pianificazione, realizzazione, monitoraggio e gestione dei trapianti di *P. oceanica* (La Porta e Bacci, 2022), utili strumenti sia per il recupero di praterie degradate sia per compensare i danni a porzioni di praterie a causa di opere sottoposte a VIA.

Bibliografia

- AA.VV. (2020) - *Action B.2 - Activity report about monitoring campaigns and their results*. LIFE SEPOSSO (LIFE16 GIE/IT/000761): 120 pp. <https://www.lifeseosso.eu>
- BACCI T., LA PORTA B. (2022) - *Manuale delle tecniche e delle procedure operative per il trapianto di Posidonia oceanica*. LIFE SEPOSSO (LIFE 16 GIE/IT/000761). GESI, Roma: 133 pp.
- BACCI T., SCARDI M., CALVO S., TOMASELLO A., VALIANTE L.M., DI NUZZO F., RAIMONDI V., ASSENZO M., MANCUSI C., PIAZZI L., CECCHI E., PENNA M., GENNARO P., TOMASSETTI P., PAMPALONE V., BULLERI C., SOZZI F., ZENONE A., BERTASI F., TARGUSI M., PIAZZI A., LA PORTA B. (2019) - Il Life S.E.POS.S.O. monitora i trapianti di *Posidonia oceanica* (L.) Delile in Italia. *Biol. Mar. Mediterr.*: **26** (1): 132-135.
- 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.: 1-202.
- LA PORTA B., BACCI T. (2022) - *Manuale per la pianificazione, realizzazione e monitoraggio dei trapianti di Posidonia oceanica*. LIFE SEPOSSO (LIFE 16 GIE/IT/000761). GESI, Roma: 114 pp.
- LUCIA V., D'ANNA C., PACIONE T., PAGANELLI D., ZENONE A., BERTASI F., CACCIUNI A., BACCI T., LA PORTA B. (2022) - *Approfondimenti degli Indirizzi metodologici per la predisposizione dei quadri prescrittivi nei provvedimenti di VIA: struttura della condizione ambientale. Fattore ambientale "Biodiversità" Praterie di Posidonia oceanica - habitat 1120**. LIFE SEPOSSO (LIFE16 GIE/IT/000761): 27 pp.

V. PITACCO¹, M. MISTRI², M. ORLANDO-BONACA¹, C. MUNARI², B. MAVRIČ¹, L. LIPEJ¹

¹Marine Biology Station Piran, National Institute of Biology, Piran, Slovenia.

²Department of Chemical, Pharmaceutical and Agricultural Sciences, University of Ferrara, Italia.
Valentina.Pitacco@nib.si

HIDDEN MOLLUSC RICHNESS IN A SMALL PROTECTED TRANSITIONAL WATER BODY: IS THIS DIVERSITY AT RISKS?

LA RICCHEZZA MALACOLOGICA CHE SI NASCONDE IN UNA PICCOLA ZONA PROTETTA DI TRANSIZIONE: UNA DIVERSITÀ A RISCHIO?

Abstract - *Stjuža coastal lagoon represents an important site for mollusc diversity. A large amount of diversity was overlooked with the use of traditional sampling methods. The comparison with other Mediterranean lagoons showed that mollusc richness is higher than in other similar size or even bigger lagoons. This fact could be related to two main aspects: (i) the predominantly marine character of the lagoon, due to the small size and the very scarce freshwater inflow; and (ii) the presence of seagrasses and macroalgae with complex thalli, providing suitable a habitat for gastropods. No evident trend in average species richness was noticed in the time period from 2004 to 2019. This could be considered as a positive effect of conservation measures, but the recent modifications of vegetation cover could represent a potential threat for mollusc community in the future. Approaches combining different sampling methods and biological elements are fundamental for conservation planning.*

Key-words: *transitional waters, molluscs, protected areas, species richness, Adriatic Sea.*

Introduction - The Slovenian coast, located at the northern-eastern part of the Adriatic Sea, host only two small transitional water bodies, both of them man-made. One of them, the Stjuža lagoon, despite its artificial origin, was recognized as a site of great ecological importance for the presence of halophytic habitat types, classified as priority habitats by the Habitat Directive (Šajna and Kaligarič, 2005). Currently it is a Protected Area inside the Strunjan Nature Park. Biodiversity is a major goal of conservation, and is used as an indicator to monitor the conservation of ecosystem properties, such as health or ecological status (Basset *et al.*, 2008). Species richness, in particular, is a commonly used descriptor of health of these ecosystems (Sabetta *et al.*, 2007). Nevertheless, it is known that this parameter is subjected to the influence of different environmental factors, so that evaluations of the ecological status based on species richness has to be scaled and compared with reference values. For transitional waters many factors are known to influence species richness, and among them there are the typology of the transitional water body (WFD, National Italian regulations) and the size of the lagoon (Sabetta *et al.*, 2007). To date, no threshold values have been established for Slovenian transitional waters. As a first step to establish reference values, the present work focused on mollusc diversity. The aim was to locate the current mollusc richness in the Stjuža lagoon within a wider framework in both space, comparing data with other Mediterranean lagoons, and time, comparing results of different sampling campaigns and historical data. The bionomic affinity was calculated together with species richness, for a characterization of the water body.

Materials and methods - The complete checklist of mollusc assemblages in the Stjuža lagoon is the results of a combination of different methods used by different authors in different years (1974, 2004, 2008, 2019) including box corer, van Veen grab, dredge, visual census and video recording. The use of van Veen grab and box corer implied the fixation of samples with 4% formaldehyde, staining with rose Bengal after sieving through 0.5 mm mesh. With the other methods samples were analysed in vivo

as much as possible. Only data obtained with van Veen grab and box corer were used for subsequent calculations. Data of mollusc richness from 34 Mediterranean lagoons were collected from 34 main papers. Some of them provided checklists resuming results of other papers, and some provided data for more than one lagoons. Lagoons were selected according to the following criteria: (i) availability of information on sampling methods and design, (ii) the comparability of methods used, (iii) cumulative sampling effort (in terms of number of samples and sampling occasions) proportional to the size of the lagoon (in some cases more than one paper per lagoon was needed). The relationship between the surface area of each lagoon and total species richness of molluscs, richness of bivalves, and richness of gastropods were calculated using Spearman correlation coefficient (r_s) and subsequently, when significant relation were observed, a linear regression on log-transformed data, following Arrhenius Species-Area Relationship model (Arrhenius, 1921). The use of SAR model for transitional waters was already successfully tested by Sabetta *et al.* (2007). Temporal trend of mollusc richness and bionomic affinity was analysed. Bionomic percentage affinity (A%) was calculated following Bettoso *et al.* (2010), considering characteristic species according to Pérès and Picard (1964).

Results - The diversity of mollusc assemblages in the Stjuža lagoon is very high. With the used of multiple methods 99 taxa were recorded: 25 bivalves, 72 gastropods, and 2 chitons. Considering only results obtained with box corer and Van Veen grab, 53 species were recorded, 24 bivalves and 29 gastropods. The difference was mainly due to the presence of many species of heterobranchs, which were not detected with traditional sampling methods, such as box corer and van Veen grab. A significant relationship ($p < 0.05$) was observed between the (surface) area of the analysed Mediterranean lagoons and the species richness of molluscs ($r_s = 0.462$), bivalves ($r_s = 0.376$) and gastropods ($r_s = 0.393$). Nevertheless, mollusc richness of Stjuža showed a clear deviation from the expected values obtained with SAR model (Fig. 1). Mollusc richness was much higher than in lagoons of comparable size such as Fondi (6 species), Lungo (7 species), Monaci (4 species) lagoons, but also higher than bigger lagoons such as Sacca di Goro (16 species) and Valli di Comacchio (10 species). A similar pattern was observed considering bivalve and gastropod richness separately, but this deviation from the expected richness was more marked for gastropods than for bivalves. The average species richness per sample was not significantly different among 2004 (12 ± 4 SD), 2008 (18 ± 6 SD) and 2019 (13 ± 5 SD). Overall, 12 species exclusive or characteristic of a biocoenosis were found. Bionomic affinity (A%) showed a dominance of the elements of euryhaline and eurythermal biocoenosis (LEE) in brackish waters (34% in 2004, 26% in 2008, 19% in 2019), together with biocoenosis of muddy sands and muds in sheltered areas (SVMC, 39% in 2004, 20% in 2008, 20% in 2019%). Additionally in 2008 and 2019 the affinity for the biocoenosis of mud or sandy mud in brackish waters (SVLE) was 16% and 14% respectively, due to the presence of the gastropod *Ecrobia ventrosa* (Montagu, 1803). Species characteristic of other more typically marine biocoenoses were also present: *Lepidochitona caprearum* (Scacchi, 1836) of the biocoenosis of lower mediolittoral rocks (RMI), *Tritia neritea* (Linnaeus, 1758) of the biocoenosis of the fine sands in very shallow water (SFS), *Parvicardium exiguum* (Gmelin, 1791) of very polluted waters (IETP), and *Abra alba* (Wood, 1802) of the biocoenosis of Coastal Terrigenous Mud (VTC).

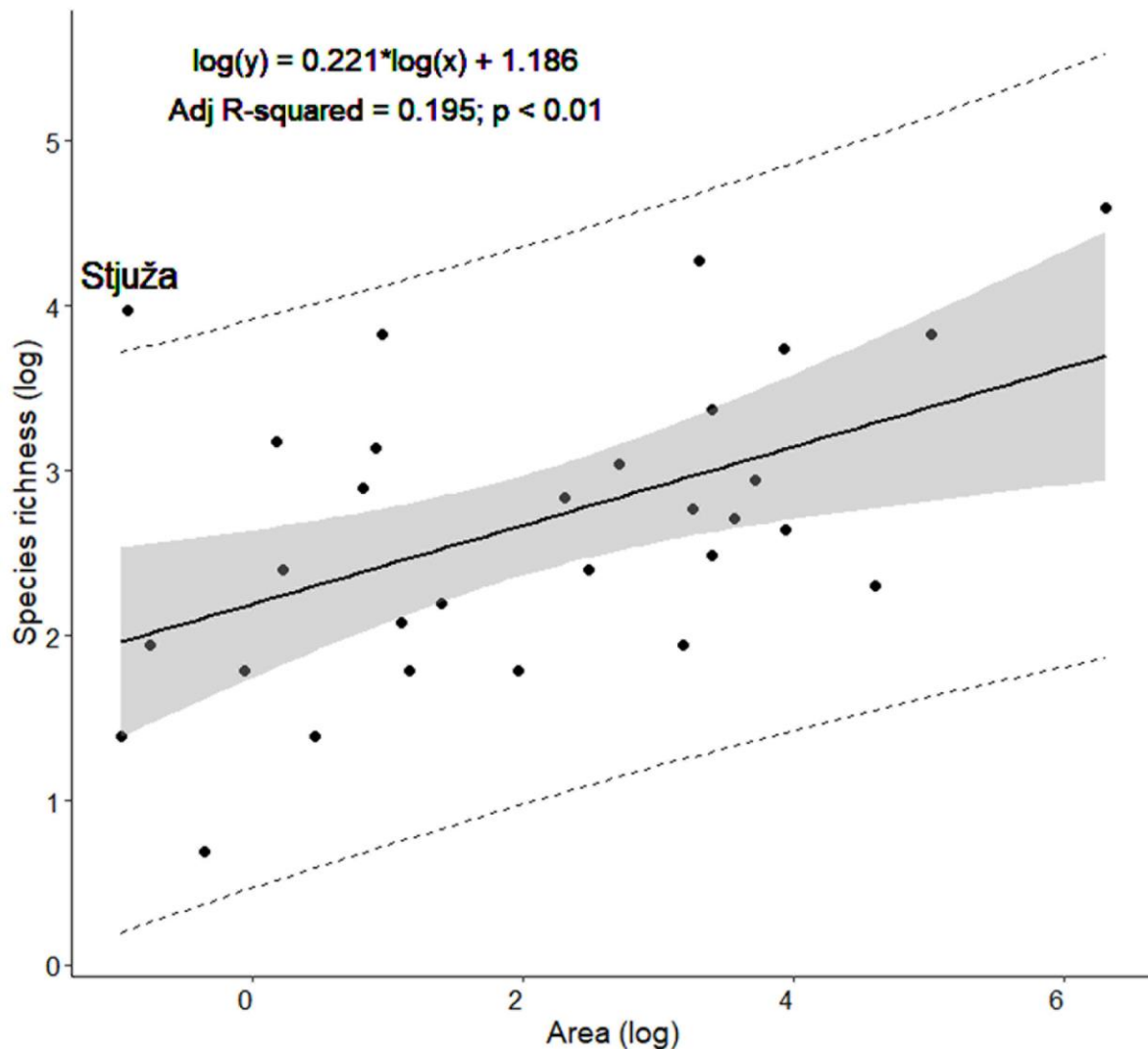


Fig. 1 - Relationship between the richness of mollusc assemblages and the area (ha) of each of the 34 considered lagoon. The regression line calculated on log-transformed data. Grey band=95% confidence interval; dashed line=prediction interval.

Relazione tra la ricchezza malacologica e l'area (in ettari) di ciascuna delle 34 lagune considerate. Linea di regressione calcolata sui dati in scala logaritmica. Banda grigia=intervallo di confidenza 95%; linea tratteggiata=intervallo di predittività.

Conclusions - The Stjuža lagoon represents an important site for mollusc diversity, despite its limited extension and the artificial character. A large amount of diversity was overlooked with the use of traditional sampling methods, and this was because most heterobranch gastropods can be detected and accurately determined only in vivo. The Species Area Relationship model confirmed the importance of scaling mollusc richness in transitional waters according to the size of the lagoon, however, at the same time, pointed out the peculiarity of Stjuža, where the richness of mollusc was higher than in others Mediterranean lagoons of similar size or even bigger. A possible bias in this comparison could be related to a different expertise for molluscs of authors analysing other lagoons. Nevertheless, two elements could explain such a high richness. The first one could be the mixed/marine typology of the lagoon, indicated by the low affinity of mollusc assemblages for LEE biocoenosis. The second one could be the presence of seagrass meadows and macroalgal belts. Both of them are known to support rich invertebrate diversity, so their disappearance or reduction leads to a decrease of invertebrate richness (Sfriso *et al.*, 2001). In the study area, the dominant seagrasses

Cymodocea nodosa (Ucria) Ascherson and *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande at few sites, and macroalgae such as *Rytiphlaea tinctoria* (Clemente) C. Agardh with complex well developed thalli, provided suitable habitat for molluscs, gastropods in particular. The stability of average mollusc richness values observed from 2004 to 2019 could be a positive effect of conservation measures. Nonetheless, such a high diversity could be at risk. A modification of vegetation coverage was observed in the studied period, with the decrease of seagrasses and the change in macroalgal species, which represents a potential threat for mollusc community. Moreover, transitional waters are known to be vulnerable to climate changes (Newton *et al.*, 2014). In a near future sea level rise could favour even more the marine component of the lagoon, with the risk of disappearance for typically brackish mollusc species.

References

- ARRHENIUS O. (1921) - Species and area. *J. Ecol.*, **9** (1): 95-99.
- BASSET A., SABETTA L., SANGIORGIO F., PINNA M., MIGONI D., FANIZZI F., BARBONE E., GALUPPO N., FONDA UMANI S., REIZOPOULOU S., NICOLAIDOU A., ARVANITIDIS C., MONCHEVA S., TRAJANOVA A., GEORGESCU L., BEQIRAJ S. (2008) - Biodiversity conservation in Mediterranean and Black Sea lagoons: a trait-oriented approach to benthic invertebrate guilds. *Aquat. Conserv.*, **18** (S1): 4-15.
- BETTOSO N., ALEFFI I.F., FARESI L., ROSSIN P., MATTASSI G., CRIVELLARO P. (2010) - Evaluation on the ecological status of the macrozoobenthic communities in the Marano and Grado Lagoon (northern Adriatic Sea). *Ann. Ser. Hist. Nat.*, **20** (2): 193-206.
- NEWTON A., ICELY J., CRISTINA S., BRITO A., CARDOSO A.C., COLIJN F., DALLA RIVA S., GERTZ F., HANSEN J.W., HOLMER M., IVANOVA K., LEPPÄKOSKI E., MELAKU CANU D., MOCENNI C., MUDGE S., MURRAY N., PEJRUP M., RAZINKOVAS A., REIZOPOULOU S., PÉREZ-RUZAF A., SCHERNEWSKI G., SCHUBERT H., CARR L., SOLIDORO C., VIAROLI P., ZALDÍVAR J.-M. (2014) - An overview of ecological status, vulnerability and future perspectives of European large shallow, semi-enclosed coastal systems, lagoons and transitional waters. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **140**: 95-122.
- PÉRÈS J.-M., PICARD J. (1964) - Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, **31** (47): 1-137.
- SABETTA L., BARBONE E., GIARDINO A., GALUPPO N., BASSET A. (2007) - Species-area patterns of benthic macro-invertebrates in Italian lagoons. *Hydrobiologia*, **577**: 127-139.
- ŠAJNA N., KALIGARIČ M. (2005) - Vegetation of the Stjuža Coastal Lagoon in Strunjan Landscape Park (Slovenia): a draft history, mapping and nature-conservancy evaluation. *Ann. Ser. Hist. Nat.*, **15** (1): 79-90.
- SFRISO A., BIRKEMEYER T., GHETTI P.F. (2001) - Benthic macrofauna changes in areas of Venice lagoon populated by seagrasses or seaweeds. *Mar. Environ. Res.*, **52** (4): 323-349.

Y. TOMIO¹, A. BUOSI¹, A.-S. JUHMANI¹, A.A. SFRISO², A. SFRISO¹¹Department of Environmental Sciences, Informatics & Statistics, Ca' Foscari University of Venice, Italy.²Department of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Ferrara, Italy.

yari.tomio@unive.it

AGGIORNAMENTO DELLA PRODUZIONE PRIMARIA DI FANEROGAME ACQUATICHE IN LAGUNA DI VENEZIA

UPDATING OF SEAGRASS PRIMARY PRODUCTION IN THE VENICE LAGOON

Abstract - The Venice Lagoon is now a regulated lagoon with closures of the mouths of communication with the sea through the MoSE gates in the event of waters above the normal high-water level. For this reason, between January 2019 and January 2020, a study was carried out to determine the annual net primary production of the seagrasses *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asherson, *Zostera marina* Linnaeus and *Zostera noltei* Hornemann in three lagoon stations where previous data were already available (Ca' Roman colonized by *Z. marina*, Santa Maria del Mare by *C. nodosa* and Petta di Bò by *Z. noltei*). Seagrasses were sampled monthly (6 sub-samples collected with a 20*25 cm sampler) to detect fresh and dry biomasses of shoots, rhizomes and dead parts, shoot length and number of leaves per shoot. Net shoot production was determined bi-monthly by the leaf-marking technique, whereas rhizomes growth was calculated monthly by the biomass variation method. Seagrasses showed different maximum growth period according to their autoecology: *C. nodosa*, a subtropical species that grows only in the warm season, reached in August a biomass of 7067 g fwt m⁻² while in the cold season the biomass was almost completely composed by roots-rhizomes; *Z. marina* and *Z. noltei* grew during all the year reaching the highest biomass in June (4830 g fwt m⁻²) and in July (3628 g fwt m⁻²), respectively. As regards the net primary production, *C. nodosa* and *Z. marina* showed similar values (12554 g fwt m⁻² y⁻¹ and 12981 g fwt m⁻² y⁻¹), while *Z. noltei* showed almost halved value (and 6647 g fwt m⁻² y⁻¹). Overall, these results are similar to those found in the past, between the '90s and early 2000s.

Key-words: seagrasses, primary production, *C. nodosa*, *Z. marina*, *Z. noltei*, Venice Lagoon.

Introduzione - Le fanerogame sono un gruppo di Angiosperme monocotiledoni che si sono adattate a vivere in ambienti marini e lagunari in condizioni totalmente sommerse, fino a 50 m di profondità a seconda della trasparenza dell'acqua. Le fanerogame rappresentano uno dei produttori primari di maggiore importanza negli ambienti marino-costieri, con una produzione primaria netta stimata in 27,2±5,8 mmol O₂ m⁻² giorno⁻¹ (Duarte *et al.*, 2005). Il lavoro è inserito all'interno del programma di monitoraggio del progetto Corila Venezia2021. Il programma di ricerca accompagna la fase di collaudo delle opere di regolazione della marea note come MoSE: un sistema di paratoie poste a livello delle tre bocche di porto che permettono alla laguna di Venezia di comunicare col Mar Adriatico. L'opera è stata realizzata al fine di proteggere Venezia e la sua laguna da eventi di marea eccezionali, rendendola quindi una laguna regolata. Lo studio è stato quindi condotto al fine di determinare la produzione primaria netta (PPN) di *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asherson, *Zostera marina* Linnaeus e *Zostera noltei* Hornemann in tre stazioni della laguna di Venezia dove erano già disponibili altri dati al fine di aggiornare i dati di produzione a fronte anche delle mappature prodotte nel 2018 (Sfriso *et al.*, 2021).

Materiali e metodi - Le tre stazioni selezionate (Fig. 1) sono caratterizzate da dense e stabili praterie monospecifiche: Ca' Roman con la specie *Z. marina*, Petta di Bò con la specie *Z. noltei* e Santa Maria del Mare con la specie *C. nodosa*. In ciascuna stazione sono stati eseguiti campionamenti mensili tra gennaio e dicembre 2019 per la determinazione di peso fresco e peso secco di apparato fogliare, apparato rizomiale e parti morte attraverso il campionamento di almeno 6 zolle di area nota (20×25 cm)

(Short e Duarte, 2001). I tassi di accrescimento fogliare sono stati valutati attraverso forature progressive a livello della guaina fogliare (*leaf-marking technique*) di almeno 20 fasci fogliari (Short e Duarte, 2001), misurandone l'accrescimento di ciascuna foglia ogni 15 giorni. L'accrescimento rizomiale invece è stato valutato come variazione positiva delle biomasse fresche mensili.

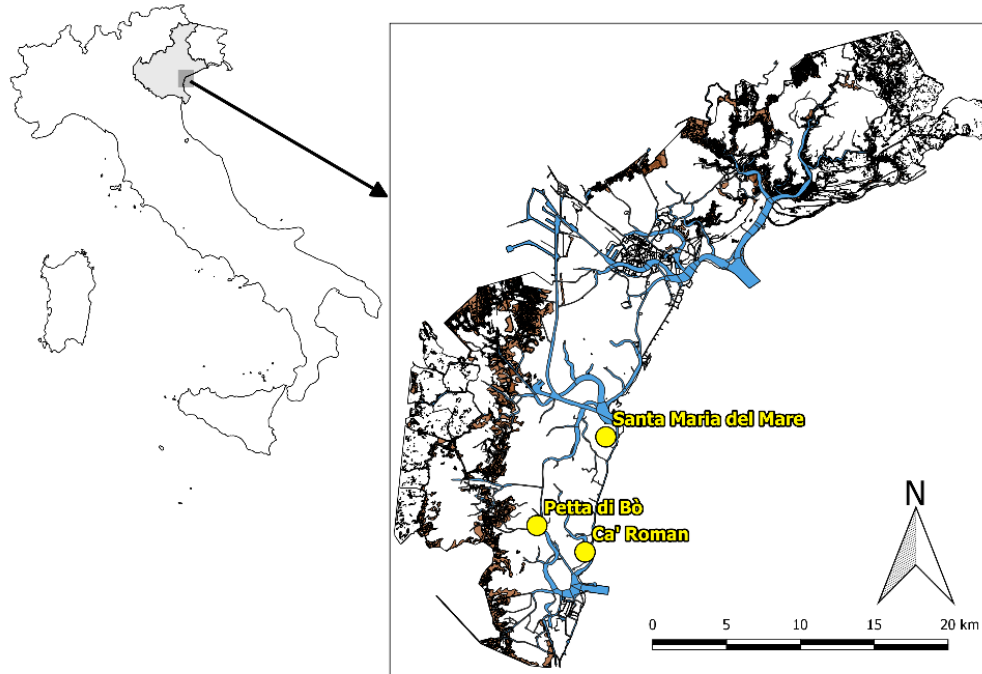


Fig. 1 - Stazioni di campionamento nella laguna di Venezia.
Sampling stations in Venice Lagoon.

Risultati - Le fanerogame presentano diversi andamenti annuali, a seconda dei loro periodi di crescita e della loro autoecologia. *C. nodosa* (Fig. 2), una specie sub-tropicale che cresce solamente nelle stagioni primaverile e estiva, ha raggiunto il suo picco massimo nel mese di agosto ($7067 \text{ g fwt m}^{-2}$), mentre nelle stagioni autunno-invernali la sua biomassa era quasi interamente rappresentata da radici e rizomi. La Produzione Primaria Netta (PPN) di *C. nodosa* è stata misurata in $12554 \text{ g fwt m}^{-2} \text{ anno}^{-1}$ (Fig. 3), un valore molto simile a quello di *Z. marina* ($12981 \text{ g fwt m}^{-2} \text{ anno}^{-1}$) (Fig. 4).

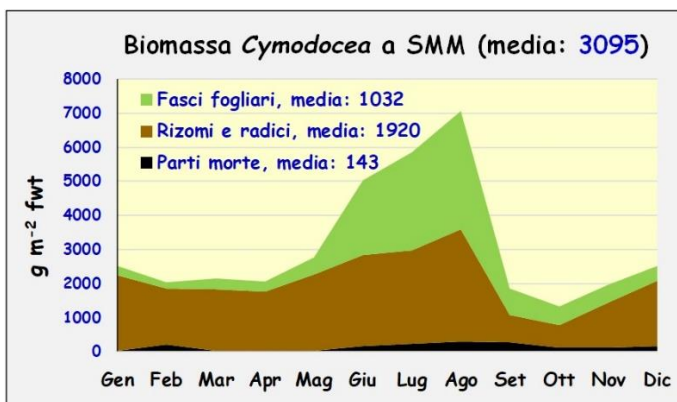


Fig. 2 - Andamento annuale della biomassa di *C. nodosa*.
*Annual variations of *C. nodosa* biomass.*

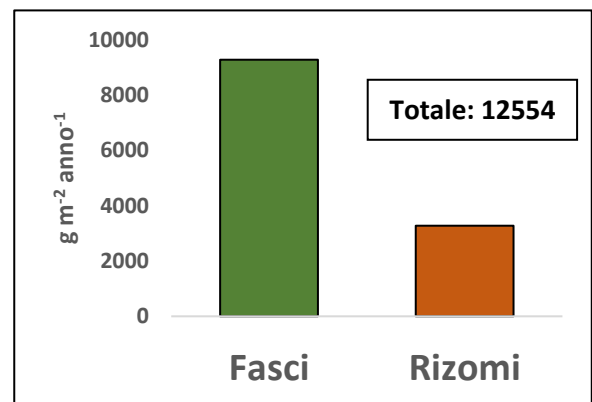


Fig. 3 - Produzione Primaria Netta di *C. nodosa*.
*Net Primary Production of *C. nodosa*.*

Questa specie tuttavia cresce tutto l'anno e ha mostrato un picco massimo nel mese di giugno (4830 g fwt m⁻²) (Fig. 5).

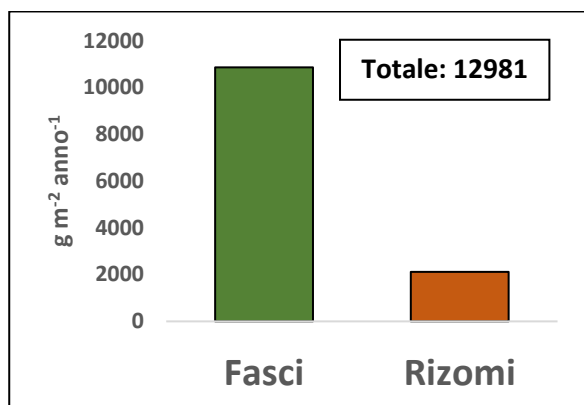


Fig. 4 - Produzione Primaria Netta di *Z. marina*.
Net Primary Production of *Z. marina*.

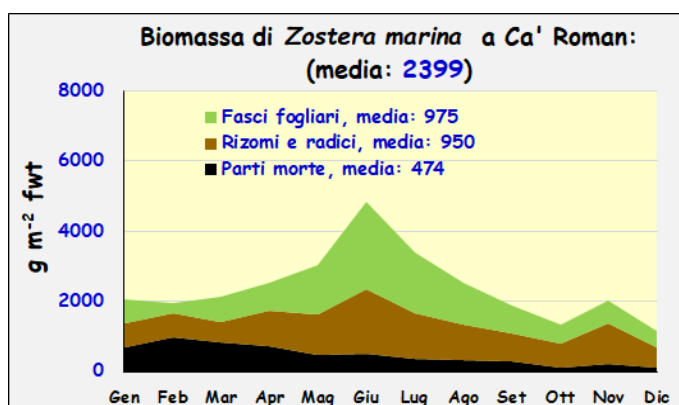


Fig. 5 - Andamento annuale della biomassa di *Z. marina*.
Annual variations of *Z. marina* biomass.

Z. noltei presenta un andamento molto simile a *Z. marina*, tuttavia essendo una specie in grado di tollerare temperature più elevate (fino a 37 °C, Massa *et al.*, 2009), ha presentato il suo picco massimo nel mese di luglio (3628 g fwt m⁻²) (Fig. 6). La PPN di *Z. noltei* presentava tuttavia valori quasi dimezzati (6647 g fwt m⁻² anno⁻¹) essendo una specie di minori dimensioni (Fig. 7).

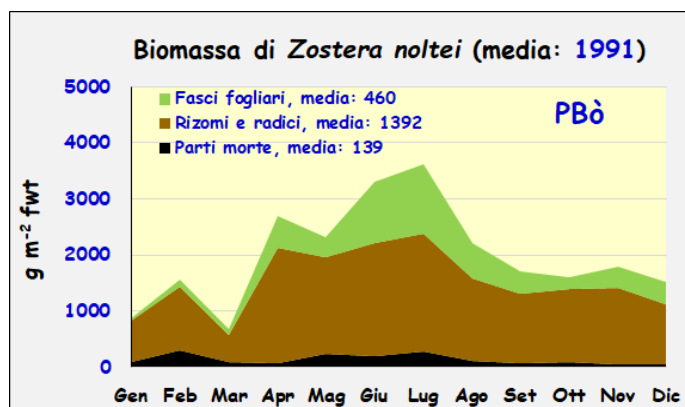


Fig. 6 - Andamento annuale delle biomasse di *Z. noltei*.
Annual variations of biomasses of *Z. noltei*.

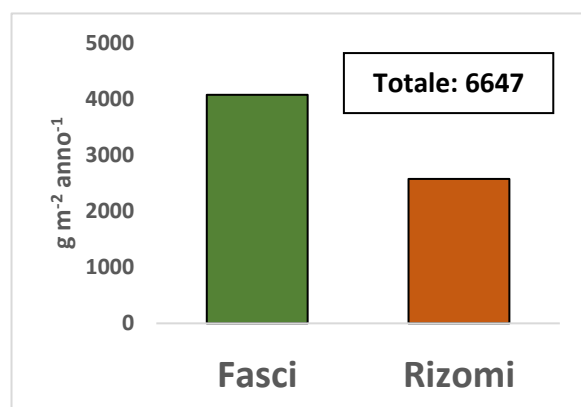


Fig. 7 - Produzione Primaria Netta di *Z. noltei*.
Net Primary Production of *Z. noltei*.

Se invece confrontiamo la mappatura delle diverse specie effettuata nel 2018 (Sfriso *et al.*, 2021) con quella del 2003 (Sfriso e Facca, 2007), si può notare come le fanerogame abbiano aumentato la loro copertura con variazioni percentuali comprese tra il 37% (*C. nodosa*), il 44% (*Z. marina*) e il 191% (*Z. noltei*) (Tab. 1). I dati di produzione annuale e massima biomassa sono stati utilizzati per calcolare i rapporti P/B di ciascuna specie (2,29 per *C. nodosa*, 2,69 per *Z. marina* e 1,38 per *Z. noltei*) e utilizzati poi per stimare la PPN nell'intera laguna (in ktonnellate) (Tab. 1). Anche in questo caso si può notare come vi siano stati incrementi nella PPN tra il 18% di *C. nodosa* e il 209% di *Z. noltei*.

Tab. 1 - Copertura e PPN in laguna di Venezia per ciascuna specie secondo la mappatura 2018.
Seagrass cover and net primary production in Venice Lagoon for each species according to 2018 mapping.

Specie	Anno	Copertura (km ²)	PPN (kton)
<i>C. nodosa</i>	2003	23,6	406
	2018	32,4	477
	Incremento (%)	37	18
<i>Z. marina</i>	2003	26,1	369
	2018	37,6	469
	Incremento (%)	44	27
<i>Z. noltei</i>	2003	6,2	21.7
	2018	18,1	67.2
	Incremento (%)	191	209

Conclusioni - Le variazioni e produzioni di biomassa in singole stazioni su base annuale sono in linea con quelli presenti in precedenti studi condotti nella laguna di Venezia (Sfriso e Ghetti, 1998; Sfriso e Marcomini, 1999) tra la fine degli anni '90 e l'inizio degli anni 2000. Tuttavia su scala spaziale le fanerogame acquatiche tra il 2003 e il 2018 hanno mostrato una forte espansione principalmente per la diminuzione delle pressioni antropiche, come la pesca alle vongole che risospendeva elevate quantità di sedimenti, e delle concentrazioni di fosforo, ed azoto soprattutto nella colonna d'acqua ed inizialmente anche nei sedimenti superficiali (Sfriso *et al.*, 2020, 2021). Un notevole contributo alla diffusione di queste specie è stato dato dal progetto LIFE SeRESTO (LIFE12 NAT/IT/000331) che ha permesso la colonizzazione di circa 15 km² nella parte più settentrionale del bacino nord della laguna di Venezia.

Bibliografia

- DUARTE C.M., MIDDELBURG J.J., CARACO N. (2005) - Major role of marine vegetation on the oceanic carbon cycle. *Biogeosciences*, **2** (1): 1-8.
- MASSA S.I., ARNAUD-HAOND S., PEARSON G.A., SERRÃO E.A. (2009) - Temperature tolerance and survival of intertidal populations of the seagrass *Zostera noltii* (Hornemann) in Southern Europe (Ria Formosa, Portugal). *Hydrobiologia*, **619** (1): 195-201.
- SFRISO A., FACCA C. (2007) - Distribution and production of macrophytes and phytoplankton in the lagoon of Venice: comparison of actual and past situation. *Hydrobiologia*, **577** (1): 71-85.
- SFRISO A., GHETTI P.F. (1998) - Seasonal variation in biomass, morphometric parameters and production of seagrasses in the lagoon of Venice. *Aquat. Bot.*, **61** (3): 207-223.
- SFRISO A., MARCOMINI A. (1999) - Macrophyte production in a shallow coastal lagoon. Part II: Coupling with sediment, SPM and tissue carbon, nitrogen and phosphorus concentrations. *Mar. Environ. Res.*, **47** (3): 285-309.
- SFRISO A., BUOSI A., TOMIO Y., JUHMANI A.-S., CHIESA S., GRECO M., GAZZOLA C., MISTRI M., MUNARI C., SFRISO A.A. (2020) - Sediment carbon variations in the Venice Lagoon and other transitional water systems of the Northern Adriatic Sea. *Water*, **12** (12): 3430.
- SFRISO A., BUOSI A., TOMIO Y., JUHMANI A.-S., WOLF M. (2021) - WP 3.3.1 - Aggiornamento della trofia, della speciazione e produzione primaria delle macrofite, impatto dei tassi di sedimentazione e dei processi di erosione/sedimentazione in laguna di Venezia. In: Programma di ricerca scientifica per una laguna "regolata" - Linea di ricerca 3.3. Produzione primaria, comunità microbica, bentonica, planctonica e nectonica lagunare. IV Rapporto Tecnico-Scientifico Periodo 01/7/2020-31/12/2020. CORILA Venezia 2021.
- SHORT F.T., DUARTE C.M. (2001) - Methods for the measurement of seagrass growth and production. In: Short F.T., Coles R.G. (eds), *Global seagrass research methods*. Elsevier, Amsterdam: 155-182.

Questa ricerca è stata condotta nell'ambito del progetto Venezia 2021: Programma di Ricerca Scientifica per una laguna regolata, finanziato dal Consorzio Inter-Universitario CORILA.

G. VISCONTI¹, I. CAMBERA¹, M. ARCULEO²¹Area Marina Protetta "Isole Pelagie", Lampedusa (AG), Italia.²Dip. Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STeBiCeF), Università di Palermo, Italia.
giulia.visconti@gmail.com

MONITORING AND MANAGEMENT OF NESTING SITES OF *CARETTA CARETTA* (CHELONIDAE) IN THE MPA PELAGIE ISLANDS

MONITORAGGIO E GESTIONE DEI SITI DI OVODEPOSIZIONE DI *CARETTA CARETTA* (CHELONIDAE) NELLA AMP DELLE ISOLE PELAGIE

Abstract - During the 2018 and 2019 were monitored 5 nests in the Pozzolana di Ponente beach of Linosa Island. A total of 318 eggs were recovered and only 89 turtle were emerged. The 70% of mortality was observed and >50% of hatching showed anomalies on carapacial scutes or other anomalies (20%) as paws and beak deformation. Temperature and humidity of nests was monitored by datalogger. During incubation period, temperature ranged between 30 °C to 35 °C and humidity was always higher than 90% saturation. The high egg hatching failure rates and high anomalies suggest to adopt protocols for the conservation and correct management of the egg laying sites.

Key-words: *Caretta caretta*, nest, temperature, egg hatching failure, anomalies.

Introduction - Although *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) in the Mediterranean Sea is widely studied (Caracappa *et al.*, 2019 and references therein), little is known about the characteristics of nesting and the hatching conditions of the eggs. The nesting area is poorly investigated, referring in particular to the variation in incubation temperatures of the eggs and the humidity present in the incubation chamber as well as the amount of moisture retained in the sediment. Temperature is important for the sex ratio as well as the percentage of eggs that can successfully complete the embryo's development (Wyneken and Lolavar, 2015). The embryonic development of the eggs are potential influenced by distance from the sea, tidal flow, amount of rains, sediment granulometry, presence of vegetation, etc. The general increase of temperature due to the global climatic change and consequently the sea level rise and coastal erosion can contribute to change the coastal profile by destroying or reducing beaches where loggerhead sea turtle have been used as nesting sites. The aim of this paper is to study how some environment parameters can influence the hatching success of loggerhead sea turtle in the MPA of Pelagie Islands.

Materials and methods - Monitoring of nesting sites was carried out in the field both day and night from 1st of June to the end of hatching around 1st of October. Distance from the coastline of the chamber was recorded as well as temperature and humidity by a datalogger (1.3 cm) inserted near the nest at 5 and 30 cm of deep. Data were downloaded periodically during whole incubation period. During incubation period, each nest was protected by safety support to avoid loss of nest (flooding, tidal flow) or increasing temperature. For each turtle emerged biometric measures were recorded: carapacial length and width (0.01 mm), weight (0.01 gr), number of carapacial scutes, pre-frontal scales and individual structural anomalies.

Results - 5 nests of *C. caretta* were monitored at Linosa Island: 3 nests in 2018 and 2 in 2019. In both year hatchling occurred between 43 and 48 days. During the 2018 a total of 216 eggs were recovered and 44 turtle emerged, while in the 2019 a total of 199 eggs recovered and 45 turtle emerged (Tab. 1).

Tab. 1 - Monitoring of nests at Linosa Island during 2018-2019.
Monitoraggio dei nidi nell'Isola di Linosa dal 2018 al 2019.

Year	Nest	Incubation (dd)	Hatchling (dd)	N. Eggs	N. Emerged
2018	A	48	1	64	4
2018	B	43	4	80	30
2018	C	44	3	70	10
2019	D	47	3	103	10
2019	E	44	7	96	35

Temperature during incubation period ranged between 30 °C and 34 °C with a mean of 32.8 °C ± 1.66 s.d. Some peak of temperature were recorded in spite of safety cover, to reach 35 °C for few hours and in several days. Baby turtles in 2018 showed a mean carapacial length of 3.66±0.17 s.d., width of 2.68±0.13 s.d., weight of 14.03±1.47 s.d. In 2019 turtles showed a mean: carapacial length of 3.85±0.13 s.d., width 2.97±0.13 s.d. (Fig. 1A), weight 13.9±1.26 s.d. (Fig. 1B).

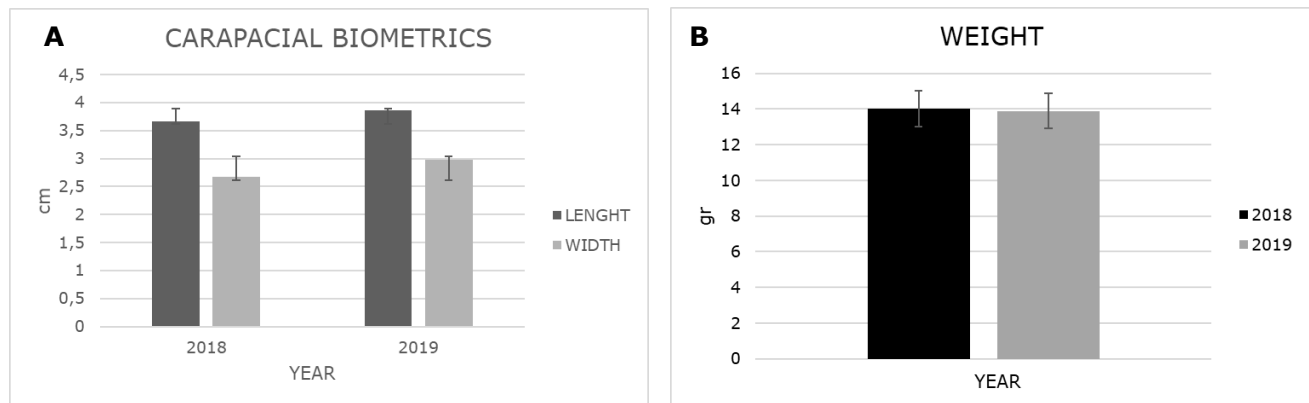


Fig. 1 - A) Carapacial biometrics and B) weight of baby turtles of *C. caretta*.

A) Biometrie del carapace e B) peso dei giovanili di C. caretta.

Morphostructural anomalies occurred in high percentage >50% in both year. The major anomaly was attributable to the number of carapacial scutes. A 20% of sampling showed structural body anomalies as posterior bifid paw and irregular beak (Fig. 2).



Fig. 2 - Some morphostructural anomalies in baby turtles of *C. caretta*.

Esempi di anomalie morfostrutturali riscontrati nei giovanili di C. caretta.

The results highlighted high mortality >70% in both year and elevate percentage of morphostructural anomalies (Fig. 3).

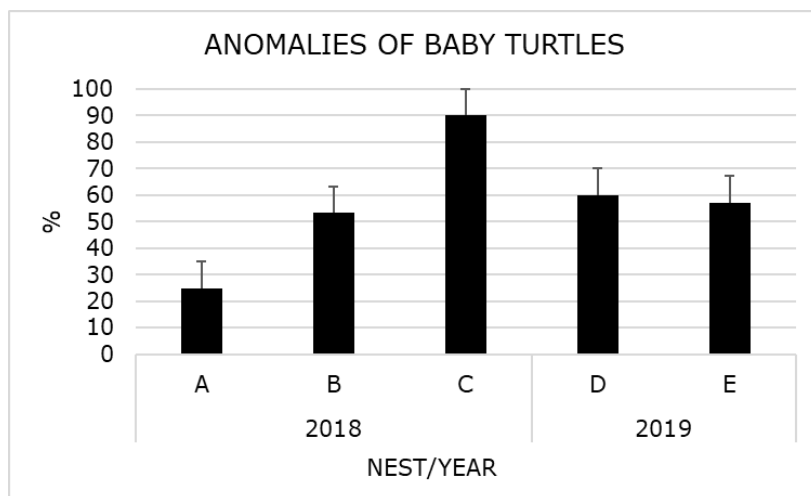


Fig. 3 - Percentage of morphostructural anomalies in baby turtles of *C. caretta*.
Percentuali delle anomalie morfostrutturali riscontrate nei giovanili di C. caretta.

It is quite well known that the carapacial anomalies (Caracappa *et al.*, 2016) and the alteration of the embryonic development are probably strictly correlated with the temperature and the quantity of water present in the substrate (Wyneken and Lolavar, 2015). Several turtle were observed in piping stage or not emerged, to underlying a possible influence of microclimate of nest chamber as high temperature and water saturation. The major part of undeveloped eggs showed micetes on the surface (Fig. 4).



Fig. 4 - Example of mortalities during nesting period: A) failure of hatching, piping stage; B) egg affected by micetes.
Esempi di mortalità durante il periodo di incubazione: A) fallimento di schiusa, stato di piping; B) uova affette da miceti.

Conclusions - Temperature and moisture of sediment are parameters that should be monitored, as they are able to affect embryonic development and consequently the hatching success. Elevate percentage of morphostructural anomalies recorded could be caused by an uncorrected embryonic development. A specific study on genetic is requested to identify potential influence by environment conditions. These aspect

faced in this project result essential to obtain nesting area profile to evaluate the potential nest success. Results show the necessity to identify shared best practices on monitoring and manage nesting areas, as pre survey on environmental profile, to forecast safety procedures and to guarantee the reproductive success of loggerhead sea turtle. It is necessary to improve the knowledge of influences by several environmental parameters, as nesting substrate, to individuate the best strategy to adopt at local level and to preserve turtle's nesting habitat from anthropic activities (Visconti *et al.*, 2022). MPAs network in the Mediterranean Sea is essential to improve data of *C. caretta* behaviour and reproductive success to assess the conservation status of species.

References

- CARACAPPA S., PERSICHETTI M.F., PIAZZA A., CARACAPPA G., GENTILE A., MARINEO S., CRUCITTI D., ARCULEO M. (2019) - Incidental catch of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) along the Sicilian coasts by longline fishery. *PeerJ*, **6**: e5392.
- CARACAPPA S., PISCIOTTA A., PERSICHETTI M.F., CARACAPPA G., ALDUINA R., ARCULEO M. (2016) - Nonmodal scutes patterns in the Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*): a possible epigenetic effect? *Can. J. Zool.*, **94** (5): 379–383.
- VISCONTI G., SCOPELLITI G., CALDARERI F., AGATE M., CAMBERA I., SULLI A., ARCULEO M. (2022) - Hatching success of *Caretta caretta* on a Mediterranean volcanic beach: impacts from environmental parameters and substrate composition. *J. Coastal Res.*, **38** (3): 603–612.
- WYNEKEN J., LOLAVAR A. (2015) - Loggerhead sea turtle environmental sex determination: implications of moisture and temperature for climate change based predictions for species survival. *J. Exp. Zool. Part B*, **324**: 295–314.

This study was supported by MedPAN (funded by Mava and Prince Albert II of Monaco foundations).

C. ALGIERI, S. NESCI, F. TROMBETTI, V. VENTRELLA, M. FABBRI, A. PAGLIARANI

Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie (DIMEVET), Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO), Italia.
alessandra.pagliarani@unibo.it

INSENSIBILITÀ ALL'IDROGENO SOLFORATO DELLE ATTIVITÀ ATPASICHE MITOCONDRIALI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

REFRACTORINESS TO HYDROGEN SULFIDE OF THE MITOCHONDRIAL ATPASE ACTIVITIES IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Abstract - The environmental poison sulfide at low concentrations acts as gastransmitter and can modify proteins. Sulfide effects were tested on gill mitochondria of *Mytilus galloprovincialis* where the Mg^{2+} -ATPase activity is far higher than the Ca^{2+} -ATPase activity. Both ATPases are different functioning modes of the F_1F_0 complex. While the mitochondrial Mg^{2+} -ATPase is universally known as the enzyme of life, the Ca^{2+} -ATPase may play a lethal role, being structurally involved in the mitochondrial permeability transition pore (mPTP), whose opening, promoted by Ca^{2+} increase, triggers cell death. Both ATPase activities are refractory to H_2S provided by the sulfide donor NaHS at micromolar concentrations in spite of the mPTP desensitization to Ca^{2+} input by NaHS, proven in mussel midgut gland mitochondria. The results suggest different regulation modes of the mPTP in different taxa. The insensitivity to micromolar sulfide concentrations may help mussels to cope with environmental sulfide, which could only delay mPTP opening, with poor effects on survival.

Key-words: *Mytilus galloprovincialis*, gill mitochondria, hydrogen sulfide, ATPase activities, permeability transition pore.

Introduzione - La bioenergetica mitocondriale del mitilo *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), una delle specie di molluschi bivalvi più utilizzate nell'acquacoltura nazionale, è ancora in gran parte da chiarire, anche se alcuni studi hanno evidenziato alcune somiglianze con i mammiferi (Nesci *et al.*, 2013). Concentrazioni elevate di H_2S , generalmente associate ad ipossia, si riscontrano a vari livelli della colonna d'acqua, accentuate dall'allevamento intensivo e dal riscaldamento globale (García *et al.*, 2012). L' H_2S , notoriamente tossico, ma di cui sono stati anche riportati effetti benefici nei mammiferi a seconda della dose, ha tra i principali bersagli il mitocondrio (Bagarinao, 1992). In acqua l' H_2S si dissocia reversibilmente formando gli anioni HS^- e S^{2-} , in proporzioni dipendenti dal pH e dalla temperatura e difficilmente quantificabili. Il termine solfuro correntemente comprende tutte e tre le forme. A pH fisiologico la forma indissociata H_2S costituisce circa il 30% dei solfuri totali ed essendo priva di carica e abbastanza lipofila è considerata la forma che più facilmente può attraversare le membrane biologiche, producendo effetti sulle proteine. Anche se a pH alcalino, come in acqua di mare, aumenta il contributo delle forme anioniche, queste difficilmente possono attraversare le membrane. Gli effetti dei solfuri sono generalmente attribuiti a modificazioni post-traduzionali della cisteina i cui gruppi tiolici (-SH) possono essere modificati chimicamente, e ad alterazioni degli equilibri redox. Finora sono stati riportati effetti controversi sul ruolo pro-ossidante e antiossidante dell' H_2S . La Mg^{2+} -ATPasi e la Ca^{2+} -ATPasi sono entrambe sensibili all'oligomicina, l'inibitore specifico della F_1F_0 -ATPasi mitocondriale (EC 3.6.3.14), quindi sono modalità di attivazione diversa dello stesso complesso enzimatico. Mentre la Mg^{2+} -ATPasi è considerata l'enzima della vita, perchè forma ATP, quando il cofattore è Ca^{2+} che si lega all'enzima occupando il sito del cofattore naturale Mg^{2+} , come accade in presenza di elevate concentrazioni di Ca^{2+} nella matrice mitocondriale, si trasforma nell'enzima della morte, perchè dissipa ATP (l'idrolisi di ATP, ma non la sintesi, è supportata da Ca^{2+}) ed è implicata nella formazione del poro di transizione della permeabilità mitocondriale (mPTP) (Nesci *et al.*, 2013). L'mPTP è un

canale che permeabilizza il mitocondrio ad acqua e soluti e porta a morte cellulare, ma la sua esistenza negli invertebrati è tuttora controversa e probabilmente correlata e regolata dalla composizione dell'intorno lipidico di membrana (Chinopoulos, 2018). Nei mitocondri di mitilo l'acido docoesenoico (22:6 n-3) costituisce il 70% del totale degli acidi grassi della cardiolipina (Fiorini *et al.*, 2012), un fosfolipide di membrana implicato nella regolazione delle funzioni mitocondriali che interagisce con il Ca^{2+} . La composizione peculiare della cardiolipina di mitilo renderebbe le membrane mitocondriali particolarmente sensibili all'ossidazione (Miranda *et al.*, 2020). In questo studio, dopo aver caratterizzato le due attività ATPasiche mitocondriali attivate dal cofattore naturale Mg^{2+} o dal Ca^{2+} nelle branchie, è stato valutato l'effetto di concentrazioni micromolari di NaHS, utilizzato come donatore di H_2S . Le branchie per la loro attività di filtrazione sono particolarmente esposte ai contaminanti ambientali facendo parte dell'interfaccia organismo-ambiente. I possibili effetti dell' H_2S a livello mitocondriale potranno ampliare le conoscenze sul ruolo biologico dei solfuri e contribuire a definire il ruolo delle ATPasi mitocondriali nei processi di vita/morte cellulare.

Materiali e metodi - Da 250 mitili (*Mytilus galloprovincialis*) adulti di taglia commerciale ($7,0 \pm 0,6$ cm) provenienti da un allevamento nel Golfo di Oristano e acclimatati per 24 ore in un acquario, sono state prelevate le branchie che, suddivise in pool provenienti da 25-30 animali ciascuno, sono stati utilizzate per l'estrazione dei mitocondri e la determinazione delle attività ATPasiche. In preparazioni mitocondriali conservate in azoto liquido e scongelate immediatamente prima delle analisi, lasciando le provette contenenti le preparazioni immerse nel ghiaccio fino a completo scongelamento, sono state determinate *in vitro* a 30 °C per via spettrofotometrica le attività ATPasiche attivate da Mg^{2+} e Ca^{2+} (Nesci *et al.*, 2013), dopo averne definito le condizioni ottimali di saggio. Il sistema di reazione (1 mL) nelle determinazioni standard conteneva 0,15 mg di proteina mitocondriale, etanolamina-HCl, pH 8,9, e , per la Mg^{2+} -ATPasi Na_2ATP 6 mM e MgCl_2 2 mM, mentre per la Ca^{2+} -ATPasi Na_2ATP 3 mM e 2 mM CaCl_2 . È stata determinata anche la velocità massima (V_{\max}) mediante costruzione dei diagrammi di Lineweaver-Burk. La costruzione di tali diagrammi prevede la determinazione delle attività enzimatiche in presenza di concentrazioni crescenti di Na_2ATP , mantenendo costanti tutti gli altri parametri. È stato poi valutato l'effetto dell'NaHS, utilizzato come donatore di H_2S e solubilizzato in DMSO. A tal fine sono stati immessi direttamente nel sistema di reazione delle due ATPasi, immediatamente prima dell'aggiunta delle sospensioni mitocondriali, 4 μL di soluzioni di NaHS a diversa concentrazione, fino ad ottenere concentrazioni crescenti fino a 100 μM di NaHS, ad intervalli di 0,5 μM . Il controllo conteneva 4 μL di DMSO. I dati, media di 3 determinazioni \pm SD (indicata come barra verticale in Fig. 1) effettuate su 3 preparazioni mitocondriali distinte, sono stati sottoposti ad Anova seguita da Test SNK in caso di significatività delle differenze ($P \leq 0,05$) (Algieri *et al.*, 2021).

Risultati - Le attività Mg^{2+} -ATPasica e Ca^{2+} -ATPasica sono entrambe risultate presenti nelle preparazioni mitocondriali di branchie di mitilo. Le concentrazioni ottimali di saggio sono leggermente diverse per le due attività enzimatiche e cioè 6 mM Na_2ATP per la Mg^{2+} -ATPasi e 3 mM Na_2ATP per la Ca^{2+} -ATPasi, mentre il pH ottimale è di 8,9 per entrambe. L'attività enzimatica e la V_{\max} della Mg^{2+} -ATPasi sono entrambe superiori ai corrispondenti valori della Ca^{2+} -ATPasi (Tab. 1), che in alcune preparazioni è risultata non determinabile.

Tab. 1 - Attività ATPasica e V_{max} ($\mu\text{moli Pi}\cdot\text{mg prot}^{-1}\text{ min}^{-1}$) della Mg^{2+} -ATPasi e della Ca^{2+} -ATPasi nei mitocondri di branchie di *M. galloprovincialis*.

*ATPase activities and V_{max} ($\mu\text{moli Pi}\cdot\text{mg prot}^{-1}\text{ min}^{-1}$) in gill mitochondria from *M. galloprovincialis*.*

	Mg^{2+} -ATPasi	Ca^{2+} -ATPasi
Attività ATPasica	0,29±0,11	0,09±0,01
V_{max}	0,62±0,18	0,12±0,02

Nelle condizioni ottimali di saggio l'NaHS, anche alla massima concentrazione saggiata (100 μM) non ha mostrato alcun effetto sulle due attività ATPasiche (Fig. 1). Tutte le fluttuazioni sono risultate infatti non diverse statisticamente rispetto al controllo.

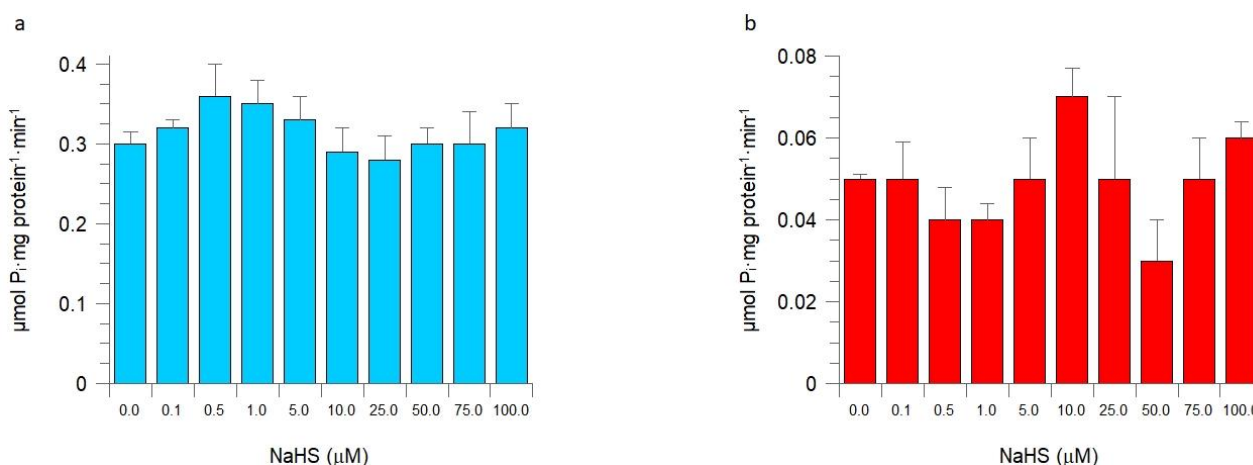


Fig. 1 - a) Mg^{2+} -ATPasi; b) Ca^{2+} -ATPasi.
a) Mg^{2+} -ATPase; b) Ca^{2+} -ATPase.

Conclusioni - La prevalenza della Mg^{2+} -ATPasi sulla Ca^{2+} -ATPasi nei mitocondri di branchie conferma quanto generalmente riscontrato nei mammiferi e nella ghiandola digestiva di mitilo (Algieri *et al.*, 2021). Mentre per le branchie la difficoltà di ottenere mitocondri integri con attività ATPasiche sufficientemente elevate ha precluso la possibilità di valutare l'apertura del mPTP, nella ghiandola digestiva di mitilo l'assenza di effetto dell'NaHS fino a 100 μM sulle due attività ATPasiche si accompagna ad una desensibilizzazione del mPTP, cioè il poro richiede concentrazioni più elevate di Ca^{2+} nella matrice mitocondriale per aprirsi (Algieri *et al.*, 2021). L'insieme dei dati raccolti finora sui mitili fa pensare che l'associazione tra attività Ca^{2+} -ATPasica e mPTP negli invertebrati non sia così stretta come nei mammiferi, dove in generale gli inibitori del mPTP inibiscono anche la Ca^{2+} -ATPasi e viceversa, mentre l'assenza di effetto sulla Mg^{2+} -ATPasi viene considerata come indizio che la sostanza saggiata non modifica i processi vitali dell'organismo. È anche possibile che l' H_2S non modifichi le proteine del complesso F_1F_0 nei mitili, per il peculiare ambiente lipidico (Fiorini *et al.*, 2012) e/o l'inaccessibilità dei tioli delle cisteine, ma interagisca con altre proteine mitocondriali implicate nel metabolismo del calcio, agendo sul mPTP in modo indiretto (Algieri *et al.*, 2021). L'assenza di effetto dell'NaHS sulla Mg^{2+} -ATPasi e sulla Ca^{2+} -ATPasi nei mitocondri di branchie, come in quelli di ghiandola digestiva (Algieri *et al.*, 2021), sembra rispecchiare la generale resistenza dei mitili ai contaminanti ambientali. Poiché alle concentrazioni saggiate l'NaHS non ha alcun effetto sulle attività ATPasiche e solo un debole effetto sul mPTP nella ghiandola digestiva, ritardandone l'apertura (Algieri *et al.*, 2021), effetto che molto probabilmente non si riflette in modo significativo sulla

sopravvivenza degli animali, le caratteristiche di resistenza dei meccanismi bioenergetici dei mitili potrebbero avere un ruolo protettivo per questi animali in ambienti ricchi di solfuri.

Bibliografia

- ALGIERI C., NESCI S., TROMBETTI F., FABBRI M., VENTRELLA V., PAGLIARANI A. (2021) - Mitochondrial F_1F_0 -ATPase and permeability transition pore response to sulfide in the midgut gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Biochimie*, **180**: 222-228.
- BAGARINAO T. (1992) - Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, **24** (1-2): 21-62.
- CHINOPOULOS C. (2018) - Mitochondrial permeability transition pore: back to the drawing board. *Neurochem. Int.*, **117**: 49-54.
- FIORINI R., PAGLIARANI A., NESCI S., PIRINI M., TUCCI E., VENTRELLA V. (2012) - Structural and functional changes in gill mitochondrial membranes from the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to tri-*n*-butyltin. *Environ. Toxicol. Chem.*, **31** (4): 877-884.
- GARCÍA R., SÁNCHEZ-CAMACHO M., DUARTE C.M., MARBÀ N. (2012) - Warming enhances sulphide stress of Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*). *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **113**: 240-247.
- MIRANDA É.G.A., ARAUJO-CHAVES J.C., KAWAI C., BRITO A.M.M., DIAS I.W.R., ARANTES J.T., NANTES-CARDOSO I.L. (2020) - Cardiolipin structure and oxidation are affected by Ca^{2+} at the interface of lipid bilayers. *Front. Chem.*, **7**: 930.
- NESCI S., VENTRELLA V., TROMBETTI F., PIRINI M., PAGLIARANI A., (2013) - Mussel and mammalian ATP synthase share the same bioenergetic cost of ATP. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **45**: 289-300.

La ricerca è stata finanziata dall'Università di Bologna, Progetto Almaidea senior.

L. STABILI^{1,2}, M.I. ACQUAVIVA¹, E. CECERE¹, A. GIANGRANDE², M. LICCIANO²,
M. NARRACCI¹, A. PETROCELLI¹, G. PORTACCI¹, R.A. CAVALLO¹

¹Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA), S.S. di Taranto, CNR, Italia.

²DiSTeBA, Università del Salento, Lecce, Italia.

loredana.stabili@irsa.cnr.it

ANALISI MICROBIOLOGICHE DELLE BIOMASSE DI MACROALGHE E POLICHETI IN UN SISTEMA INTEGRATO DI MARICOLTURA

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF MACROALGAE AND POLYCHAETE BIOMASSES IN AN INTEGRATED MARICULTURE SYSTEM

Abstract - The REMEDIA Life Project funded by the European Community foresees, first in Europe, the use of an integrated multi-trophic aquaculture system (IMTA) with polychaetes, porifera, mussels and macroalgae reared/cultivated alongside fish, in the Gulf of Taranto (Ionian Sea, Mediterranean Sea). The macroinvertebrates are capable to filter and remove from the water column several bacteria. Macroalgae act as bioremediators because reduce the nitrogen and phosphorus load produced by fish farming. Here, we report the abundance of several microbiological parameters measured in polychaetes and macroalgae. All these parameters (i.e., culturable heterotrophic bacteria, culturable bacteria at 37 °C, culturable vibrios, *Escherichia coli*, fecal enterococci, *Salmonella spp.*) showed higher concentrations in the polychaete and macroalgae homogenates than in the surrounding water. On account of the results obtained, it is desirable that this IMTA practice will have future applications in Europe, opening new production chains with respect to environmental, economic and social sustainability.

Key-words: fish farming, Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA), macroalgae, polychaetes, Mediterranean Sea.

Introduzione - Il Progetto REMEDIA Life (*REmediation of Marine Environment and Development of Innovative Aquaculture: exploitation of edible/not edible biomass*, LIFE16 ENV/IT/000343) cofinanziato dalla Comunità Europea prevede, per la prima volta in Europa, la realizzazione di un sistema integrato di acquacoltura multitrofica (IMTA) affiancando all'allevamento dei pesci un nuovo set di organismi biorisanatori (policheti, poriferi, mitili e macroalghe). In particolare, gli invertebrati impiegati sono "filter feeders" in grado di filtrare ingenti quantitativi di acqua su base giornaliera trattenendo un gran numero di particelle di piccole dimensioni, inclusi i batteri (Giangrande *et al.*, 2022). Le macroalghe impiegate sono in grado di assorbire i sali di azoto e fosforo che derivano dal metabolismo dei pesci, riducendo il carico trofico dell'ambiente di allevamento. Obiettivi del progetto sono: la dimostrazione che le tecnologie di biorisanamento sviluppate consentono una riduzione significativa dell'impatto ambientale nell'area adibita a maricoltura; la diversificazione delle produzioni; l'utilizzo biotecnologico delle biomasse ottenute che, oltre ad avere un "effetto biorisanatore", costituiscono un *by-product* di elevato valore commerciale con possibile impiego in diversi settori, secondo le indicazioni della strategia europea "Blue Growth" (Giangrande *et al.*, 2020). Il presente lavoro ha avuto lo scopo di analizzare la componente microbiologica associata alle biomasse di macroalghe e policheti, ottenute in impianto nell'ambito del suindicato progetto. In particolare, è stata determinata la capacità di accumulo microbiologico da parte del polichete filtratore *Sabella spallanzanii* (Gmelin, 1791) e la comunità batterica associata alla superficie dei talli di *Gracilaria bursa-pastoris* (S.G. Gmelin) P.C. Silva (Rhodophyta, Gracilariales).

Materiali e metodi - Il sistema IMTA è stato realizzato nel Mar Grande di Taranto (Mar Ionio) presso l'impianto MARICOLTURA MAR GRANDE. La macroalga *G. bursa-pastoris* è stata raccolta nel Mar Piccolo di Taranto (Mar Ionio) nel periodo di massima crescita (giugno), è stata trasportata presso l'impianto, e qui inserita in apposite retine, comunemente utilizzate in mitilicoltura. I policheti della specie *S. spallanzanii* sono stati invece ottenuti dal reclutamento naturale, utilizzando particolari collettori di fibra di cocco. Sia le retine di macroalghe, sia i collettori di vermi sono stati posizionati intorno alle gabbie di allevamento dei pesci nel sistema IMTA realizzato, le alghe a 0,5 m dalla superficie e i policheti in profondità fino a 9 m (Fig. 1A,B).

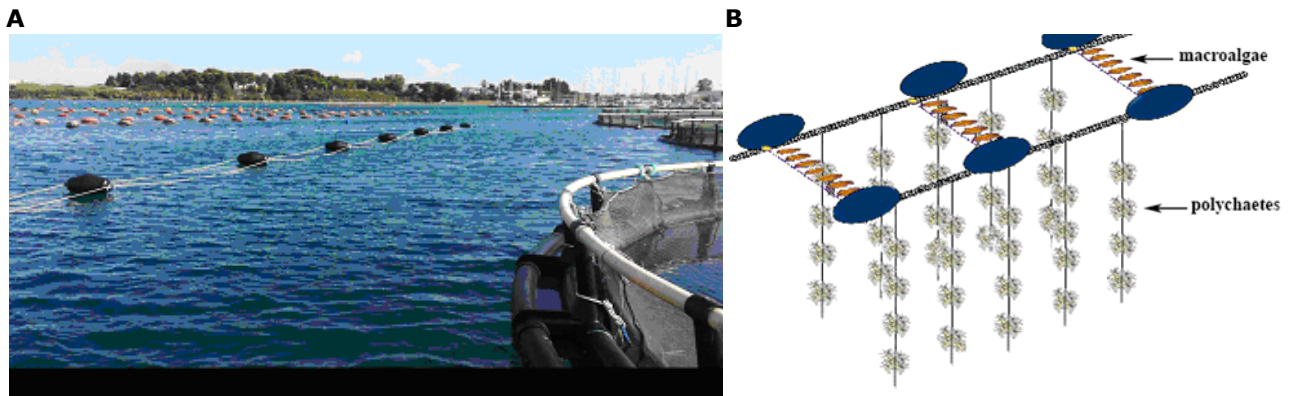


Fig. 1 – A) Gabbie per pesci nel sistema di acquacoltura multitrofica (IMTA) realizzato nel Mar Grande di Taranto; B) schema di allevamento/coltivazione di biorisanatori. Le alghe erano disposte orizzontalmente a 0,5 m di profondità all'interno di un tipico sistema *long-line*, i policheti erano posti verticalmente in collettori di cocco.

A) Fish cages in the multitrophic aquaculture system (IMTA) in the Mar Grande of Taranto; B) breeding/cultivation of bioremediation in the IMTA system. The seaweeds were arranged horizontally at a depth of 0.5 m within a typical *long-line* system, while the polychaetes were placed vertically in coconut nets.

Dopo un periodo di permanenza in impianto di massimo 6 mesi per le macroalghe e di un anno per i policheti, esemplari di ciascuna specie sono stati raccolti, privati dei tubi nel caso dei policheti, lavati con soluzione fisiologica sterile, omogenati mediante *stomaker* e utilizzati per la determinazione dei seguenti parametri microbiologici: batteri eterotrofi coltivabili a 22 °C (HB) su *Marine Agar*, batteri totali a 37 °C (TB) su *Plate Count Agar*, vibroni coltivabili (V) su *thiosulphate-citrate-bile-sucrose-salt* (TCBS), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ed Enterococchi fecali (EF) (Bonadonna e Ottaviani, 2007; Bonadonna e Musmeci, 2014). Gli stessi parametri sono stati ricercati nell'acqua del sito d'indagine.

Risultati - Nel caso delle macroalghe, in brevi intervalli di tempo, sono stati registrati elevati valori di sopravvivenza e aumenti significativi della biomassa prodotta. In particolare, per *G. bursa-pastoris* è stato raggiunto un tasso di crescita specifico massimo (SGR) pari al 5,1%, calcolato in uno studio di sei mesi (Fig. 2A). Nel sistema IMTA, sono stati stimati circa 1428 esemplari di *S. spallanzanii* in ciascun collettore per un totale di 360.000 individui nell'intero sistema, con una biomassa iniziale di 0,2 t. Dopo sei mesi di permanenza, la biomassa dei policheti era pari a 0,645 t (Fig. 2B). Entro i primi tre mesi di allevamento si è registrato un aumento della biomassa di circa il 79,3%, mentre negli ultimi tre mesi il valore medio della biomassa è aumentato con un ulteriore incremento del 20,7%. In impianto, i vermi hanno mostrato un tasso di mortalità molto basso (inferiore al 15%). I risultati relativi alle analisi microbiologiche sull'omogenato dei policheti hanno consentito di

evidenziare elevati valori di densità batterica relativi ai parametri microbiologici esaminati (Tab. 1). Nei policheti, la densità degli indicatori di contaminazione fecale (*E. coli* ed Enterococchi fecali) era molto più elevata rispetto all'acqua circostante. Nelle macroalghe le densità della comunità batterica associata erano più basse rispetto ai policheti, fatta eccezione per i vibrioni coltivabili che erano dello stesso ordine di grandezza di quelle riscontrate nei policheti e più elevate rispetto all'acqua circostante. *Salmonella* spp. è risultata assente in tutti i campioni analizzati.

A



B



Fig. 2 - A) Prove di coltivazione di *G. bursa-pastoris* e B) di allevamento di *S. spallanzanii* nel sistema IMTA realizzato.

A) Cultivation of *G. bursa-pastoris* and B) breeding of *S. spallanzanii* in the realized IMTA system.

Tab.1 - Densità batteriche rilevate nei diversi comparti esaminati.

Bacterial densities recorded in the different examined compartments.

Categorie batteriche	Policheti	Macroalghe	Acqua
HB	$7,5 \times 10^7$ CFU/ml	$3,7 \times 10^6$ CFU/ml	$2,1 \times 10^3$ CFU/ml
TB	$4,1 \times 10^3$ CFU/ml	$3,4 \times 10^3$ CFU/ml	$4,0 \times 10^2$ CFU/ml
V	$4,5 \times 10^5$ CFU/ml	$5,8 \times 10^5$ CFU/ml	$3,7 \times 10^2$ CFU/ml
<i>E. coli</i>	330 MPN/100 g	20 MPN/100 g	230 MPN/100 ml
EF	70 MPN/100 g	140 MPN/100 g	11 MPN/100 ml

Conclusioni - Le concentrazioni batteriche registrate nei policheti dimostrano il loro efficiente ruolo di biorisanatori, capaci di rimuovere dall'ambiente circostante le diverse categorie batteriche esaminate. Il vantaggio di utilizzare i policheti per convertire i reflui di un impianto di acquacoltura in biomassa era stato già dimostrato sia a livello sperimentale sia su piccola scala, in impianti a terra e in un sistema di policoltura con mitili (Stabili *et al.*, 2010). Il progetto REMEDIA rappresenta invece un sistema su scala preindustriale (con l'utilizzo di 12 gabbie), nel quale sono state ottenute ingenti quantità di biomassa di policheti e macroalghe, che hanno esercitato

la loro funzione di biorisanatori nelle acque circostanti l'impianto con un miglioramento della qualità microbiologica e chimico-fisica ed un ritrovato equilibrio dell'ambiente marino. Un aspetto interessante è la presenza di *E. coli* associata alle macroalghe. Ciò è in accordo con studi recenti che hanno riscontrato questo microorganismo associato anche ad altre specie algali (Quero *et al.*, 2015). Considerando la diffusione delle macroalghe, questo fenomeno merita ulteriori approfondimenti sia dal punto di vista sanitario che ecologico. In conclusione, alla luce dei risultati ottenuti in questo lavoro, è auspicabile che la pratica IMTA realizzata nel Progetto REMEDIA trovi future applicazioni in Europa aprendo così nuove filiere produttive nel rispetto della sostenibilità ambientale, economica e sociale.

Bibliografia

- BONADONNA L., MUSMECI L. (2014) - Metodi analitici di riferimento per la valutazione microbiologica dei fanghi di depurazione e di matrici ad essi assimilabili. *Rapporti ISTISAN*, **14/18**. Istituto Superiore di Sanità, Roma: 153 pp.
- BONADONNA L., OTTAVIANI M. (2007) - Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi microbiologici. *Rapporti ISTISAN*, **07/5**. Istituto Superiore di Sanità, Roma: 204 pp.
- GIANGRANDE A., LICCIANO M., ARDUINI D., BORGHESE J., PIERRI C., TRANI R., LONGO C., PETROCELLI A., RICCI P., ALABISO G., CAVALLO R.A., ACQUAVIVA M.I., NARRACCI M., STABILI L. (2022) - An integrated monitoring approach to the evaluation of the environmental impact of an inshore mariculture plant (Mar Grande of Taranto, Ionian Sea). *Biology*, **11** (4): 617.
- GIANGRANDE A., PIERRI C., ARDUINI D., BORGHESE J., LICCIANO M., TRANI R., CORRIERO G., BASILE G., CECERE E., PETROCELLI A., STABILI L., LONGO C. (2020) - An innovative IMTA system: polychaetes, sponges and macroalgae co-cultured in a Southern Italian in-shore mariculture plant (Ionian Sea). *J. Mar. Sci. Eng.*, **8** (10): 733.
- QUERO G.M., FASOLATO L., VIGNAROLI C., LUNA G.M. (2015) - Understanding the association of *Escherichia coli* with diverse macroalgae in the lagoon of Venice. *Sci. Rep.*, **5**: 10969.
- STABILI L., SCHIROSI R., LICCIANO M., MOLA E., GIANGRANDE A. (2010) - Bioremediation of bacteria in aquaculture waste using the polychaete *Sabella spallanzanii*. *New Biotechnol.*, **27** (6): 774-781.

R. TRANI, M.C. DE PINTO, M. SCRASCIA, G. CORRIERO, C. LONGO

Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Italia.
roberta.trani@uniba.it

SPERIMENTAZIONE DI UN MODELLO MULTITROFICO PER IL BIORISANAMENTO IN ACQUACOLTURA

MULTITROPHIC MODEL ASSESSMENT FOR AQUACULTURE BIOREMEDIATION

Abstract - The strong growth of mariculture sector raises significant concerns about management of the produced waste that is frequently discharged into the environment without any treatment, thus creating negative effects on neighboring ecosystems. This impact is manifested at the level of the water column and sediments through organic enrichment and variations in the microbial pattern, with consequences on the environmental area and the quality of the breeding conditions. Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) incorporates species from different trophic positions or nutritional levels in the same system, providing both economic and environmental sustainability. This study deals with the synergistic bioremediation capability of the sponge *Sarcotragus spinosulus* (Porifera, Dictyoceratida) and the macroalga *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta, Cladophorales) associated with the breeding of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Chordata, Actinopterygii) and it is aimed at expanding knowledge for the implementation and development of an efficient integrated aquaculture system on a commercial scale.

Key-words: bioremediation, sponges, algae, biofilters, integrated multitrophic aquaculture.

Introduzione - L'acquacoltura multitrofica integrata (IMTA) è stata proposta come mezzo per sviluppare pratiche di acquacoltura ecocompatibili e gestione delle risorse attraverso un approccio equilibrato all'ecosistema costiero (Chopin *et al.*, 2001). Il co-allevamento di specie ittiche e altri organismi, tra cui le macroalghe e i poriferi, rappresenta un'efficace ma ancora sottoutilizzata strategia di biorisanamento nel comparto della zootecnia intensiva in ambiente marino. È nota la capacità di diverse specie di macroalghe di ridurre l'eccessivo carico inorganico dei sali di azoto e fosforo delle acque di allevamento in zone costiere confinate (Chopin *et al.*, 2001). Le spugne (Phylum Porifera), antichi macroinvertebrati bentonici filtratori, sono state recentemente considerate candidati promettenti per il biorisanamento delle acque reflue degli allevamenti ittici (Stabili *et al.*, 2006; Trani *et al.*, 2021; Longo *et al.*, 2022) grazie alla loro capacità di filtrare grandi volumi di acqua e di trattenere microrganismi o altre particelle di varie dimensioni, comprese tra 0,1 e 50 µm (Pile *et al.*, 1996), con elevata efficienza (75-99%) (Reiswig, 1971; Pile *et al.*, 1996; Trani *et al.*, 2021). Studi di laboratorio e *in situ* hanno dimostrato eccellenti prestazioni di biorisanamento microbiologico e chimico da parte di diverse specie di spugne. È stato dimostrato che alcune specie di spugne sono in grado di rimuovere il carbonio organico, di accumulare e digerire diverse specie batteriche e di degradare gli inquinanti organici (es. lindano) (Fu *et al.*, 2007; Longo *et al.*, 2010). Inoltre, per alcune specie è stata dimostrata la capacità di controllare l'inquinamento organico nei sistemi di acquacoltura multitrofica integrata (Gökalp *et al.*, 2021). Obiettivo di questo studio è valutare l'efficacia di un modello multitrofico costituito dalla macroalga verde *Chaetomorpha linum* (O.F. Müller) Kützing, 1845 e dalla demospongia *Sarcotragus spinosulus* Schmidt, 1862 per il biorisanamento dei reflui d'allevamento della spigola *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) in condizioni controllate, al fine di valutare il loro potenziale utilizzo come organismi biorisanatori in un sistema di acquacoltura multi-trofica integrata (IMTA) su scala commerciale.

Materiali e metodi - L'esperimento di biorisanamento è stato condotto in laboratorio, in due repliche, in camera termostata (24 ± 2 °C), con illuminazione artificiale (16:8 h luce/buio) ed aerazione, per una durata complessiva di 48 ore. Le specie estrattive testate sono state la macroalga *Chaetomorpha linum* e la demospongia *Sarcotragus spinosulus*. Sono state allestite cinque vasche sperimentali (Fig. 1), ciascuna contenente 15 litri di acqua di mare sterile, ottenuta filtrando sottovuoto acqua di mare con filtro a membrana da $0,22 \mu\text{m}$. Delle cinque vasche, una conteneva solo acqua di mare sterile (vasca controllo, C), due contenevano tre individui di spigola *D. labrax* ciascuna, con un peso complessivo di 45 g/vasca (vasche pesci, P) e le ultime due contenevano tre individui di spigola, due esemplari di *S. spinosulus* (340 mL) e 150 g di alga *C. linum* (vasche pesci spugna alga, PSA).

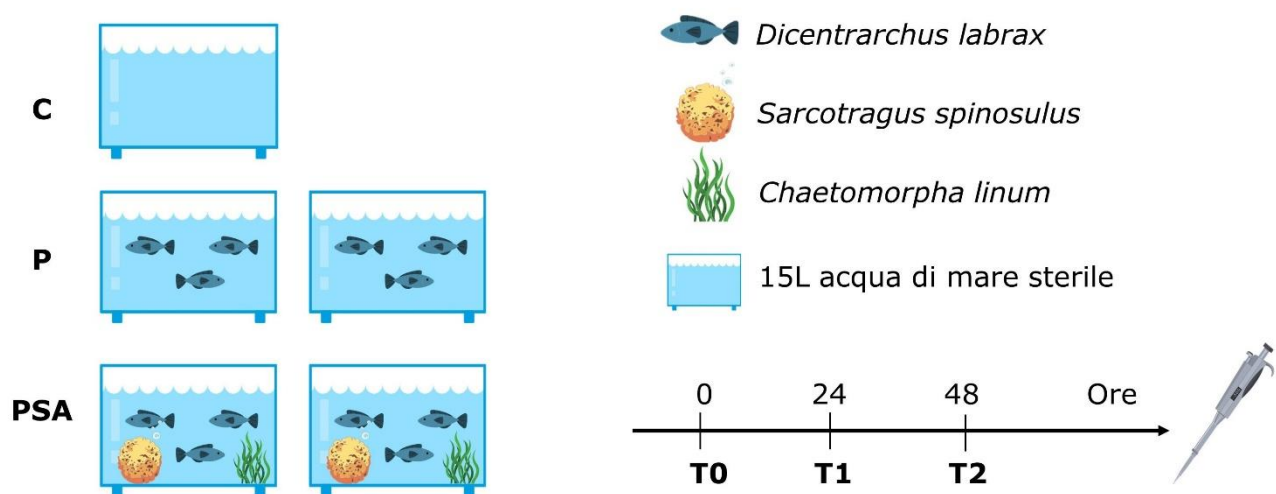


Fig. 1 – Disegno sperimentale: vasca controllo (C), vasche pesci (P) e vasche con il modello multitrofico pesci, spugna e alga (PSA).

Experimental design: control tank (C), fish tanks (P) and tanks with the multitrophic model with fish, sponge and algae (PSA).

Campioni di acqua (25 mL) sono stati prelevati da ogni vasca all'inizio dell'esperimento (T0) e dopo 24 (T1) e 48 ore (T2) per le successive analisi microbiologiche e chimiche. Le analisi microbiologiche avevano l'obiettivo di misurare la variazione delle concentrazioni batteriche nel tempo. Per la conta vitale dei batteri marini eterotrofi è stato utilizzato Marine agar come terreno di crescita, mentre per la conta vitale dei batteri appartenenti alla famiglia delle Vibrionaceae è stato utilizzato *thiosulfate citrate bile salts-sucrose* (TCBS) agar, un terreno selettivo per la crescita dei vibrioni, arricchito con il 2% di cloruro di sodio (NaCl), al fine di equiparare la salinità dell'acqua di mare. Le misure delle concentrazioni batteriche sono state riportate come unità formanti colonie per millilitro (*colony-forming unit*, CFU/mL). Le analisi della concentrazione dei nutrienti nell'acqua sono state eseguite su nitrati (NO_3^- , mg/L), ammonio (NH_4^+ , mg/L) e fosfati (PO_4^{3-} , mg/L) con metodi spettrofotometrici (vedi Trani *et al.*, 2021). Negli stessi tempi di campionamento, sono stati registrati i parametri fisico-chimici delle acque nelle vasche, in particolare la torbidità (*formazin nephelometric unit*, FNU), la salinità (*practical salinity units*, PSU) e il pH mediante misuratore multi-parametrico Hanna Inst. HI9829.

Risultati - I valori delle concentrazioni dei nutrienti e dei parametri microbiologici considerati sono risultati essere sempre inferiori nelle vasche contenenti il modello multitrofico (vasche PSA) rispetto a quelli delle vasche di controllo (vasche C e P). Dopo

24 ore dall'inizio dell'esperimento, nelle vasche PSA le concentrazioni delle Vibrionacee sono risultate essere inferiori di due ordini di grandezza rispetto ai valori osservati nelle vasche controllo, trend confermato anche al T2 (Tab. 1). Anche la componente batterica eterotrofa è risultata sempre inferiore nelle vasche PSA di almeno un ordine di grandezza al T1 e di tre ordini di grandezza al T2 (Tab. 1). Le concentrazioni dei nutrienti sono rimaste sempre al di sotto di 1 mg/L nel corso dell'esperimento, ad eccezione dell'ammonio che è aumentato nelle vasche contenenti solo pesci (T2: $2,9 \pm 0,7$ mg/L). Tra i parametri chimico-fisici misurati, la torbidità è risultato essere l'unico parametro a subire una variazione nel tempo. È stato infatti registrato un aumento della torbidità nelle vasche C e P, rispettivamente di $14,0 \pm 1,6$ e $15,8 \pm 2,3$ FNU, mentre è risultato essere pari a 0 FNU nelle vasche PSA per tutta la durata dell'esperimento.

Tab. 1 - Densità batteriche medie misurate dopo 24 (T1) e 48 ore (T2) dall'inizio dell'esperimento nelle vasche contenenti solo acqua (C), pesci (P) e pesci, spugna e alga (PSA).

Average bacterial densities measured after 24 (T1) and 48 hours (T2) from the start of the experiment in tanks containing only water (C), fish (P) and fish, sponge and algae (PSA).

Categorie batteriche	T1			T2		
	C	P	PSA	C	P	PSA
Batteri marini eterotrofi	$5,5 \times 10^6$	$1,4 \times 10^7$	$1,9 \times 10^5$	$2,5 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^4$
Vibrionaceae	$1,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$8,1 \times 10^4$	$4,8 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$	$1,7 \times 10^4$

Conclusioni - I risultati delle analisi chimiche e microbiologiche ottenuti hanno dimostrato l'efficienza del modello multitrofico sperimentato. La densità dell'alga *Chaetomorpha linum* utilizzata (10 g/L) si conferma ottimale per la rimozione dei nutrienti in accordo con quanto riportato da (Aquilino *et al.*, 2020). Inoltre, anche la biomassa di *Sarcotragus spinosulus* (23 mL/L) utilizzata è risultata efficace nel contenimento del carico microbiologico del sistema multitrofico sperimentato. I risultati di questa ricerca forniscono informazioni utili per l'implementazione di un modello multitrofico su scala commerciale.

Bibliografia

- AQUILINO F., PARADISO A., TRANI R., LONGO C., PIERRI C., CORRIERO G., DE PINTO M.C. (2020) - *Chaetomorpha linum* in the bioremediation of aquaculture wastewater: optimization of nutrient removal efficiency at the laboratory scale. *Aquaculture*, **523**: 735-739.
- CHOPIN T., BUSCHMANN A.H., HALLING C., TROELL M., KAUTSKY N., NEORI A., KRAEMER G.P., ZERTUCHE-GONZÁLEZ J.A., YARISH C., NEEFUS C. (2001) - Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. *J. Phycol.*, **37** (6): 975-986.
- FU W., WU Y., SUN L., ZHANG W. (2007) - Efficient bioremediation of total organic carbon (TOC) in integrated aquaculture system by marine sponge *Hymeniacidon perlevis*. *Biotechnol. Bioeng.*, **97** (6): 1387-1397.
- GÖKALP M., MES D., NEDERLOF M., ZHAO H., MERIJN DE GOEIJ J., OSINGA R. (2021) - The potential roles of sponges in integrated mariculture. *Rev. Aquacult.*, **13** (3): 1159-1171.
- LONGO C., CORRIERO G., LICCIANO M., STABILI L. (2010) - Bacterial accumulation by the Demospongiae *Hymeniacidon perlevis*: a tool for the bioremediation of polluted seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, **60** (8): 1182-1187.
- LONGO C., PIERRI C., MERCURIO M., TRANI R., CARDONE F., CARBONARA P., ALFONSO S., STABILI L. (2022) - Bioremediation capabilities of *Hymeniacidon perlevis* (Porifera, Demospongiae) in a land-based experimental fish farm. *J. Mar. Sci. Eng.*, **10** (7): 874.
- PILE A.J., PATTERSON M.R., WITMAN J.D. (1996) - *In situ* grazing on plankton <10 μ m by the boreal sponge *Mycale lingua*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **141** (1-3): 95-102.
- REISWIG H.M. (1971) - *In situ* pumping activities of tropical Demospongiae. *Mar. Biol.*, **9** (1): 38-50.

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** (16): 3083-3090.

TRANI R., CORRIERO G., DE PINTO M.C., MERCURIO M., PAZZANI C., PIERRI C., SCRASCIA M., LONGO C. (2021) - Filtering activity and nutrient release by the keratose sponge *Sarcotragus spinosulus* Schmidt, 1862 (Porifera, Demospongiae) at the laboratory scale. *J. Mar. Sci. Eng.*, **9** (2): 178.

Ricerca svolta nell'ambito del progetto LIFE16-ENV_IT_000343 - Remedialife: Remediation of Marine Environment and Development of Marine Aquaculture: exploitation of edible/not edible biomass.

V. BERNARELLO¹, M. DEL PASQUA¹, F. CACCIATORE¹, M. CORNELLO¹,
F. OSELLADORE¹, E. PONIS¹, A. GIROLIMETTO², M. NOVELLO², M. ZORZI², D. BON²,
P. PARATI², A. BONOMETTO¹, R. BOSCOLO BRUSÁ¹

¹Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Chioggia (VE), Italia.

²Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale del Veneto (ARPAV), Padova, Italia.

valentina.bernarello@isprambiente.it

STRUTTURA E DIVERSITÀ DELLA COMUNITÀ MACROZOOBENTONICA DI FONDO MOBILE NELL'AMBITO DEL MONITORAGGIO ECOLOGICO DELLA LAGUNA DI VENEZIA

SOFT-BOTTOM MACROZOOBENTHIC COMMUNITY STRUCTURE AND DIVERSITY AS PART OF THE ECOLOGICAL MONITORING OF THE VENICE LAGOON

Abstract - The present study, carried out in the Venice lagoon, aimed at understanding the patterns of soft-bottom macrozoobenthic community structure and diversity as part of the monitoring for ecological status classification (sensu 2000/60/EC) of the Venice lagoon. Statistical analyses were performed on macrozoobenthos abundance and diversity indices considering the different types of water bodies. Both community structure and diversity showed to differ according to the different range of salinity and confinement of the water bodies.

Key-words: macrozoobenthos, community structure, ecological monitoring, Venice lagoon.

Introduzione - La laguna di Venezia rappresenta il più ampio ecosistema di transizione del Nord Adriatico e uno dei più importanti del Mediterraneo. Copre un'area di circa 550 km² con una profondità media inferiore ad 1 m (Sfriso *et al.*, 1992). Gli scambi con il mare sono possibili grazie a tre bocche di porto che connettono la laguna e l'Alto Adriatico: Lido, Malamocco e Chioggia. L'apporto di acqua dolce deriva principalmente dai 12 maggiori corsi d'acqua tributari, per una portata media complessiva di circa 30 m³s⁻¹. Le caratteristiche idromorfologiche determinano un gradiente di salinità e confinamento dalle bocche di porto verso le zone più interne della laguna. La salinità e il grado di confinamento sono stati utilizzati nel Piano di Gestione delle Acque del Distretto Alpi Orientali (PdG AO) come parametri per tipizzare la laguna di Venezia, ai sensi della Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Quadro Acque), in sub-unità aventi caratteristiche simili, individuando 11 corpi idrici (CI) naturali. Secondo quanto riportato dal PdG AO tutti i corpi idrici della laguna di Venezia sono definiti come "a rischio" di non raggiungere gli obiettivi previsti dalla Direttiva Quadro Acque. Il monitoraggio dello stato ecologico della laguna di Venezia, ai sensi della Direttiva 2000/60/CE Decreto Legislativo n. 152/2006 s.m.i., viene condotto da ARPAV, su mandato della Regione del Veneto, in collaborazione con ISPRA. Tra gli Elementi di Qualità Biologica previsti dalla Direttiva Quadro Acque, i macroinvertebrati bentonici rappresentano uno degli indicatori ecologici più significativi e sensibili per la valutazione della qualità ecologica (Tagliapietra e Sigovini, 2010). L'analisi della composizione e struttura della comunità bentonica può inoltre essere messa in relazione alle variabili abiotiche e biotiche, e al suo interno possono essere identificate eventuali specie criptogeniche (Del Pasqua *et al.*, 2022). Il macrozoobenthos è costituito da tutti gli invertebrati di dimensioni maggiori di 1 mm che vivono a stretto contatto con il sedimento, per la maggior parte con una ridotta capacità di movimento e con un ciclo vitale relativamente lungo (Tagliapietra e Sigovini, 2010). I principali phyla che compongono il macrozoobenthos di fondo molle sono policheti, molluschi e crostacei

(Snelgrove, 1998; Sfriso *et al.*, 2001). Date le loro peculiarità, la distribuzione degli organismi su scala spaziale dipende da fattori abiotici, quali salinità, idrodinamismo, composizione e struttura del sedimento, ma anche da fattori biotici, come i fenomeni di competizione e predazione (Tagliapietra e Sigovini, 2010). La diversità e la struttura delle comunità macrozoobentoniche sono analizzate in questo studio al fine di valutare l'esistenza di pattern di similarità in base alle differenti tipologie di corpo idrico della laguna di Venezia.

Materiali e metodi - La strategia di campionamento (stazioni e frequenza) per i corpi idrici della laguna di Venezia si basa sui protocolli derivanti dall'implementazione della Direttiva Quadro Acque, con successiva riduzione della numerosità su base statistica e geo-statistica (Cacciatore *et al.*, 2019). In totale sono state campionate, nel periodo maggio-giugno 2019, 75 stazioni distribuite in tutti gli 11 CI naturali (Fig. 1). Per la raccolta dei campioni di sedimento è stata utilizzata una benna Ekman-Birge con superficie di presa di 225 cm² e con capacità di penetrazione nel sedimento di circa 25 cm. Per ciascuna stazione sono stati prelevati tre subcampioni di sedimento, vagliati tramite un setaccio con maglia di 1 mm; gli organismi raccolti sono stati anestetizzati per circa 30' in una soluzione di cloruro di magnesio (MgCl₂), fissati e conservati in etanolo al 90% per le successive operazioni. In laboratorio i campioni sono stati sciacquati dalla soluzione conservante e nuovamente setacciati con un setaccio di 0,5 mm di maglia, sottoposti a smistamento, riconoscimento al più basso livello tassonomico possibile e conteggio degli individui per ciascun taxon.

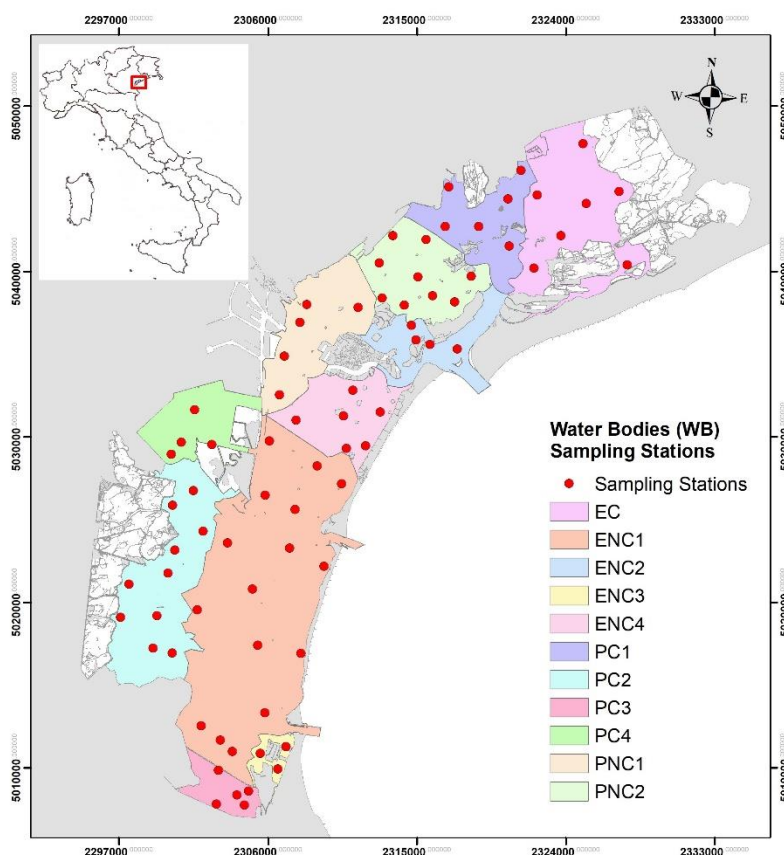


Fig. 1 - Mappa della laguna di Venezia con i corpi idrici e le stazioni di campionamento (E/P:Eualino/Polialino; C/NC:Confinato/Non Confinato).

Map of the Venice lagoon with water bodies and sampling stations (E/P:Euhaline/Polyhaline; C/NC:Confined/Unconfined).

Per ciascuna stazione sono stati calcolati diversi parametri: abbondanza totale (N), ricchezza di specie (S), l'indice di diversità specifica di Shannon (H') e l'indice di omogeneità di Pielou (J'). Le analisi univariate, nello specifico il Test U di Mann Whitney, sono state effettuate sui diversi parametri calcolati nelle singole stazioni allo scopo di verificare e valutare l'esistenza di differenze significative tra corpi idrici polialini ed eualini (P/E) e confinati e non confinati (C/NC). Le variazioni nella struttura della comunità macrozoobentonica sono state, inoltre, investigate tramite l'analisi multivariata PERMANOVA test, utilizzando anche in questo caso le tipologie di corpo idrico eualino/polialino e confinato/non confinato come fattori. La rappresentazione grafica dei risultati ottenuti dai test univariati e multivariati è stata ottenuta mediante l'applicazione dell'ordinamento MultiDimensional Scaling (MDS).

Risultati - Le analisi hanno permesso di contare e riconoscere 12.244 individui appartenenti a 189 taxa differenti, di cui 138 riconosciuti a livello di specie. Gli Anellidi sono il taxa che maggiormente caratterizza la comunità, rappresentando il 44% della ricchezza e il 51% delle abbondanze totali campionate. Seguono i Crostacei (32% della ricchezza e 23% delle abbondanze) e i Molluschi (16% e 19%, rispettivamente). Le analisi univariate hanno evidenziato differenze significative nella ricchezza di specie e diversità della comunità tra CI eualini/polialini (rispettivamente, $U=376,0$ $p<0,05$; $U=391,0$ $p<0,05$) e confinati/non confinati ($U=410,5$ $p<0,05$; $U=450,0$ $p<0,05$) (Tab. 1). I CI eualini non confinati presentano un maggior numero di specie e una maggiore diversità specifica. L'abbondanza totale è risultata significativamente differente solo tra corpi idrici confinati/non confinati ($U=457,5$ $p<0,05$), con questi ultimi caratterizzati da un numero significativamente minore di individui. L'indice di omogeneità di Pielou (J) non ha evidenziato differenze significative nelle differenti tipologie di corpo idrico ($p>0,05$). L'ordinamento MDS ha evidenziato una distinzione, confermata anche dalla PERMANOVA, nella struttura della comunità macrozoobentonica tra corpi idrici di tipo eualino/polialino (Fig. 2A) e confinato/non confinato (Fig. 2B) (Risultati PERMANOVA: Pseudo-f=2,300, $p<0,005$ e Pseudo-f=2,513, $p<0,005$, rispettivamente).

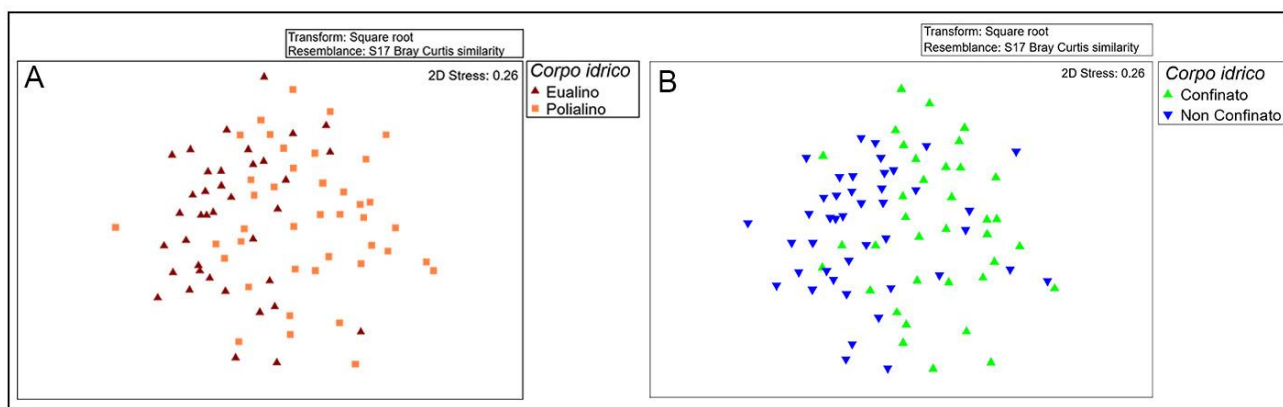


Fig. 2 - Analisi *MultiDimensional Scaling* (MDS) sulla struttura della comunità macrobentonica in base a corpi idrici eualini/polialini (A) e confinati/non confinati (B).

MultiDimensional scaling analysis (MDS) performed on the macrobenthic community structure according to euhaline/polyhaline (A) and confined/not confined water bodies (B).

Tab. 1 - Risultati delle analisi univariate effettuate sui valori degli indici di diversità in base alle differenti tipologie di corpo idrico. In grassetto i risultati significativi.

Results of the univariate analyses performed on the diversity indices according to the different types of water bodies. In bold significant results.

Indice di diversità	Confronto	Valore del test	p-level
Ricchezza di specie (S)	E vs P	3,457	0,000
	C vs NC	-2,972	0,002
Diversità specifica (H')	E vs P	3,298	0,000
	C vs NC	-2,549	0,010
Abbondanza totale (N)	E vs P	1,908	0,056
	C vs NC	-2,469	0,013
Indice di omogeneità (J')	E vs P	1,113	0,265
	C vs NC	0,064	0,948

Conclusioni - La comunità macrozoobentonica della laguna di Venezia, secondo il monitoraggio condotto, è costituita per la maggior parte da 3 phyla: policheti, crostacei e molluschi, che insieme rappresentano più del 90% delle ricchezze e delle abbondanze totali. Questo risultato è in linea con altri studi effettuati sempre all'interno della laguna di Venezia (Sfriso *et al.*, 2001; Tagliapietra e Sigovini, 2010). Grazie alle analisi effettuate durante questa attività di monitoraggio è stato, inoltre, possibile evidenziare come la tipologia salina dei differenti corpi idrici, nonché il loro grado di confinamento, siano in grado di determinare delle differenze sostanziali sia nella struttura spaziale, sia nella diversità della comunità del macrozoobenthos. In accordo con le conoscenze pregresse e consolidate per i sistemi di transizione (Guelorget e Perthuisot, 1983), la composizione della comunità sembra essere principalmente modellata dal gradiente salino e dal grado di confinamento caratterizzanti le diverse tipologie di corpi idrici, piuttosto che da variabili densità-dipendenti come l'interazione tra specie, come già osservato in altri ecosistemi di transizione presenti lungo le coste italiane (Mistri *et al.*, 2000).

Bibliografia

- CACCIATORE F., BONOMETTO A., PAGANINI E., SFRISO A., NOVELLO M., PARATI P., GABELLINI M., BOSCOLO BRUSÀ R. (2019) - Balance between the reliability of classification and sampling effort: a multi-approach for the Water Framework Directive (WFD) ecological status applied to the Venice Lagoon (Italy). *Water*, **11** (8): 1572.
- DEL PASQUA M., BERNARELLO V., ESQUETE P., CORNELLO M., CACCIATORE F., OSELLADORE F., PONIS E., BOSCOLO BRUSÀ R. (2022) - First records of the tanaid species *Zeuxo holdichi* and *Apseudopsis tridens* (Crustacea: Peracarida) from the Venice Lagoon (Italy, Northern Adriatic Sea). *Thalassas*, **38** (1): 417-430.
- GUELORGET O., PERTHUISOT J.-P. (1983) - Le domaine paralique. Expressions géologiques, biologiques et économiques du confinement. *Trav. Lab. Géologie*, **16**: 1-136.
- MISTRI M., FANO E.A., ROSSI G., CASELLI K., ROSSI R. (2000) - Variability in macrobenthos communities in the Valli di Comacchio, northern Italy, a hypereutrophized lagoonal ecosystem. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **51** (5): 599-611.
- SFRISO A., BIRKEMEYER T., GHETTI P.F. (2001) - Benthic macrofauna changes in areas of Venice lagoon populated by seagrasses or seaweeds. *Mar. Environ. Res.*, **52** (4): 323-349.
- SFRISO A., PAVONI B., MARCOMINI A., ORIO A.A. (1992) - Macroalgae, nutrient cycles, and pollutants in the Lagoon of Venice. *Estuaries*, **15** (4): 517-528.
- SNELGROVE P.V.R. (1998) - The biodiversity of macrofaunal organisms in marine sediments. *Biodivers. Conserv.*, **7**: 1123-1132.
- TAGLIAPIETRA D., SIGOVINI M. (2010) - Benthic fauna: collection and identification of macrobenthic invertebrates. *Terre Environ.*, **88**: 253-261.

L. BISANTI, B. BOTTINI, M. MILAZZO, R. CHEMELLO

Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare (Di.S.Te.M.), Università di Palermo, Italia.
luca.bisanti@unipa.it

SPATIAL DISTRIBUTION OF *DENDROPOMA CRISTATUM* (MOLLUSCA, GASTROPODA) ADULT BIOMASS ON A VERMETID REEF

DISTRIBUZIONE SPAZIALE DELLA BIOMASSA DI ADULTI DI DENDROPOMA CRISTATUM (MOLLUSCA, GASTROPODA) SU UN REEF A VERMETI

Abstract - A spatial characterization of *Dendropoma cristatum* biomass was carried out on a vermetid reef in north-western Sicily. Biomass distribution of adult specimens is not homogenous in the different areas of the reef, with an increasing trend from the inner edge to the outer edge, while the central pool supports intermediate values of vermetid biomass. Considering the entire reef area, the cuvette has the highest *Dendropoma* biomasses of the bioconstruction, even if the highest surface-biomass ratio was found in the outer edge.

Key-words: biomass, *Dendropoma cristatum*, vermetid reef, Tyrrhenian Sea.

Introduction - In environments where physical stresses regulate the composition and structure of marine communities, the presence of structuring species is essential in order to mitigate detrimental environmental conditions through direct or indirect effects. Several studies reported a progressive reduction of structuring species along the Mediterranean coasts, due to an increasing intensity of anthropogenic activities along coastal areas (e.g. Rilov, 2016). Distributed in subtropical and warm-temperate coastal regions, the vermetid reefs are environments able to provide multiple ecosystem services (Ingrosso *et al.*, 2018). In particular along the Mediterranean shores, gregarious vermetid snails belonging to *Dendropoma* genus, jointly with crustose coralline algae cementing their tubular shells, build this biogenic habitat amplifying the space in the transition zone between midlittoral and infralittoral (Milazzo *et al.*, 2016). Usually the reef can be divided into three portions along a land-sea axis: the inner edge (IE), which corresponds to limit with the mainland; the cuvette (CV), a central area characterized by superficial pools; the outer edge (OE), bordering the sea (Chemello and Silenzi, 2011). Moreover, the presence of numerous macroalgal species further increases complexity and heterogeneity of bioconstruction, creating different habitats that act as aggregation centers for many marine organisms (Milazzo *et al.*, 2016). The role played by habitat formers to support biodiversity and ecosystem functions has been studied previously in vermetid reef (Milazzo *et al.*, 2016). However, there is a lack of data on the biomass of the structuring species, which could represent a useful proxy for estimating the productivity and, therefore, the functionality of an environment (Bar-On *et al.*, 2018). A preliminary estimate of algal and animal biomasses on the vermetid reef was already carried out along the Sicilian shore, highlighting how this bioconstruction plays an essential role in facilitating the colonization of organisms in stressed environments, such as intertidal ones (Bottini *et al.*, 2019). Specific goal is to quantify and characterize the spatial distribution of the biomass of *Dendropoma cristatum* (Biondi, 1859) along the vermetid reef in southern Tyrrhenian Sea.

Materials and methods - This study was conducted at Fossa del Gallo (Palermo, north-western coast of Sicily; 38° 12' 38.20" N - 13° 17' 11.85" E), characterized by a

substrate of dolomitic limestone (Trisa) and extensive biogenic structures built by the mollusc *Dendropoma cristatum* (Chemello and Silenzi, 2011). An approximately 50 m long reef section presenting the three portions (IE, CV and OE) was chosen for sampling activities, conducted during the summer months of 2018-2019 with calm sea and low tide. Analyzing digital images collected by a drone, the extension of the three parts of the surveyed reef was measured (D'Argenio *et al.*, 2015). The average density of *D. cristatum* adults (>3 mm shell size) was estimated using 5 random photographic replicates (10×10 cm) for each part, collected at low tide and calm sea conditions. Only adult individuals were considered, given the high mortality of juveniles. The density (ind/m²) was determined by counting living specimens in each replicate (Milazzo *et al.*, 2016), then converted into square meter. To calculate biomasses, a random sample of 10 adult individuals was taken in each portion (IE, CV and OE), for a total of 30 individuals. The samples were weighed to obtain the wet weight (WW) and oven-dried for 48 hours at 80 °C until reaching the dry weight (DW) (van der Meer *et al.*, 2013). Subsequently, the ash-free dry weight (AFDW) is obtained by burning samples in a muffle furnace at 550 °C for 4 hours after drying (van der Meer *et al.*, 2013). An Ohaus analytical balance with 4 decimal digit was used to weight the samples. Weight-to-weight conversion factors were calculated such as DW/WW, AFDW/WW, and AFDW/DW (van der Meer *et al.*, 2013). Finally, biomass values in the different reef sections were standardized in g AFDW/m² and g AFDW for the entire reef area.

Results - The examined reef showed an average width of 3.59 (±1.81) m, with 6.79 m at the widest point and 0.54 m at the narrowest point. IE shows an area of 19.00 m², CV of 90.78 m², and OE of 23.15 m². The average density of *D. cristatum* was 2745.83 (±593.85) ind/m² in IE, 3109.37 (±102.61) ind/m² in CV, and 5041.67 (±904.94) ind/m² in OE (Fig. 1A), corresponding to an average biomass of 90.61 (±19.59) g AFDW/m² in IE, 102.61 (±29.94) g AFDW/m² in CV, and 166.38 (±29.86) g AFDW/m² in OE (Fig. 1B). The total biomass estimated for the reef area amounts to 14888.09 g AFDW/m², with values ranging from 1721.63 g AFDW/m² in IE to 9314.87 g AFDW/m² in CV, and 3851.58 g AFDW/m² in OE (Fig. 2). Finally, data on weight-to-weight conversion factors are presented in Tab. 1.

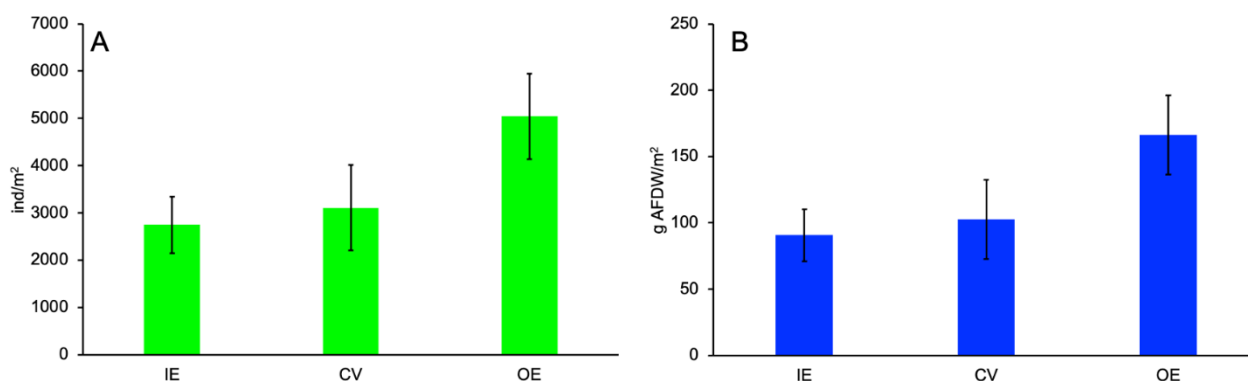


Fig. 1 - A) Mean number (±s.d.) of *D. cristatum* individuals per m² in inner edge (IE), cuvette (CV), and outer edge (OE); B) distribution of *D. cristatum* biomass per m² in inner edge (IE), cuvette (CV), and outer edge (OE).

A) Numero medio ($\pm d.s.$) di individui di *D. cristatum* per m^2 in bordo interno (IE), cuvette (CV) e bordo esterno (OE); B) distribuzione della biomassa di *D. cristatum* per m^2 nel bordo interno (IE), cuvette (CV) e bordo esterno (OE).

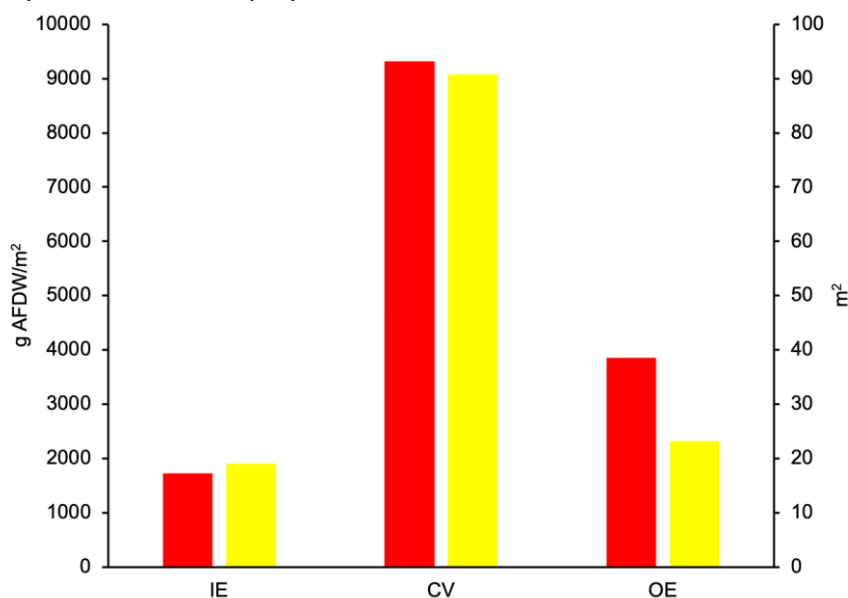


Fig. 2 - Distribution of *D. cristatum* total biomass (red) and surface area (yellow) in inner edge (IE), cuvette (CV), and outer edge (OE) on a 50 m-long reef.

Distribuzione della biomassa totale (rosso) e della superficie dell'area (giallo) di *D. cristatum* nel bordo interno (IE), cuvette (CV) e bordo esterno (OE) in un tratto di 50 m lineari di reef.

Tab. 1 - Weight-to-weight conversion factors of *D. cristatum*.

Fattori di conversione peso-peso di *D. cristatum*.

Taxa	DW/WW	AFDW/WW	AFDW/DW
<i>Dendropoma cristatum</i>	0.175	0.126	0.733

Conclusions - Vermetid bioconstructions play an essential role in the intertidal zone - protection of rocky shores from erosion, regulation of sediment transport, carbon sinks and habitat for many fish and invertebrates - influencing productivity and dynamics of Mediterranean coastal regions (Milazzo *et al.*, 2016). The collected data indicate that reefs built by *Dendropoma cristatum* can be compared with highly productive biogenic habitats, such as oyster and mussel beds (e.g. Hibbert, 1976; Rezek *et al.*, 2017). Distribution of biomasses per square meter follows an increasing trend from the inner edge to the outer edge, with the cuvette showing intermediate values. Indeed, the outer edge is known to be the most important of the vermetid bioconstruction, because it represents both the actively growing portion of the reef (Milazzo *et al.*, 2016) and the area with the highest density of *D. cristatum*. Finally, our results highlight that distribution of biomasses is proportional to the extent of the surfaces of the three parts. Considering the entire reef area, the inner edge had the smaller average biomass than the other two portions, with the cuvette showing the highest values due to the larger surface area.

References

BAR-ON Y.M., PHILLIPS R., MILO R. (2018) - The biomass distribution on Earth. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **115** (25): 6506-6511.

- BOTTINI B., MILAZZO M., CHEMELLO R. (2019) - Analisi della distribuzione delle biomasse vegetali e animali nei reef a vermeti. *Biol. Mar. Mediterr.*, **26** (1): 302-303.
- CHEMELLO R., SILENZI S. (2011) - Vermetid reefs in the Mediterranean Sea as archives of sea-level and surface temperature changes. *Chem. Ecol.*, **27** (2): 121-127.
- D'ARGENIO A., TULONE M., CHEMELLO R. (2015) - The use of small RPAS for the high resolution mapping of the Mediterranean intertidal vermetid reefs. Proceedings of GeoSUB - Underwater geology Int. Congr. Trieste 13-14 October 2015: 35-36.
- HIBBERT C.J. (1976) - Biomass and production of a bivalve community on an intertidal mud-flat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **25** (3): 249-261.
- INGROSSO G., ABBIATI M., BADALAMENTI F., BAVESTRELLO G., BELMONTE G., CANNAS R., BENEDETTI-CECCHI L., BERTOLINO M., BEVILACQUA S., BIANCHI C.N., BO M., BOSCARI E., CARDONE F., CATTANEO-VIETTI R., CAU A., CERRANO C., CHEMELLO R., CHIMIANTI G., CONGIU L., CORRIERO G., COSTANTINI F., DE LEO F., DONNARUMMA L., FALACE A., FRASCHETTI S., GIANGRANDE A., GRAVINA M.F., GUARNIERI G., MASTROTOTARO F., MILAZZO M., MORRI C., MUSCO L., PEZZOLESI L., PIRAINO S., PRADA F., PONTI M., RINDI F., RUSSO G.F., SANDULLI R., VILLAMOR A., ZANE L., BOERO F. (2018) - Mediterranean bioconstructions along the Italian coast. *Adv. Mar. Biol.*, **79**: 61-136.
- MILAZZO M., FINE M., LA MARCA E.C., ALESSI C., CHEMELLO R. (2016) - Drawing the line at neglected marine ecosystems: ecology of vermetid reefs in a changing ocean. In: Rossi S., Bramanti L., Gori A., Orejas C. (eds), *Marine animal forests. The ecology of benthic biodiversity hotspots*. Springer, Cham: 345-367.
- REZEK R.J., LEBRETON B., ROARK E.B., PALMER T.A., POLLACK J.B. (2017) - How does a restored oyster reef develop? An assessment based on stable isotopes and community metrics. *Mar. Biol.*, **164**: 54.
- RILOV G. (2016) - Multi-species collapses at the warm edge of a warming sea. *Sci. Rep.*, **6**: 36897.
- VAN DER MEER J., BREY T., HEIP C., HERMAN P.M.J., MOENS T., VAN OEVELEN D. (2013) - Measuring the flow of energy and matter in marine benthic animal populations. In: Eleftheriou A. (ed), *Methods for the study of marine benthos*. Wiley-Blackwell: 349-426.

B. BOTTINI, L. BISANTI, M. MILAZZO, R. CHEMELLO

Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare (Di.S.Te.M.), Università di Palermo, Italia.
luca.bisanti@unipa.it

**COASTAL ACCESSIBILITY AS VULNERABILITY FACTOR
FOR *PATELLA ULYSSIPONENSIS* GMELIN, 1791
IN A MEDITERRANEAN MPA**

**ACCESSIBILITÀ COSTIERA COME FATTORE DI VULNERABILITÀ
PER *PATELLA ULYSSIPONENSIS* GMELIN, 1791
IN UN'AMP MEDITERRANEA**

Abstract - Average density of *Patella ulyssiponensis* Gmelin, 1791 was correlated with coastal accessibility and tourists' density. The results highlighted that the accessibility could have a greater weight than the MPA regulation, in absence of patrolling, on the vulnerability of this sensitive species.

Key-words: Marine Protected Area, vulnerable species, harvesting, Mediterranean Sea.

Introduction - *Patella ulyssiponensis* Gmelin, 1791 is a gastropod mollusc living along intertidal rocky shores of the Northeast Atlantic, Mediterranean and Black Sea. This grazer plays an essential role in balancing coastal communities, regulating macroalgal abundance and ecosystem stability (Maggi *et al.*, 2015). Harvesting of *P. ulyssiponensis* - widely practiced in Sicily - is carried out both for commercial and recreational purposes. *P. ulyssiponensis* is known to be sensitive to harvesting (Marra *et al.*, 2017). Previous work along the Sicilian shore has shown that limpet populations are affected by size-selective harvesting, becoming susceptible to "recruitment overfishing" (Santos *et al.*, 1995) due to the sex ratio distortion (*i.e.*, removal of larger females), especially during the summer period when the coasts more frequented by bathers (Ciancimino *et al.*, 2014). Coastal protection can theoretically preserve this limpet species from over-harvesting, maintaining an unaltered population structure. Nevertheless, the presence of bans, without an adequate patrolling, cannot be sufficient to ensure effective conservation. The easy accessibility to the coasts is one of the main factors that increase the vulnerability of *P. ulyssiponensis*, also within Marine Protected Areas (MPAs) (Marra *et al.*, 2017). The aim of this study is to evaluate how accessibility to the coast, calculated as a combination of distance from the road and presence of natural obstacles, number of tourists and vicinity to commercial or tourist harbours, affect conservation of *P. ulyssiponensis* in a MPA.

Materials and methods - The study was carried out in "Capo Gallo-Isola delle Femmine" MPA (NW Sicily). Within each MPA protection level zone (A, B, C) two locations have been selected, and three sites were chosen in each location (n=18). In each site, the average density of *P. ulyssiponensis* was calculated using 13 random quadrats of 20×20 cm. Furthermore, the accessibility rank of each site was calculated by combining the distance of the coastline from a road (*e.g.*, high accessibility, less than 50 m; medium accessibility, from 50 to 100 m; low accessibility greater than 100 m) with the presence of coastal protection (high accessibility, no protection; low accessibility, protected) (Ciancimino *et al.*, 2014), adding the average distance of each site from the main harbours in the surrounding areas and the average number of bathers (ind/50 m linear), censused in the summer period on different days and

hours. The accessibility ranks ranged from a minimum value of 1 (lowest accessibility) to a maximum value of 10 (highest accessibility). Data were analyzed using a linear regression analysis between mean density of *P. ulyssiponensis* in each site and, respectively, accessibility, mean distance from harbours, and tourist's mean density.

Results - The highest mean density of *P. ulyssiponensis* was found in the northern side of Isola delle Femmine islet (11.15 ± 4.62 ind/400 cm²), corresponding to the lowest rank of accessibility (Tab. 1; Fig. 1). The lowest average density of *P. ulyssiponensis* was found in Barcarello (1.46 ± 1.39 ind/400 cm²), corresponding to the highest level of accessibility (Tab. 1; Fig. 1). Within the three different MPA protection levels, the mean density of *P. ulyssiponensis* was 6.03 ± 4.31 ind/400 cm² in A zone, 3.41 ± 2.44 ind/400 cm² in B zone, 2.13 ± 2.03 ind/400 cm² in C zone (Fig. 2). Regression analyses showed very significant relationship ($r=0.77$; $p<0.001$; $n=18$) between density of limpets and accessibility and significant relation ($r=0.54$; $p<0.05$; $n=18$) between density of limpets and density of tourists. On the other hand, no relation was shown between density of limpets and distance from harbours ($r=0.42$; $p>0.05$; $n=18$). The mean density was also compared with the rank of accessibility for each location and the results indicate that low densities of limpets correspond to high levels of accessibility (Fig. 3).

Tab. 1 - Mean density (\pm SD) of *P. ulyssiponensis*, accessibility rank, distance from harbour and tourist density for each location chosen within the Capo Gallo-Isole delle Femmine MPA protection zones.

Densità media (\pm DS) di P. ulyssiponensis, grado di accessibilità, distanza dal porto e densità turistica per ciascuna località scelta all'interno delle zone protette dell'AMP Capo Gallo-Isole delle Femmine.

MPA protection level zone	Location	Mean density \pm SD (ind/400 cm ²)	Accessibility rank	Distance from harbour (km)	Tourist density (ind/50 m linear)
A	Isolotto nord	11.15 \pm 4.62	2	7.88	0
	Isolotto nord	6.69 \pm 4.85	2	7.93	0
	Isolotto nord	5.08 \pm 2.99	2	7.98	0
	Capogallo	4.69 \pm 2.78	5	4.09	0
	Capogallo	4.00 \pm 2.83	4	4.14	0
	Capogallo	4.53 \pm 3.33	3	4.19	0
B	Faro Capogallo	4.31 \pm 2.53	6	4.09	0
	Faro Capogallo	3.69 \pm 2.10	6	4.14	2
	Faro Capogallo	3.61 \pm 2.63	6	4.19	0
	Avamposto	3.61 \pm 2.87	8	4.13	0
	Avamposto	2.92 \pm 2.40	6	4.18	2
	Avamposto	2.30 \pm 1.97	6	4.23	1
C	Barcarello	1.61 \pm 1.85	9	4.33	32
	Barcarello	1.46 \pm 1.39	9	4.38	33
	Barcarello	2.31 \pm 2.21	9	4.43	32
	Isola Terraferma	2.46 \pm 2.15	9	7.33	12
	Isola Terraferma	2.38 \pm 2.10	9	7.38	12
	Isola Terraferma	2.54 \pm 2.44	9	7.43	13

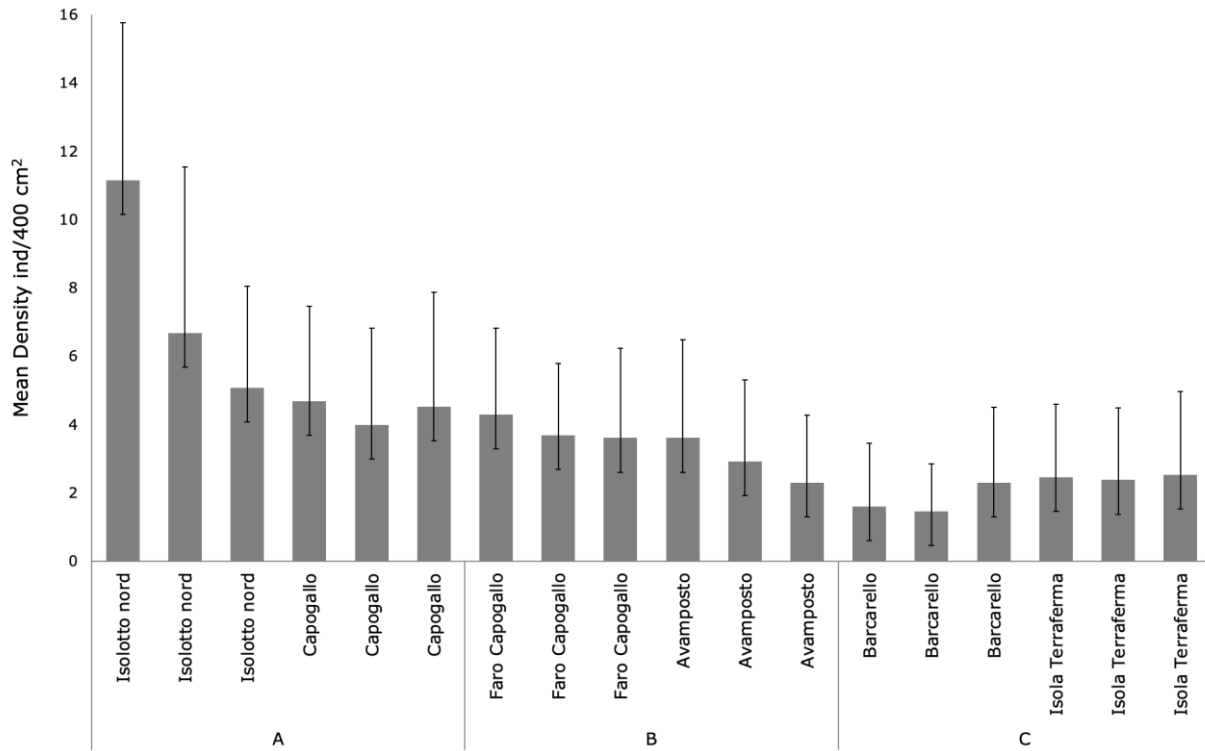


Fig. 1 - Mean density (\pm SD) of *P. ulyssiponensis* for each location within the Capo Gallo-Isola delle Femmine MPA protection zones A, B, C.

*Densità media (\pm DS) di *P. ulyssiponensis* per ciascun sito all'interno delle zone protette A, B, C dell'AMP Capo Gallo-Isola delle Femmine.*

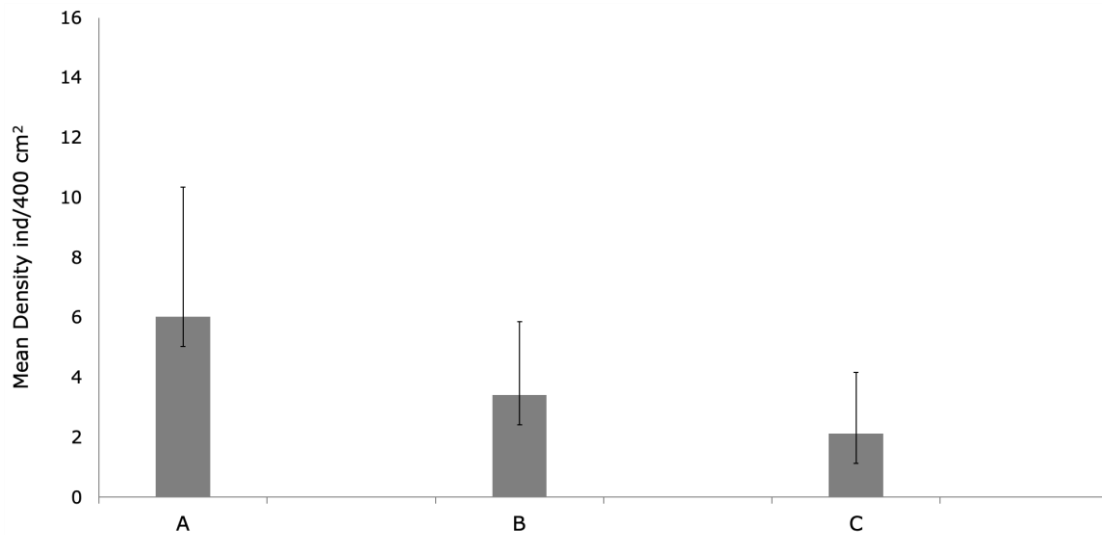


Fig. 2 - Mean density (\pm SD) of *P. ulyssiponensis* within the Capo Gallo-Isola delle Femmine MPA protection zones A, B, C.

*Densità media (\pm DS) di *P. ulyssiponensis* all'interno delle zone protette A, B, C dell'AMP Capo Gallo-Isola delle Femmine.*

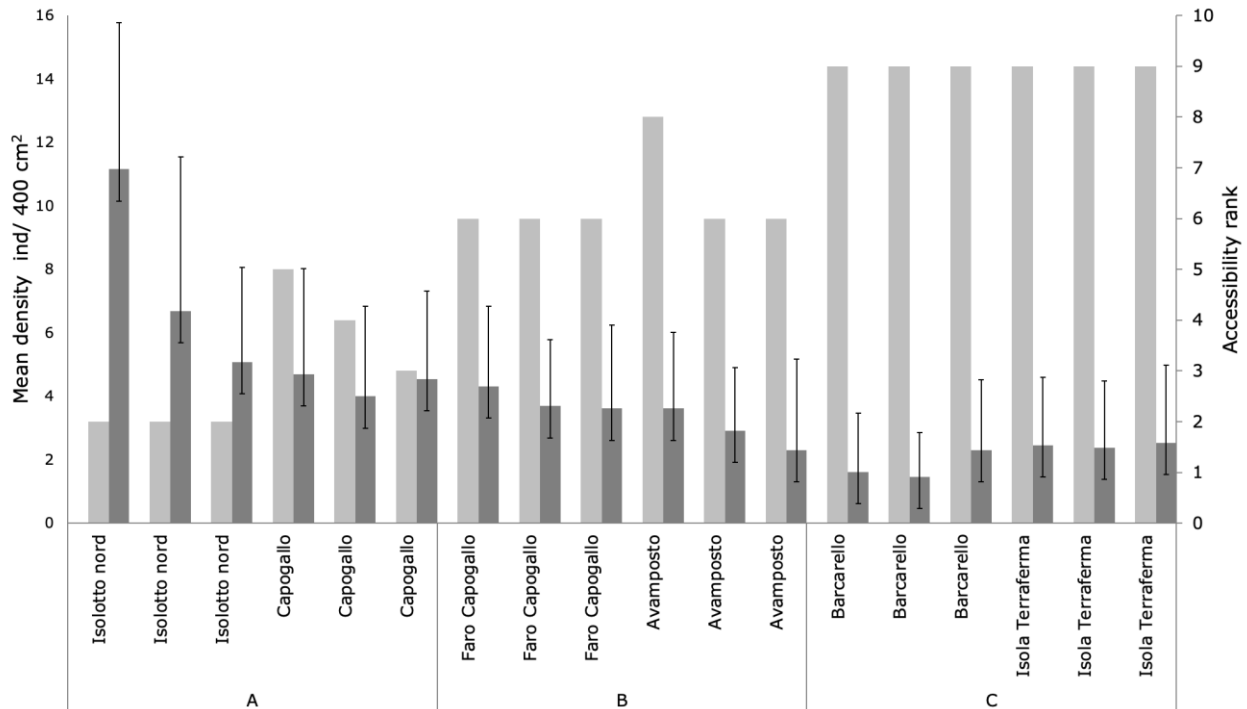


Fig. 3 - Mean density (\pm SD; dark gray) of *P. ulyssiponensis* and accessibility rank (light grey) for each location.

*Densità media (\pm DS; grigio scuro) di *P. ulyssiponensis* e accessibilità (grigio chiaro) per ciascuna località.*

Conclusions - The lowest density of *P. ulyssiponensis*, found in sites with high accessibility levels and high density of bathers, might indicate that the higher the coastal accessibility the higher the chance for limpet harvesting. This suggests that accessible coasts may be a vulnerability factor for this species. The relationship between distance from harbours and limpet density shows that accessibility from the land has a greater influence on harvesting activity than that from the sea. Hence, our results may also suggest that accessibility rank could have a greater weight than MPA regulations, in absence of patrolling. In the "Capo Gallo-Isola delle Femmine" MPA, *P. ulyssiponensis* is effectively protected, despite the absence of any kind of surveillance, as decreasing levels of protection (*i.e.*, A, B, and C zones of the MPA) incidentally correspond to decreasing degrees of coastal accessibility.

References

- CIANCIMINO V., MILAZZO M., CHEMELLO R. (2014) - Effects of human harvesting on *Patella ulyssiponensis* Gmelin, 1791 populations. *Biol. Mar. Mediterr.*, **21** (1): 186-187.
- MAGGI E., MILAZZO M., GRAZIANO M., CHEMELLO R., BENEDETTI-CECCHI L. (2015) - Latitudinal- and local-scale variations in a rocky intertidal interaction web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **534**: 39-48.
- MARRA S., COPPA S., CAMEDDA A., MASSARO G., DE LUCIA G.A. (2017) - The exploitation of limpets in a Mediterranean Marine Protected Area: assessing the effectiveness of protection in the intertidal zone. *Mediterr. Mar. Sci.*, **18** (3): 406-423.
- SANTOS R.S., HAWKINS S., MONTEIRO L.R., ALVES M., ISIDRO E.J. (1995) - Marine research, resources and conservation in the Azores. *Aquat. Conserv.*, **5** (4): 311-354.

G. LO BUE, N. MANCIN, M.P. RICCARDI, A. MARCHINI

Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Italia.
agnese.marchini@unipv.it**PRESENZA DI GUSCI DI FORAMINIFERI NEI TUBI
DI SABELLARIA ALVEOLATA (ANNELIDA, POLYCHAETA):
SELEZIONE O SCELTA CASUALE?****PRESENCE OF FORAMINIFERAL TESTS IN SABELLARIA ALVEOLATA TUBES
(ANNELIDA, POLYCHAETA): CHERRY-PICKING OR RANDOM SELECTION?**

Abstract - *Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767) is a sedentary polychaete that lives in aggregated sand-tubes. Several studies report the functional role of these bioconstructions in coastal ecosystems, thus is important to know the constructional pattern. Samples of *S. alveolata* tubes were collected in southern Sicily, along with samples from the nearby sediment. Foraminiferal tests contained in both types of samples were quantified and classified into functional morphogroups, in order to understand if this polychaete actively selects a specific type of granule for its bioconstruction. We report a higher foraminiferal tests concentration inside bioconstructions than in sediment, with preference for biconvex and spherical morphogroups.

Key-words: *Sabellaria alveolata*, foraminifera, sandstone bioconstruction, Southern Sicily, Central Mediterranean Sea.

Introduzione - Le biocostruzioni sono strutture tridimensionali che si ergono dal substrato creando un nuovo habitat diverso da quello preesistente. Nel Mar Mediterraneo si osserva una grande varietà di forme, dimensioni e meccanismi attraverso i quali avviene il fenomeno biocostruttivo, dagli ecosistemi costieri alle acque profonde (Ingrosso *et al.*, 2018). Tra le biocostruzioni costiere troviamo quelle del polichete *Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767). *S. alveolata* è un polichete sedentario, gregario, che vive in tubi arenacei costruiti agglutinando granuli di sedimento della taglia delle sabbie, prelevati dalla colonna d'acqua. Le sue biocostruzioni possono crescere su substrati rocciosi o sabbiosi con diverse morfologie. L'agglutinamento dei granuli avviene attraverso un cemento organico che ha proprietà visco-elastiche utili a dissipare lo stress meccanico del moto ondoso. Dati di letteratura (Sanfilippo *et al.*, 2019 *cum bibl.*) e osservazioni dirette mostrano che i granuli agglutinati sono selezionati in base alla loro dimensione e forma: in particolare, sembra che esista una predilezione per i gusci dei foraminiferi. Vista l'importanza delle biocostruzioni a sabellaridi nella creazione di habitat e il ruolo che rivestono nella protezione degli ambienti mediolitorali dall'erosione (Naylor e Viles, 2000), è indispensabile capirne l'architettura e i meccanismi di costruzione. Inoltre, le biocostruzioni a policheti sono state inserite dall'Unione Europea nella 'lista rossa' degli habitat marini mediterranei, ma la conoscenza di questi ecosistemi e la comprensione delle dinamiche che li riguardano in un'ottica quantitativa, risulta essere troppo frammentata e carente per la valutazione dei possibili impatti (Gravina *et al.*, 2018). Lo scopo di questo studio è indagare se i gusci di foraminiferi vengano utilizzati preferenzialmente da *S. alveolata* per costruire i propri tubi, e se questi gusci siano prelevati in funzione della loro forma (morfogruppi) o semplicemente della loro disponibilità nel sedimento.

Materiali e metodi - Tra il 4 e il 9 settembre 2019 è stato effettuato il campionamento di due biocostruzioni a *Sabellaria alveolata* presenti a Marina di Ragusa (MR) e Punta Braccetto (PB) lungo la costa sud della Sicilia (Fig. 1). In ogni sito sono

stati raccolti campioni dell'aggregato di tubi (frammenti di ~12 tubi, senza danneggiare la biocostruzione) e del sedimento sabbioso circostante (~15 ml di sedimento), in base al disegno di campionamento riportato in Fig. 1. I tubi sono stati prelevati da due porzioni distinte della biocostruzione, basale e apicale; similmente, i campioni di sedimento sono stati raccolti in prossimità della biocostruzione (<5 m) e da una zona distale (>5 m). I campioni di biocostruzione sono stati raccolti con una spatola d'acciaio e immediatamente conservati in barattoli sterili in plastica; i campioni di sedimento sono stati raccolti seguendo il protocollo FoBIMO: dallo strato superficiale (0-2 cm) a distanza di pochi metri l'uno dall'altro.

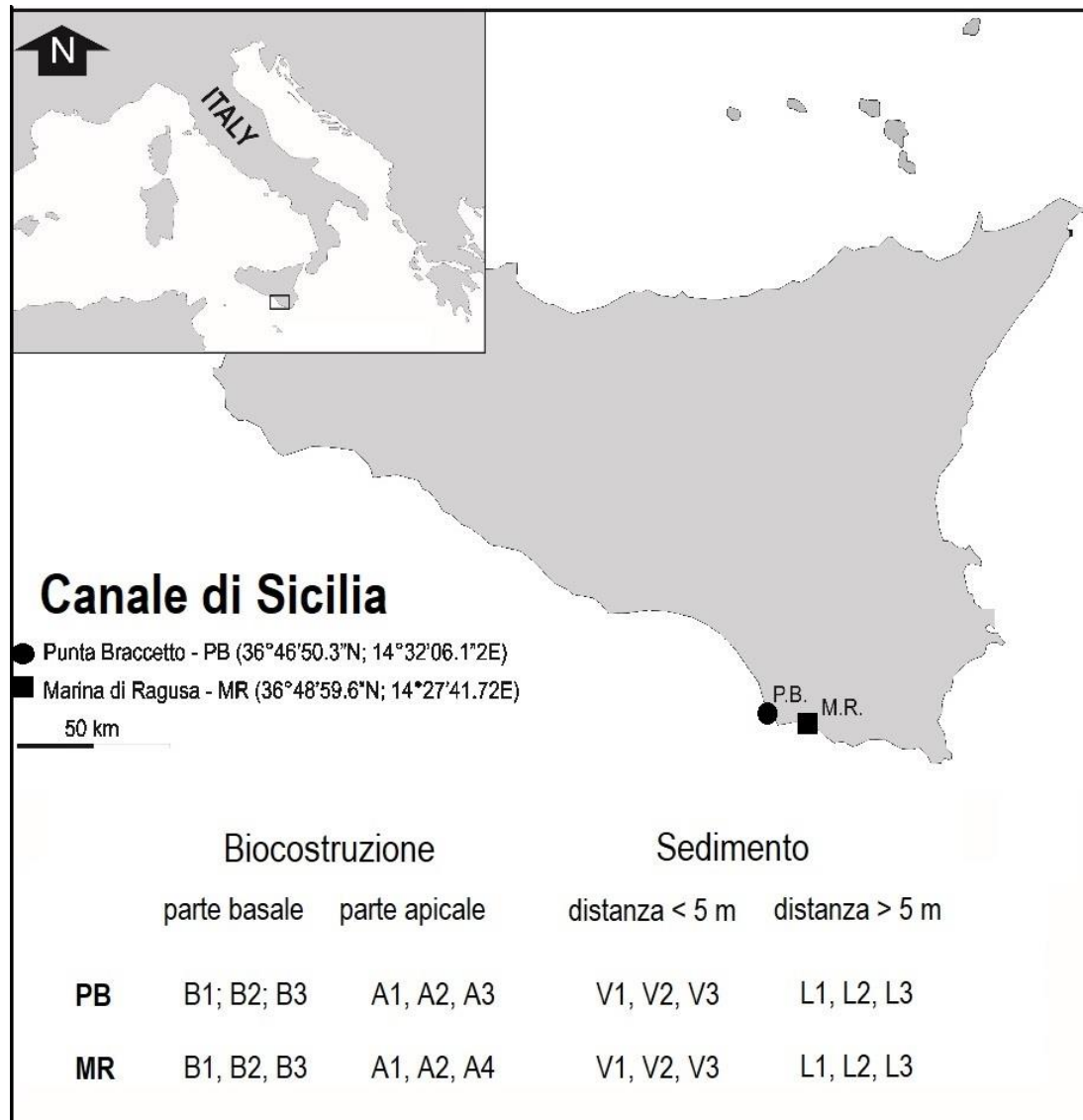


Fig. 1 - Area di studio e disegno di campionamento.
Study area and sampling design.

Tutti i campioni sono stati conservati in una soluzione di etanolo al 70% per preservare le parti molli degli organismi al fine dell'identificazione tassonomica dei policheti. In laboratorio, i campioni sono stati essiccati (~40 °C per 30 ore), pesati, preparati con la tecnica standard dei lavati utilizzando un setaccio a maglie di 63 µm e analizzati allo stereomicroscopio. I dati quantitativi sono stati raccolti in abbondanze assolute, calcolate come numero di gusci di foraminiferi per grammo di sedimento secco. I foraminiferi sono stati identificati a livello di specie (quando possibile) e classificati in

morfogruppi secondo Mancin e Pirini (2002). L'analisi dei dati è stata effettuata tramite il software PRIMER-e v.7 + PERMANOVA, utilizzando come variabile di risposta le abbondanze assolute dei generi e dei morfogruppi. L'ipotesi nulla testata ha previsto l'assenza di differenze significative nell'abbondanza di gusci di foraminiferi tra i substrati (sedimento e biocostruzione). Tre porzioni di biocostruzione sono state essiccate, inglobate in resina, sezionate e preparate come sezioni lucide per essere analizzate al microscopio elettronico a scansione (SEM), secondo la metodologia descritta in Mancin *et al.* (2014).

Risultati - In entrambi i siti, è stata osservata una maggiore abbondanza di gusci di foraminiferi nei campioni di biocostruzione (abbondanza media di $1,82 \text{ N g}^{-1}$ nel sito PB e $1,64 \text{ N g}^{-1}$ nel sito MR) rispetto alle abbondanze osservate nei campioni di sedimento ($1,48 \text{ N g}^{-1}$ nel sito PB e $1,50 \text{ N g}^{-1}$ nel sito MR). I generi bentonici *Ammonia*, *Cibicides*, *Cibicidoides* e i planctonici *Globigerina*, *Globigerinoides* sono risultati i più abbondanti in entrambi i siti. I gusci con morfologia biconvessa (Fig. 2) hanno una maggiore abbondanza all'interno dei campioni di biocostruzione. Al contrario, per i gusci di foraminiferi con morfologia sferica sono state registrate delle abbondanze simili tra i campioni di biocostruzione e quelli di sedimento nel sito PB, mentre nel sito MR questi sono più abbondanti nei campioni di sedimento rispetto ai campioni di biocostruzione. Da segnalare, inoltre, tra i foraminiferi con morfologia biconvessa, rari esemplari di *Amphistegina lobifera* Larsen, 1976 una specie non-indigena entrata dal Canale di Suez e segnalata per la prima volta nella costa meridionale siciliana nel 2017 (Guastella *et al.*, 2019).

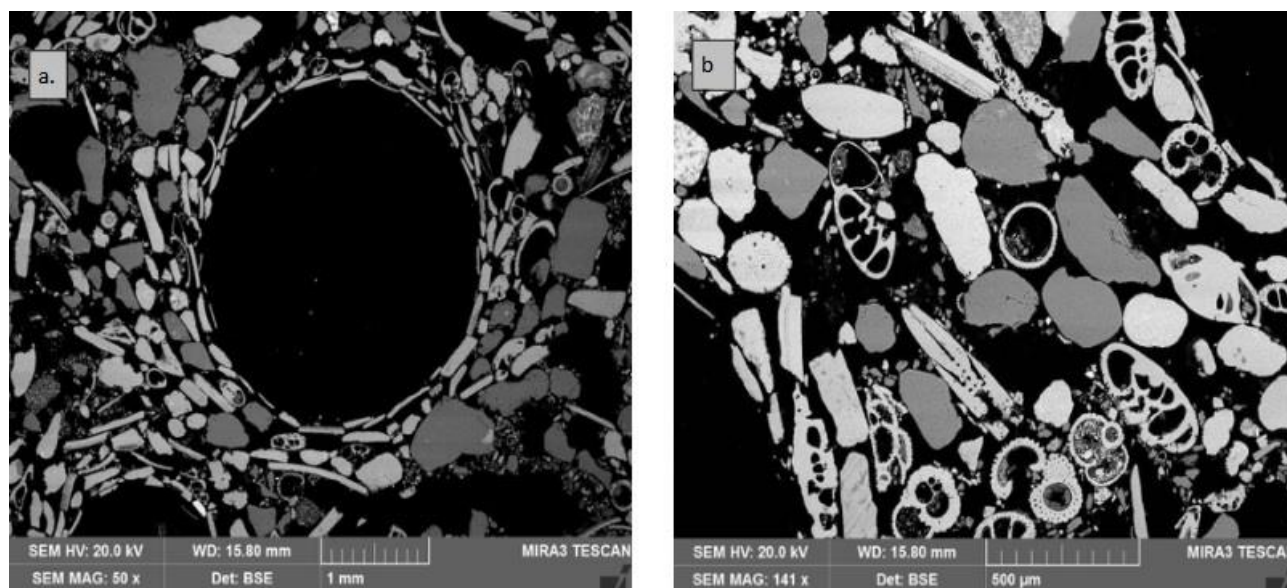


Fig. 2 - a) Immagine al SEM della sezione equatoriale di un tubo arenaceo di *S. alveolata*; b) dettaglio della parete agglutinata con gusci di foraminiferi di forma biconvessa e sferica.

a) SEM image showing the equatorial section of an arenaceous tube of *S. alveolata*; b) detail of the agglutinated tube wall with foraminiferal tests of biconvex and rounded morphologies.

Conclusioni - I risultati mostrano come *Sabellaria alveolata* agglutini preferenzialmente gusci di foraminiferi con morfologie sferiche e biconvesse. L'elevata proporzione di gusci di foraminiferi con forma biconvessa e sferica nelle biocostruzioni di *S. alveolata* può essere spiegata attraverso la diversa idrodinamicità dei granuli di

sedimento mantenuti in sospensione dal moto ondoso: il minor peso e la forma tondeggianti e/o biconvessa, favoriscono probabilmente i gusci dei foraminiferi nel mantenersi sospesi nella colonna d'acqua, rendendoli più disponibili alla cattura da parte del polichete, in un continuo meccanismo di riciclo (Reuter *et al.*, 2010). I gusci maggiormente catturati dal polichete entrano a far parte della biocostruzione, e quando questa viene parzialmente erosa, soprattutto durante la stagione invernale, tendono ad accumularsi nel sedimento più prossimo alla biocostruzione e quindi ad essere riutilizzati durante le fasi di successiva crescita, contribuendo al progressivo arricchimento in gusci di foraminiferi (*e.g.*, Reuter *et al.*, 2010). La presenza di individui di una specie non-indigena segnalata per la prima volta nell'area di studio nel 2017, all'interno di una biocostruzione a sabellaridi, indica quanto rapidamente le specie aliene possano invadere il nuovo ambiente colonizzato.

Bibliografia

- GRAVINA M.F., CARDONE F., BONIFAZI A., BERTRANDINO M.S., CHIMIANTI G., LONGO C., NONNIS MARZANO C., MORETTI M., LISCO S., MORETTI V., CORRIERO G., GIANGRANDE A. (2018) - *Sabellaria spinulosa* (Polychaeta, Annelida) reefs in the Mediterranean Sea: habitat mapping, dynamics and associated fauna for conservation management. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **200**: 248-257.
- GUASTELLA R., MARCHINI A., CARUSO A., COSENTINO C., EVANS J., WEINMANN A.E., LANGER M.R., MANCIN N. (2019) - "Hidden invaders" conquer the Sicily Channel and knock on the door of the Western Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **225**: 106234.
- INGROSSO G., ABBIATI M., BADALAMENTI F., BAVESTRELLO G., BELMONTE G., CANNAS R., BENEDETTI-CECCHI L., BERTOLINO M., BEVILACQUA S., BIANCHI C.N., BO M., BOSCARI E., CARDONE F., CATTANEO-VIETTI R., CAU A., CERRANO C., CHEMELLO R., CHIMIANTI G., CONGIU L., CORRIERO G., COSTANTINI F., DE LEO F., DONNARUMMA L., FALACE A., FRASCHETTI S., GIANGRANDE A., GRAVINA M.F., GUARNIERI G., MASTROTOTARO F., MILAZZO M., MORRI C., MUSCO L., PEZZOLESI L., PIRAINO S., PRADA F., PONTI M., RINDI F., RUSSO G.F., SANDULLI R., VILLAMOR A., ZANE L., BOERO F. (2018) - Mediterranean bioconstructions along the Italian coast. *Adv. Mar. Biol.*, **79**: 61-136.
- MANCIN N., PIRINI C. (2002) - Benthic and planktonic Foraminifera of the Paleogene Epiligurian succession (Northern Apennines, Italy): a tool for paleobathymetric reconstruction. *B. Soc. Paleontol. Ital.*, **41** (2-3): 187-213.
- MANCIN N., BASSO E., KAMINSKI M.A., DOGAN A.U. (2014) - A standard SEM-EDS methodology to determine the test microstructure of fossil agglutinated foraminifera. *Micropaleontology*, **60** (1): 13-26.
- NAYLOR L.A., VILES H.A. (2000) - A temperate reef builder: an evaluation of the growth, morphology and composition of *Sabellaria alveolata* (L.) colonies on carbonate platforms in South Wales. *Geol. Soc. Spec. Publ.*, **178**: 9-19.
- REUTER M., PILLER W.E., KROH A., HARZHAUSER M. (2010) - Foraminifera recycling in worm reefs. *Coral Reef*, **29**: 57.
- SANFILIPPO R., ROSSO A., MASTANDREA A., VIOLA A., DEIAS C., GUIDO A. (2019) - *Sabellaria alveolata* sandcastle worm from the Mediterranean Sea: new insights on tube architecture and biocement. *J. Morphol.*, **280** (12): 1839-1849.

D. OLIVA, R. GUASTELLA, M. LOURIE, N. MANCIN, J. FERRARIO, A. MARCHINI

Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Italia.
jasmine.ferrario@unipv.it**IMPATTO DELLA SPECIE INVASIVA AMPHISTEGINA LOBIFERA
SULLA STRUTTURA DI COMUNITÀ A FORAMINIFERI BENTONICI
NEL CANALE DI SICILIA****IMPACT OF THE INVASIVE SPECIES AMPHISTEGINA LOBIFERA
ON BENTHIC FORAMINIFERAL COMMUNITY STRUCTURE
IN THE SICILY CHANNEL**

Abstract - *Amphistegina lobifera* Larsen, 1976 is a non-indigenous benthic foraminiferal species that has successfully invaded the eastern Mediterranean Sea and more recently also the Sicily Channel (Central Mediterranean). This study investigates the effects of *A. lobifera* establishment on the structure of native foraminiferal communities, in terms of species richness and diversity. We analysed communities from two areas of the Sicily Channel that have experienced different levels of invasion by *A. lobifera*: highly invaded (Malta) and moderately invaded (Southern Sicily). Our results suggest that both diversity and richness of benthic foraminiferal community from Malta are strongly modified by the occurrence of *A. lobifera*.

Key-words: *Amphistegina lobifera*, benthic foraminifera, Lessepsian invasion, Sicily Channel, Central Mediterranean Sea.

Introduzione - La specie *Amphistegina lobifera* Larsen, 1976 (Fig. 1) è originaria dell'areale Indo-Pacifico, dove ha un'ampia distribuzione geografica. Con l'apertura del Canale di Suez, popolazioni del Mar Rosso sono penetrate nel Mediterraneo orientale (Prazeres *et al.*, 2020), dove la specie si è ben stabilizzata, fino a divenire invasiva. Nel bacino levantino, infatti, *A. lobifera* ha causato importanti alterazioni nella struttura tassonomica e funzionale delle comunità a foraminiferi (Mouanga e Langer, 2014), arrivando a essere considerata tra le top 26 specie non-indigene nei mari europei che destano maggiore preoccupazione (Tsiamis *et al.*, 2020). In tempi più recenti, la specie è stata segnalata anche in Mediterraneo centrale, lungo le coste tunisine, maltesi e siciliane (El Kateb *et al.*, 2018; Guastella *et al.*, 2019). Tuttavia, gli impatti ecologici di questa specie in quest'area non sono ancora stati quantificati.

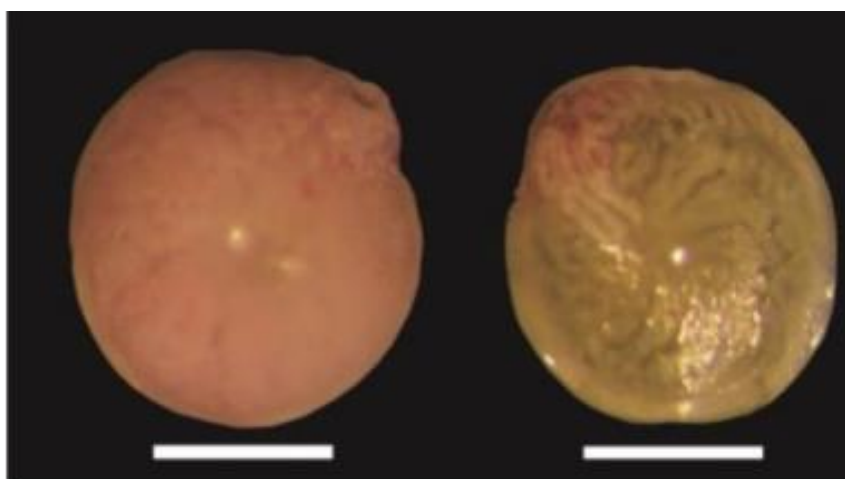


Fig. 1 - Visione ventrale (sinistra) e dorsale (destra) di un individuo di *A. lobifera* raccolto a Malta. La barra bianca rappresenta 0,5 mm.

Ventral (left) and dorsal (right) view of an A. lobifera individual collected at Malta. Scale bar represents 0.5 mm.

Obiettivo del presente lavoro è cercare di determinare se e quanto la presenza di *A. lobifera* sia in grado di alterare la comunità a foraminiferi bentonici in termini di ricchezza specifica e diversità. Lo studio è stato condotto in due aree del Canale di Sicilia: Malta, dove la specie ha già stabilito popolazioni ad alta densità, e le coste sudorientali della Sicilia, dove la sua presenza è ancora relativamente contenuta (Guastella *et al.*, 2019).

Materiali e metodi - I campioni sono stati raccolti a 2-5 m di profondità in tre siti dell'arcipelago maltese e in tre siti della provincia di Siracusa, rispettivamente nel maggio 2018 e luglio 2018. I siti sono stati selezionati sulla base delle informazioni note sulla distribuzione e abbondanza della specie (Guastella *et al.*, 2019) e le caratteristiche del fondale (Tab. 1). In ogni sito sono state raccolte tre repliche di 30 g di sedimento secondo il protocollo FoBIMO (Schönfeld *et al.*, 2012) per l'analisi delle comunità di foraminiferi. I campioni, trattati con rosa Bengala per distinguere i foraminiferi vivi da quelli morti, sono stati preparati con la tecnica standard dei lavati utilizzando il setaccio con maglie di 63 μm . I residui ottenuti sono stati analizzati allo stereoscopio al fine di caratterizzare l'associazione a foraminiferi bentonici (vivi + morti) a livello di genere e specie (quando possibile) e quantificare l'abbondanza assoluta dei taxa presenti (espressa in N° individui per g di sedimento secco). In ogni sito sono stati calcolati i valori medi di ricchezza specifica (S) e diversità (H' , calcolata come indice di Shannon). Le differenze in ricchezza di specie e diversità tra i siti e tra le due aree con differenti livelli di invasione (elevato a Malta e basso in Sicilia) sono state testate con ANOVA a due vie, considerando il fattore area (fisso) e il fattore sito (random, annidato in area).

Tab. 1 - Dettagli dei siti di campionamento lungo la costa maltese e della Sicilia meridionale.

Details on sampling sites along the coasts of Malta and southern Sicily.

Area	Sito (sigla)	Lat	Long	Profondità	Osservazioni
	Crystal Lagoon (cl)	36°00'32.3"N	14°19'45.4"E	5 m	<i>Posidonia oceanica</i> assente
Malta	Hondoq ir-Rummien (hir)	36°01'35.1"N	14°19'18.8"E	5 m	<i>Posidonia oceanica</i> assente
	Balluta Bay (bb)	35°54'56.2"N	14°29'48.4"E	4 m	<i>Posidonia oceanica</i> assente
	Isola delle correnti (idc)	36°39'22.1"N	15°05'43.1"E	4 m	Fondale con <i>Posidonia oceanica</i>
Sicilia	Marzamemi (mm)	34°43'25.9"	15°07'22.0"E	5,5 m	Fondale con <i>Posidonia oceanica</i>
	Porto Palo (pp)	36°41'10.5"N	15°08'35.9"E	5 m	<i>Posidonia oceanica</i> assente

Risultati - I seguenti risultati si riferiscono all'analisi dell'intera comunità a foraminiferi (vivi + morti), che consentono di compensare per le eventuali differenze stagionali e avere un quadro più completo della comunità nell'area indagata (Jorissen *et al.*, 2018). Sono state identificate 115 specie di foraminiferi bentonici, di cui 45 presenti a Malta, e 113 in Sicilia. A Malta la specie dominante è *Amphistegina lobifera* (abbondanza media: $18,6 \pm 7,9$ ind g^{-1}), accompagnata da *Peneroplis pertusus* (Forsskål in Niebuhr, 1775) ($0,3 \pm 0,2$ ind g^{-1}) ed *Elphidium macellum* (Fichtel & Moll, 1798) ($0,2 \pm 0,1$ ind g^{-1}). In Sicilia, invece, *A. lobifera* è presente solo in un sito con abbondanze estremamente ridotte ($0,3 \pm 0,9$ ind g^{-1}); la specie più abbondante è *Rosalina bradyi*

(Cushman, 1915) ($28,4 \pm 17,9$ ind g^{-1}), seguita da *P. pertusus* ($27,4 \pm 10,9$ ind g^{-1}) e *Lobatula lobatula* (Walker & Jacob, 1798) ($20,2 \pm 16,4$ ind g^{-1}). Pur con differenze tra i vari siti (Fig. 2), i campioni di Malta presentano complessivamente circa il 61% di specie in meno rispetto ai siti siciliani e differiscono significativamente da questi sia per ricchezza specifica ($F=15,230$; $p=0,0175$), sia per diversità ($F=44,90$; $p=0,0026$).

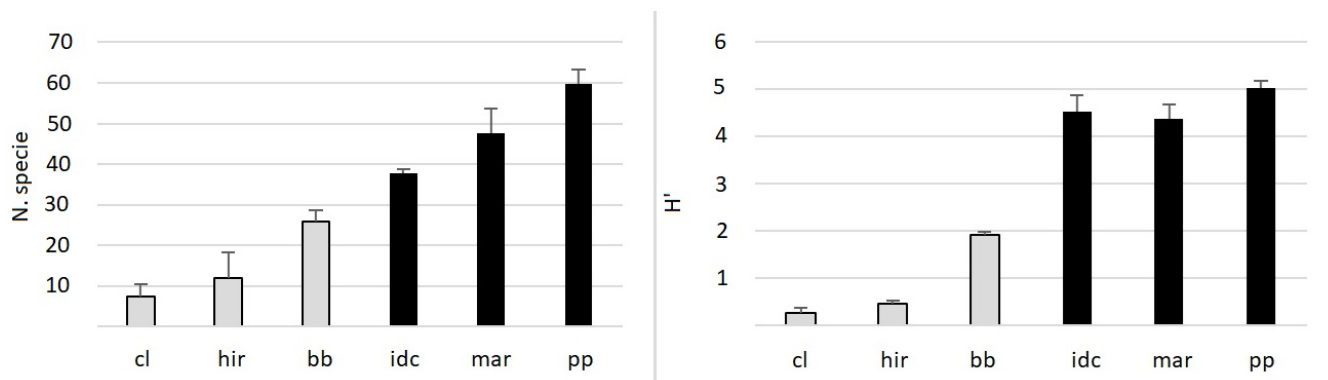


Fig. 2 - Valori medi (+D.S.) di ricchezza in specie (sinistra) e diversità di Shannon H' (destra) per ogni sito di Malta (grigio) e Sicilia (nero). Per le sigle dei siti si veda la Tab. 1.

Mean values (+S.D.) of species richness (left) and diversity Shannon index H' (right) for each site in Malta (grey) and Sicily (black). See Tab. 1 for site labels.

Conclusioni - I risultati, sebbene preliminari, suggeriscono importanti differenze nella struttura di comunità a foraminiferi bentonici tra le due aree in esame. A Malta, dove si sono localmente stabilizzate popolazioni ad alte densità, *Amphistegina lobifera* si conferma essere una specie con elevato potenziale di impatto sulla comunità (Mouanga e Langer, 2014; Tsiamis *et al.*, 2020). A Crystal Lagoon e Hondoq ir-Rummien (Malta) l'indice di diversità di Shannon mostra valori medi inferiori a 1, sintomo di comunità fortemente sbilanciate, soprattutto se comparate ai valori dell'indice vicini a 4 osservati in Sicilia, dove la specie indo-pacifica non ha al momento sviluppato popolazioni ad elevate densità. Guastella *et al.* (2019) hanno ipotizzato che la costa meridionale della Sicilia sia attualmente teatro di uno stadio più precoce dell'invasione di *A. lobifera*, e che nel tempo la specie possa arrivare a sviluppare popolazioni ad elevate abbondanze anche nei litorali siciliani. L'avanzata della specie sembra essere promossa dal cambiamento climatico e in particolar modo dallo spostamento verso nord dell'isoterma superficiale invernale dei 14 °C, che funge da barriera per l'espansione di questa specie. È quindi possibile aspettarsi che nel prossimo futuro *A. lobifera* possa risultare favorita dal riscaldamento delle temperature del mare anche in siti dove al momento mantiene popolazioni contenute, e acquisire un vantaggio competitivo sulle specie che compongono la comunità nativa. Risulta quindi fondamentale approfondire la conoscenza dello stato attuale delle comunità per poter misurare l'entità di questo possibile cambiamento in atto. In particolare, il confronto dei conteggi totali con i conteggi dei soli individui vivi fornirà ulteriori indicazioni sulla comunità, inclusa l'abbondanza attuale di *A. lobifera*.

Bibliografia

- EL KATEB A., STALDER C., STAINBANK S., FENTIMEN R., SPEZZAFERRI S. (2018) - The genus *Amphistegina* (benthic foraminifera): distribution along the southern Tunisian coast. *BioInvasions Rec.*, **7** (4): 391-398.
- GUASTELLA R., MARCHINI A., CARUSO A., COSENTINO C., EVANS J., WEINMANN A.E., LANGER M.R., MANCIN N. (2019) - "Hidden invaders" conquer the Sicily Channel and knock on the door of the Western Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **225**: 106234.

- JORISSEN F., NARDELLI M.P., ALMOGI-LABIN A., BARRAS C., BERGAMIN L., BICCHI E., EL KATEB A., FERRARO L., MCGANN M., MORIGI C., ROMANO E., SABBATINI A., SCHWEIZER M., SPEZZAFERRI S. (2018) - Developing Foram-AMBI for biomonitoring in the Mediterranean: species assignments to ecological categories. *Mar. Micropaleontol.*, **140**: 33-45.
- MOUANGA G.H., LANGER M.R. (2014) - At the front of expanding ranges: shifting community structures at amphisteginid species range margins in the Mediterranean Sea. *N. Jb. Geol. Paläont. Abh.*, **271** (2): 141-150.
- PRAZERES M., MORARD R., ROBERTS T.E., DOO S.S., JOMPA J., SCHMIDT C., STUHR M., RENEMA W., KUCERA M. (2020) - High dispersal capacity and biogeographic breaks shape the genetic diversity of a globally distributed reef-dwelling calcifier. *Ecol. Evol.*, **10** (12): 5976-5989.
- SCHÖNFELD J., ALVE E., GESLIN E., JORISSEN F., KORSUN S., SPEZZAFERRI S., MEMBERS OF THE FOBIMO GROUP (2012) - The FOBIMO (FORaminiferal BIo-MONitoring) initiative - Towards a standardized protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Mar. Micropaleontol.*, **94-95**: 1-13.
- TSIAMIS K., AZZURRO E., BARICHE M., ÇINAR M.E., CROSETTA F., DE CLERCK O., GALIL B., GÓMEZ F., HOFFMAN R., JENSEN K.R., KAMBURSKA L., LANGENECK J., LANGER M.R., LEVITT-BARMATS Y., LEZZI M., MARCHINI A., OCCHIPINTI-AMBROGI A., OJAVEER H., PIRAINO S., SHENKAR N., YANKOVA M., ZENETOS A., ŽULJEVIĆ A., CARDOSO A.C. (2020) - Prioritizing marine invasive alien species in the European Union through horizon scanning. *Aquat. Conserv.*, **30** (4): 794-845.

D. PESSANI, P. LIGORIO, N. NURRA, M. BATTUELLO, R. MUSSAT SARTOR, L. FAVARO

Dipartimento di Scienze della vita e Biologia dei sistemi (DBIOS), Università di Torino, Italia.
daniela.pessani@unito.it

FORMA E TAGLIA DELLA CONCHIGLIA SONO SESSO-DIPENDENTI NEL PAGURO *CLIBANARIUS ERYTHROPUS*

SHELL SHAPE AND SIZE ARE SEX-DEPENDENT IN THE HERMIT CRAB *CLIBANARIUS ERYTHROPUS*

Abstract - To better understand the importance of the occupied shell shape for the hermit crab *Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818), 486 specimens of the crab were sexed and sized (carapace length); the main parameters of the occupied shell (height, width, weight, volume, dimensions of the shell aperture) were measured. The occupied shells have been classified as conical or globose and crab size related to a shell shape. The results, confirmed by the Principal Component Analysis, show that females less than 4 mm occupied elongate shells; the ones greater than 4 mm, as well as the mid-sized and big males prefer globose shells. Probably the globose shape is more suitable in the troubled intertidal environment in which the species lives. When a specimen has to conquer a new shell, the smaller crabs occupy a less fit shell (conical), not chosen by the two sexes bigger conspecifics.

Key-words: gastropod shell parameters, shell shape, hermit crab size, shell choice, intertidal environment.

Introduzione - Il rapporto che lega il paguro e la conchiglia occupata è un argomento stimolante, oggetto di numerosi studi (fondamentale il lavoro di Hazlett, 1981). *Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818), paguro molto comune lungo le coste del Mediterraneo e dell'Atlantico orientale, nei piani medio ed infralitorale superiore, occupa una grande varietà di conchiglie di gasteropode, ottenute - secondo Tricarico *et al.* (2009) - durante l'intensa attività aggregativa, tipica della specie, che funzionerebbe come un "mercato" di gusci utilizzabili. Caruso e Chemello (2009) hanno considerato, mediante l'approccio dell'analisi multivariata, la relazione tra il paguro (misurandone diversi parametri lineari) e le otto specie di conchiglie occupate (misurandone tutti i parametri, escluso il volume). In questo lavoro è stato introdotto il concetto di "forma" (allungata o globosa) della conchiglia, che ha permesso agli autori di concludere che solo i grossi maschi occupano le conchiglie globose, grosse e pesanti di *Phorcus* (= *Osilinus*) *turbinatus* (Born, 1778): queste, benché molto numerose nell'ambiente esaminato, non vengono utilizzate, proprio per le loro caratteristiche, dalle altre categorie di *C. erythropus*. Pérez-Miguel *et al.* (2016) si concentrano sul sesso e sulla taglia del paguro come fattori condizionanti la scelta della conchiglia, ipotizzando che, dove c'è abbondanza e diversità di conchiglie (31 le specie da loro osservate), *C. erythropus* possa arrivare alla spartizione della risorsa in base al sesso ed alla taglia del paguro, riservando ai grossi maschi le conchiglie larghe e pesanti, meno numerose nell'ambiente considerato. Il presente lavoro si propone di riprendere il tema della forma conchigliare abbinandolo al sesso e alla taglia del paguro e di valutare la relazione che lega i tre fattori. Poiché la forma della conchiglia è strettamente connessa ai suoi parametri, viene utilizzata l'analisi delle componenti principali (PCA) che, considerando tutte le variabili relative alla conchiglia e al paguro, rende i risultati più solidi ed interpretabili.

Materiali e metodi - Di 486 esemplari di *Clibanarius erythropus*, raccolti in momenti e siti diversi lungo la zona intertidale rocciosa ligure, è stato determinato il sesso, sono stati misurati la lunghezza del carapace (considerata quindi come taglia) e i parametri

della conchiglia occupata: altezza e larghezza del guscio, altezza e larghezza dell'apertura, peso e volume. Sentito il parere indipendente di 3 degli autori, non malacologi, le conchiglie sono state poi arbitrariamente divise in coniche e globose. È stata, infine, utilizzata l'analisi delle componenti principali (PCA) che ha preso in considerazione tutti i parametri conchigliari suddetti, unitamente alla taglia ed al sesso del paguro.

Risultati - I paguri occupano le conchiglie di 30 specie di gasteropodi (Tab. 1), 19 di forma conica, 11 di forma globosa.

Tab. 1 - Specie di gasteropodi con conchiglie occupate dalle 3 categorie di *C. erythropus*: femmine, maschi e giovani (*juv*).

Gastropod species shells occupied by C. erythropus: females, males, and juveniles (juv).

Specie di gasteropode	Sesso		juv (n)
	♀♀ (n)	♂♂ (n)	
<u>Conchiglie di forma conica</u>			
<i>Aplus dorbignyi</i> (Payraudeau, 1826)	1		
<i>Bittium latreillii</i> (Payraudeau, 1826)			1
<i>Bittium reticulatum</i> (da Costa, 1778)	7	8	22
<i>Cerithium vulgatum</i> Bruguière, 1792	91	57	
<i>Clelandella miliaris</i> (Brocchi, 1814)	1	1	
<i>Columbella rustica</i> (Linnaeus, 1758)	21	6	
<i>Coralliophila meyendorffii</i> (Calcara, 1845)		1	
<i>Episcomitra cornicula</i> (Linnaeus, 1758)	2		
<i>Euthria cornea</i> (Linnaeus, 1758)		1	
<i>Gyroscala commutata</i> (Monterosato, 1877)	1		
<i>Mitrella gervillii</i> (Payraudeau, 1826)	3	1	
<i>Mitrella scripta</i> (Linnaeus, 1758)		1	
<i>Muricopsis cristata</i> (Brocchi, 1814)		1	
<i>Ocenebra edwardsii</i> (Payraudeau, 1826)	12	9	
<i>Tricolia pullus</i> (Linnaeus, 1758)	1	3	
<i>Tritia corniculum</i> (Olivi, 1792)	3	2	
<i>Tritia cuvierii</i> (Payraudeau, 1826)	8	3	
<i>Tritia incrassata</i> (Strøm, 1768)	16	15	
<i>Turritellinella tricarinata</i> (Brocchi, 1814)	1		
Totale	168	109	23
<u>Conchiglie di forma globosa</u>			
<i>Clanculus cruciatus</i> (Linnaeus, 1758)	4	5	
<i>Clanculus jussieui</i> (Payraudeau, 1826)	1	3	
<i>Jujubinus exasperatus</i> (Pennant, 1777)		1	
<i>Melaraphe neritoides</i> (Linnaeus, 1758)		1	
<i>Phorcus articulatus</i> (Lamarck, 1822)	1	8	
<i>Phorcus richardi</i> (Payraudeau, 1826)		2	
<i>Phorcus turbinatus</i> (Born, 1778)	2	26	
<i>Steromphala divaricata</i> (Linnaeus, 1758)	3	14	
<i>Steromphala rarilineata</i> (Michaud, 1829)	10	25	
<i>Steromphala umbilicalis</i> (da Costa, 1778)		1	
<i>Steromphala varia</i> (Linnaeus, 1758)	25	54	
Totale	46	140	



Escludendo le specie di gasteropodi trovate occupate una sola volta, quasi tutte le rimanenti specie vengono utilizzate, anche se in misura diversa, sia da femmine sia da maschi di *C. erythropus*; i giovani (sesso non determinabile) occupano le conchiglie di *Bittium*, in particolare *B. reticulatum*. L'utilizzo differenziato delle diverse specie conchigliari può essere messo in relazione con la loro forma, così come con la taglia e il sesso del paguro. Nei campioni esaminati, il 44,4% degli esemplari di *C. erythropus* sono femmine (taglia compresa tra 1,66 e 5,0 mm) e il 51,0% maschi (taglia tra 1,68 e 11,33 mm); i giovani (taglia tra 1,4 e 2,1 mm) sono presenti in modesta quantità (4,6%). La *sex ratio* maschi/femmine è quindi prossima a 1 (1,16). La Fig. 1 mostra i valori percentuali con i quali vengono occupate le conchiglie delle 2 forme: la conica è maggiormente utilizzata dalle femmine, quella globosa dai maschi; i giovani sono stati osservati solo in conchiglie coniche.

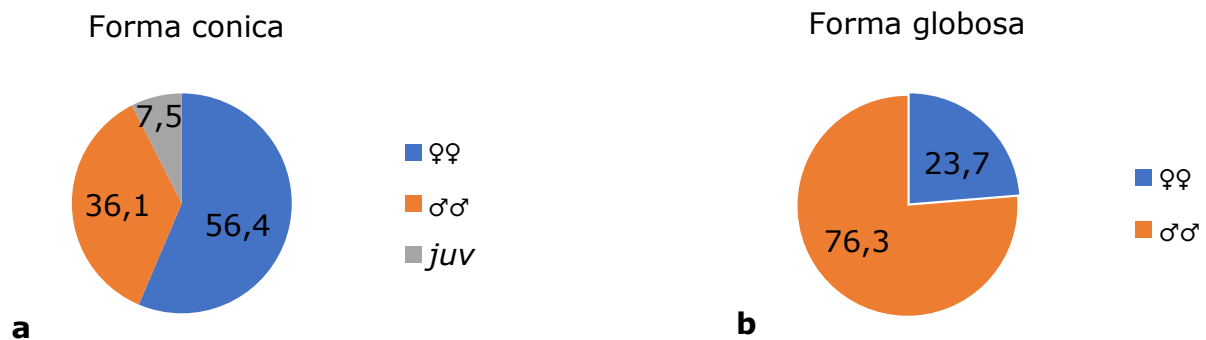


Fig. 1 - Percentuale di esemplari di *C. erythropus* raccolti in conchiglie: a) coniche; b) globose.
Percent values of C. erythropus specimens found in shells: a) conical; b) globose.

Esaminando in dettaglio la taglia degli esemplari in relazione alla forma della conchiglia (Tab. 2) si evidenzia che la forma conica è occupata da individui di minore dimensione (taglia compresa tra 3 e 4 mm), siano essi femmine o maschi.

Tab. 2 - Taglia degli esemplari di *C. erythropus* in relazione alla forma conchigliare.
C. erythropus specimens size in relation to shell shape.

Categorie di paguri	Forma della conchiglia				
	♀♀		♂♂		juv
	conica	globosa	conica	globosa	conica
Taglia media [mm]	3,21	4,14	3,17	5,04	1,84
Deviazione standard	0,61	0,79	0,84	1,78	0,2
Numero esemplari	172	42	110	139	23

L'analisi delle componenti principali (PCA) è stata utilizzata allo scopo di rendere i risultati obiettivi e solidi: l'analisi ha evidenziato che le prime due componenti principali (PC) spiegano complessivamente il 91,2% della varianza totale. La matrice di struttura rivela l'importanza di peso (P), altezza (H), larghezza (L) e volume (V) della conchiglia (PC1: Plog=0,950; Llog=0,931; Vlog=0,925. PC2: Hlog=0,935) nella costruzione delle suddette PC. Plottando poi le conchiglie su un piano bidimensionale definito da PC1 e PC2, le conchiglie si distribuiscono in due gruppi distinti, associati al rispettivo centroide e separati secondo la forma del guscio (conica o globosa; Fig. 2). Successivamente, è stata verificata la presenza di correlazione tra PC1 e la taglia del paguro: dalla Fig. 3 è

possibile notare come questa esista e confermi che maschi e femmine, a seconda della taglia, occupino conchiglie diversamente dimensionate e con diverse caratteristiche strutturali (esprese appunto dai parametri conchigliari suddetti).

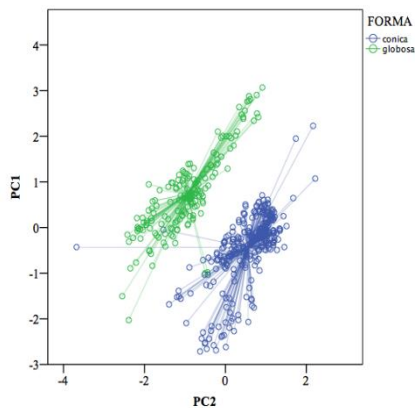


Fig. 2 - Punti-conchiglia sul piano individuato dalle prime due componenti principali.
Shell-points on the plane identified by the first two principal components.

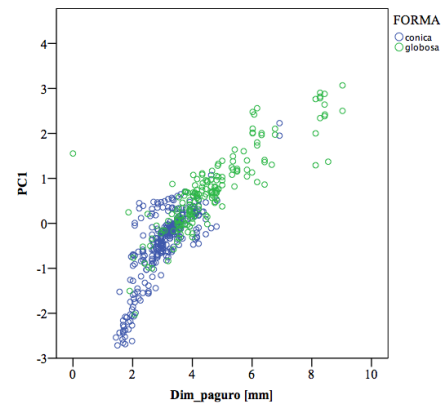


Fig. 3 - Punti-conchiglia sul piano individuato da PC1 e dalla taglia del paguro.
Shell-points on the plane identified by PC1 and hermit crab size.

Conclusioni - L'analisi degli esemplari di *Clibanarius erythropus* e delle conchiglie occupate, ottenuta tramite la semplice descrizione e poi confermata dalla PCA, ha messo in evidenza che femmine e maschi utilizzano gusci diversamente conformati. Le femmine con taglia minore di 4 mm usano per lo più conchiglie coniche, più leggere e più alte (lunghe), in particolare quelle di *C. vulgatum*. Anche i maschi della stessa classe dimensionale (quindi di piccola taglia) occupano gusci di forma conica (ancora *C. vulgatum* e *T. incrassata*) mentre quelli con taglia di 5 mm o maggiore scelgono le conchiglie globose, più pesanti e basse: in particolare quelle di *P. articulatus* e *Steromphala* spp. Interessante è il gruppo composto da femmine e maschi con taglia compresa tra 4 e 5 mm, che occupa principalmente conchiglie globose (Fig. 3). I dati esaminati si riferiscono a campioni raccolti in zone e momenti diversi e le conchiglie occupate non possono essere fatte risalire a scelte legate alla necessità di acquisire una risorsa precisa e/o limitata in un particolare habitat (come nel caso di Caruso e Chemello, 2009). Le conchiglie occupate rappresentano quindi la risorsa che il paguro ha trovato in quel momento più adatta alle sue esigenze di protezione e di abitabilità in rapporto alla sua taglia. Gli esemplari di piccole dimensioni, quando devono occupare una nuova conchiglia, hanno a disposizione i gusci non scelti dai conspecifici di taglia maggiore (conchiglie coniche o globose di piccola dimensione). Le femmine grosse (con taglia oltre i 4 mm) dimostrano di essere in grado di poter competere con i maschi per le conchiglie globose che, per forma e peso, assicurano la possibilità di rotolare nel turbolento ambiente intertidale o di scarsissima profondità e di ridurre così l'attrito, risparmiando energia.

Bibliografia

- CARUSO T., CHEMELLO R. (2009) - The size and shape of shells used by hermit crabs: a multivariate analysis of *Clibanarius erythropus*. *Acta Oecol.*, **35** (3): 349-354.
- HAZLETT B.A. (1981) - The behavioral ecology of hermit crab. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **12**: 1- 22.
- PÉREZ-MIGUEL M., CUESTA J.A., MANZANO R., DRAKE P. (2016) - Sex- and size-related differences in shell use by the intertidal hermit crab *Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818) (Decapoda: Diogenidae) in the Gulf of Cádiz, southwestern Spain. *J. Crustacean Biol.*, **36** (1): 23-32.
- TRICARICO E., BERTOCCHI S., BRUSCONI S., CHESSA L.A., GHERARDI F. (2009) - Shell recruitment in the Mediterranean hermit crab *Clibanarius erythropus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **381** (1): 42-46.

S. RIGHI¹, D. Malferrari², D. Prevedelli¹, M. Savioli²¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.²Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.
sara.righi@unimore.it**CAVE E CALCAREE: ULTRAISTRUTTURA E COSTITUENTI MINERALI DELLE CHETE DI *HERMODICE CARUNCULATA* (ANNELIDA)****HOLLOW AND CALCAREOUS: ULTRASTRUCTURE AND MINERAL CONSTITUENTS OF *HERMODICE CARUNCULATA* (ANNELIDA) CHAETAE**

Abstract - The dorsal chaetae of *Hermodice carunculata* are characterized by stinging capacity and calcareous nature. In this study, we investigated the chemical and mineralogical composition, the ultrastructure and the external structure of *H. carunculata* chaetae, with insights on their capacity to store and vehiculate venoms. In particular, a crystal-chemical approach was applied and structural analyses of *H. carunculata* chaetae were performed in transverse sections of both the dorsal and ventral ones for the first time. The chemical analyses and energy dispersive X-ray measurements revealed that dorsal and ventral chaetae contain Ca and P, and they are distally hollow. At scanning electron micrographs, the proximal part of the dorsal chaetae displayed canals with a hexagonal pattern followed by a large cavity upwards, that probably contribute to their brittleness and high sensitivity to breakage on contact. Overall, these observations support that the notochaetae present hollow cavities and can release venoms.

Key-words: functional structure, scanning electron microscope, chemical analyses, Amphinomidae.

Introduzione - Le chete degli anellidi sono strutture chitinose allungate che possono assumere forme molto diverse mantenendo un'ultrastruttura di base comune, costituita internamente da canali cavi longitudinali aggregati a formare un pattern esagonale a nido d'ape (Hausen, 2005). Negli Amphinomidae, comunemente chiamati "vermi di fuoco", le chete sono peculiari per la presenza di una componente carbonatica e per il loro coinvolgimento nelle difese contro i predatori. Le notochete (dorsali) sono aghiformi, rigide, fragili e tendono a staccarsi facilmente dal corpo del verme. Possono essere capillari o presentare estremità ad arpione e possiedono capacità urticanti. Le neurochete (ventrali) hanno funzione locomotoria e presentano dentellature grossolane nella parte distale: non hanno estremità perforanti e sono meno fragili delle chete dorsali (Schulze *et al.*, 2017). Diversi studi supportano l'ipotesi che le notochete siano cave e in grado di immagazzinare e iniettare una tossina (Schulze *et al.*, 2017). Secondo un recente studio sull'ultrastruttura delle chete dell'anfinomide *Eurythoe complanata* (Pallas, 1766; Tilic *et al.*, 2017), la cavità sarebbe invece un artefatto dovuto al trattamento con fissativi acidi che causerebbe il collasso dei canali chitinosi agendo sulla componente inorganica. Di conseguenza, le chete non sarebbero in grado di immagazzinare sostanze e iniettarle. Per chiarire la struttura delle chete degli anfinomidi, in questo studio sono stati esaminati l'ultrastruttura e i costituenti inorganici delle chete della specie *sister taxon* di *E. complanata*, *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766). Quest'ultima, nativa in Mediterraneo, è di forte interesse per le aree costiere locali, e la sua fama negli ultimi anni è aumentata per via del potenziale invasivo (Righi *et al.*, 2020), delle capacità predatorie (Simonini *et al.*, 2018), ma soprattutto per i dolorosi contatti con l'uomo (Ottuso, 2013; Schulze *et al.*, 2017). Sempre più spesso, bagnanti e subacquei entrano in contatto con i vermi di fuoco per via del loro aspetto appariscente, rimanendo urticati dalle chete dorsali, che si staccano e si conficcano nella cute (Righi *et al.*, 2020). Della reazione infiammatoria che ne consegue non si conosce ancora la causa scatenante, che potrebbe essere legata alla semplice abrasione della

cute (Tilic *et al.*, 2017), o all'iniezione di composti chimici (Simonini *et al.*, 2021). L'obiettivo dello studio è stato verificare la presenza di strutture cave all'interno delle chete, senza utilizzare nella preparazione dei campioni alcun fissativo o reagente che potesse alterare le strutture carbonatiche.

Materiali e metodi - L'ultrastruttura delle chete è stata esaminata sia nella parte distale che emerge dal parapodio, sia nella parte prossimale che si sviluppa al suo interno. Esemplari di *Hermodice carunculata* sono stati anestetizzati con una soluzione di $MgCl_2$ (7%) ed i notopodi (dorsali) e neuropodi (ventrali) sono stati isolati tramite dissezione. I singoli parapodi sono stati lavati con acqua distillata, asciugati su piastra riscaldante, inglobati in resina epossidica e quindi sezionati e lucidati fino ad ottenere sezioni trasversali delle porzioni distali e prossimali delle chete. Questa procedura ha evitato il trattamento delle chete con fissativi o altri reagenti chimici, ed ha conferito stabilità ai parapodi immersi in resina quando rimanevano perfettamente ortognali rispetto alla parete del blocchetto. Le sezioni sono state metallizzate e caratterizzate morfologicamente con un microscopio elettronico a scansione ambientale (ESEM™, Oxford Instruments); simultaneamente è stata eseguita un'analisi chimica preliminare delle componenti maggiori utilizzando uno spettrometro a dispersione di energia (X-EDS, Oxford Instruments) abbinato al microscopio elettronico. L'analisi delle immagini e degli spettri EDS è stata quindi elaborata attraverso il software INCA Energy 350 (Oxford). Le sezioni più rappresentative sono state ulteriormente esaminate con un microscopio elettronico a scansione FEI Nova NanoSEM™. Per indagare se la decalcificazione alteri l'ultrastruttura delle chete, una goccia di acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) al 10% e glicerolo (1:1) è stata depositata sulla superficie di alcuni parapodi incorporati nei blocchetti di resina, e rimossa dopo 30 minuti con carta assorbente. La variazione di spessore delle chete è stata valutata con un microscopio ottico diretto utilizzando un oculare micrometrico, e misurando lo spessore lungo la cheta e in corrispondenza delle estremità distali di noto- e neurochete. Lo spessore delle noto- e neurochete nei trattamenti di controllo (glicerolo) e di decalcificazione (EDTA-glicerolo) è stato confrontato mediante ANOVA unifattoriale (n=27 per entrambi i gruppi).

Risultati - Nella porzione prossimale, l'interno delle chete dorsali presenta canali con un pattern esagonale a nido d'ape ben definito (Fig. 1 a,b). A questo livello, le dimensioni dei canali aumentano dalla periferia verso il centro della cheta. Procedendo verso la porzione distale delle chete, nella parte centrale il pattern di canali diventa sempre più irregolare e lasso, e le dimensioni delle cavità centrali aumentano (Fig. 1b). Più esternamente si osserva uno strato di tubuli strettamente accostati, il cui lume si riduce verso il bordo della cheta fino a diventare impercettibile (Fig. 1b). Nella parte apicale delle notochete, i canali centrali scompaiono e le sezioni mostrano un'unica cavità circondata da uno strato di tubuli estremamente sottili e strettamente impaccati. Nelle neurochete non sono state riscontrate differenze tra le sezioni distali e prossimali, che presentano una grande cavità dalla base all'apice della cheta, circondata da tubuli sottili impaccati. Non sono state trovate strutture poligonali riconducibili a concrezioni minerali all'interno delle chete. Le analisi X-EDS sono state svolte su 50 e 28 punti d'analisi per notochete e neurochete, rispettivamente. Calcio e carbonio sono risultati i costituenti principali sia nello strato di tubuli periferico sia nei canali interni alle chete dorsali. Oltre al calcio, un'altra componente rilevante è rappresentata dal fosforo. Nelle notochete, calcio e fosforo erano presenti sia nel pattern centrale dato dai tubuli sia nei

canali. Dopo il trattamento con EDTA, lo strato esterno di tubuli nelle notochete si era notevolmente ridotto di spessore, mentre lo strato anulare di tubuli a circondare la grande cavità centrale non era più visibile. Nelle neurochete, la riduzione dello spessore dello strato dei tubuli dopo trattamento con EDTA era meno marcata.

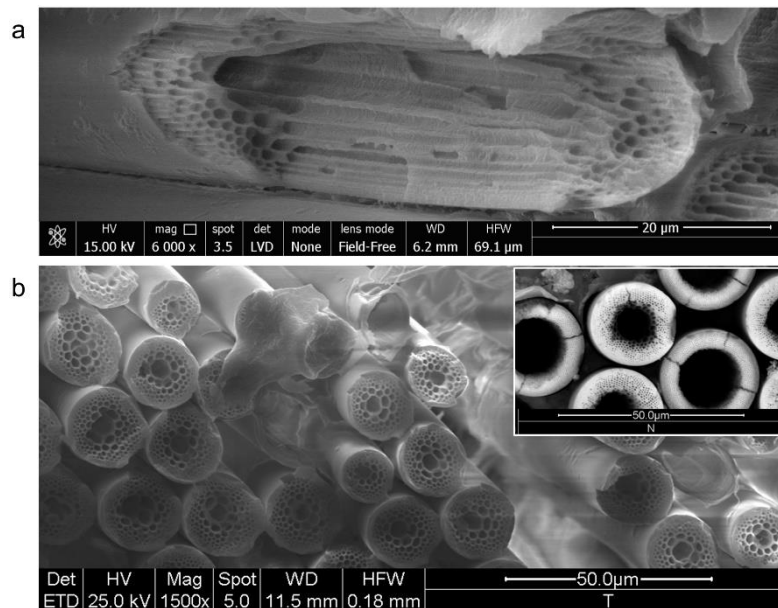


Fig. 1 - a) Sezione trasversale di una notocheta rotta lateralmente; b) parte prossimale e distale (inciso) delle notochete, con una grande cavità centrale circondata da un pattern di tubuli stretti ed impaccati, che spariscono progressivamente muovendosi verso la parte apicale della cheta.
 a) *Cross-sections of the proximal part of a notochaeta laterally broken; b) proximal and distal (inlet) part of the notochaetae, with a large central cavity surrounded by the thick ring-shaped arrangement of tubules, that disappears moving progressively toward the apex of the chaeta.*

Nelle chete montate in glicerolo (controllo), lo spessore era rispettivamente di $19,7 \pm 1,3 \mu\text{m}$ e $19 \pm 1,9 \mu\text{m}$ per le noto- e le neurochete (Tab. 1). Lo spessore all’ultima dentellatura dell’arpione era di $11,3 \pm 1,7 \mu\text{m}$, mentre lo spessore allo sperone era di $12,6 \pm 2,2 \mu\text{m}$.

Tab. 1 - Spessore delle notochete (“NO”) e neurochete (“NE”) in corrispondenza: dell’ultima dentellatura dell’arpione, al punto di massimo spessore lungo il corpo della cheta (“lunghezza”) e dello sperone, prima (“Controllo”) e dopo (“Trattamento”) l’esposizione a EDTA-glicerolo (1:1).
Thickness of the notochaetae (“NO”) and neurochaetae (“NE”) in correspondence of: the last serration of the harpoon, the maximum thickness along the length (“length”), and at the spur, before (“Control”) and after (“Treatment”) exposure to EDTA-glycerol (1:1).

	NO arpione		NO lunghezza		NE sperone		NE lunghezza	
	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato	Controllo	Trattato
Media	11,30	/	19,69	19,25	12,60	13,13	19,04	19,40
Deviazione standard	1,71	/	1,57	1,56	2,22	2,14	1,87	2,41
ANOVA (F)	/		1,07 $p > 0,31$		0,82 $p > 0,37$		0,40 $p > 0,53$	

Nelle chete sottoposte al trattamento di decalcificazione, lo spessore era rispettivamente di $19,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$ e $19,4 \pm 2,4 \mu\text{m}$ per le noto- e le neurochete. Lo spessore allo sperone era di $13,1 \pm 2,1 \mu\text{m}$, mentre le dentellature dell’arpione erano completamente scomparse, quindi non misurabili. L’ANOVA non ha rivelato effetti significativi di decalcificazione nello spessore delle noto- e delle neurochete, e nello spessore allo sperone delle neurochete (Tab. 1).

Conclusioni - Le chete di *Hermodice carunculata* mostrano sia caratteristiche coerenti con i processi di chetogenesi negli anellidi, sia alcune peculiarità. La presenza di canali e tubuli è da ricondurre agli spazi vuoti lasciati dai microvilli dei chetoblasti, le cellule responsabili della formazione delle chete (Hausen, 2005). Le peculiarità consistono in grandi cavità centrali e una abbondante componente calcarea (confermata da analisi X-EDS), che sembrano strettamente associate alle capacità urticanti. Dato che i canali centrali sono scomparsi dopo il trattamento con EDTA, è probabile che i costituenti minerali siano più abbondanti nella parte centrale delle chete, e che diminuiscano gradualmente verso la zona corticale, caratterizzata dal pattern ad anello di tubuli impaccati, dove la matrice di chitina è predominante. Le nostre osservazioni confermano che in condizioni naturali le chete di *H. carunculata* sono simili ad aghi cavi, in grado di immagazzinare e veicolare tossine. Data l'assenza di ghiandole velenose (Tilic *et al.*, 2017), le sostanze chimiche potrebbero essere prodotte dai chetoblasti o da altri distretti corporei, e immagazzinate nelle chete durante la chetogenesi. Le sostanze verrebbero iniettate mediante frammentazione delle notochete al contatto. Inoltre, i dati raccolti seguendo un approccio cristallo-chimico sono concordi con le differenze funzionali e strutturali delle chete. La grande cavità centrale può conferire un'elevata resistenza alla pressione (*e.g.*, Schmitt *et al.*, 2018), mentre il pattern di canali a nido d'ape nella porzione prossimale tende ad aumentare la rigidità e la resistenza alle sollecitazioni da compressione (Schmitt *et al.*, 2018). Al contrario, la forma più snella e affusolata della parte distale sarebbe più sensibile alle deformazioni e quindi a rottura. Nelle neurochete, l'elevato contenuto di magnesio potrebbe migliorarne notevolmente le proprietà meccaniche, aumentando tenacità e resistenza (Long *et al.*, 2014). Le informazioni raccolte hanno permesso di caratterizzare per la prima volta l'ultrastruttura delle chete di *H. carunculata*, fornendo dati chiave per fare luce sulle capacità difensive e offensive dei vermi da fuoco, e sul loro successo ecologico.

Bibliografia

- HAUSEN H. (2005) - Chaetae and chaetogenesis in polychaetes (Annelida). In: Bartolomaeus T., Purschke G. (eds), Morphology, molecules, evolution and phylogeny in polychaeta and related taxa. *Hydrobiologia*, **535** (1): 37-52.
- LONG X., MA Y., QI L. (2014) - Biogenic and synthetic high magnesium calcite - A review. *J. Struct. Biol.*, **185** (1): 1-14.
- OTTUSO P. (2013) - Aquatic dermatology: encounters with the denizens of the deep (and not so deep) a review. Part I: the invertebrates. *Int. J. Dermatol.*, **52** (2): 136-152.
- RIGHI S., PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2020) - Ecology, distribution and expansion of a Mediterranean native invader, the fireworm *Hermodice carunculata* (Annelida). *Mediterr. Mar. Sci.*, **21** (3): 558-574.
- SCHMITT M., BÜSCHER T.H., GORB S.N., RAJABI H. (2018) - How does a slender tibia resist buckling? Effect of material, structural and geometric characteristics on buckling behaviour of the hindleg tibia in stick insect postembryonic development. *J. Exp. Biol.*, **221** (4): jeb173047.
- SCHULZE A., GRIMES C.J., RUDEK T.E. (2017) - Tough, armed and omnivorous: *Hermodice carunculata* (Annelida: Amphinomidae) is prepared for ecological challenges. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **97** (5):1075-1080.
- SIMONINI R., MAGGIONI F., ZANETTI F., FAI S., FORTI L., PREVEDELLI D., RIGHI S. (2021) - Synergy between mechanical injury and toxins triggers the urticating system of marine fireworms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **534**: 151487.
- SIMONINI R., MALETTI I., RIGHI S., FAI S., PREVEDELLI D. (2018) - Laboratory observations on predator-prey interactions between the bearded fireworm (*Hermodice carunculata*) and Mediterranean benthic invertebrates. *Mar. Freshw. Behav. Phys.*, **51** (3): 145-158.
- TILIC E., PAULI B., BARTOLOMAEUS T. (2017) - Getting to the root of fireworms' stinging chaetae-chaetal arrangement and ultrastructure of *Eurythoe complanata* (Pallas, 1766) (Amphinomida). *J. Morphol.*, **278** (6): 865-876.

M. TAMBURINI, J. FERRARIO, A. MARCHINI,
A. PIAZZA, M. LO VULLO, A. OCCHIPINTI AMBROGI

Department of Earth and Environmental Sciences, University of Pavia, Italy.
anna.occhipinti@unipv.it

ARE FOULING NON-INDIGENOUS SPECIES INVADING PORTO VENERE BAY? AN ASSESSMENT THROUGH IMAGE ANALYSIS

LE SPECIE NON INDIGENE DEL FOULING STANNO INVADENDO LA BAI DI PORTO VENERE? UNO STUDIO CONDOTTO CON L'ANALISI DI IMMAGINI

Abstract - The composition of fouling community was evaluated in two sites in the sea stretch between Porto Venere and the Palmaria Island (Ligurian Sea, Italy), which is subject to marine protection, in order to estimate patterns of presence of non-indigenous species (NIS). Image analysis was applied to assess the percent cover of the fouling species monitored, showing both advantages and limits. In Palmaria Island, a higher number of NIS was recorded in comparison to Porto Venere, despite a very limited percent cover in both sites; thus, suggesting a no protection effect of the regional natural park to bioinvasions.

Key-words: fouling communities, alien species, marinas, image analysis, Ligurian Sea.

Introduction - Marine non-indigenous species (NIS) can negatively affect the stability and diversity of marine ecosystems (Occhipinti-Ambrogi and Savini, 2003). In marine environments, human beings can promote biological invasions through several vectors like shipping, aquaculture, and digging of artificial canals (e.g., the Suez Canal) (Occhipinti-Ambrogi, 2007). In the Mediterranean Sea, although a vast array of records of marine NIS has been published (Galil *et al.*, 2018), common strategies and standardized methods to monitor high risk areas have not been adopted yet, thus preventing the collection of homogenous data, comparable across time and space. In 2018, Tamburini *et al.* (2021) started to apply in the Gulf of La Spezia (Ligurian Sea, Italy) a monitoring protocol developed by the Smithsonian Environmental Research Center (Jimenez *et al.*, 2018), in order to obtain standardized data on fouling communities in an area highly impacted by different anthropogenic activities, including the marina of Porto Venere. Low values of NIS richness and cover were observed in Porto Venere, in comparison with the other investigated sites (Tamburini *et al.*, 2021). Due to the high touristic and cultural value of the abovementioned locality within the Gulf, a better evaluation of the NIS pressure in Porto Venere was carried out, including the investigation of the fouling communities in the neighbouring Palmaria Island, an area included in a regional natural park where high native biodiversity may prevent NIS establishment and positively affect Porto Venere too.

Materials and methods - In April 2019, a total of 20 PVC plates (14×14 cm) were deployed at two sites within the bay of Porto Venere at a depth of about 1 m: 10 plates in the marina of Porto Venere and 10 plates in the neighboring cove of Terrizzo, at Palmaria Island. In July 2019, after three months of immersion period, all the plates were retrieved, photographed and observed under dissecting microscopes for taxonomic identification of sessile invertebrates, in order to obtain a complete list of the species present. All the 10 plates were retrieved in Palmaria Island, while only 6 in Porto Venere. The percent cover of the whole fouling assemblage was assessed by image analysis with the software photoQuad (Trygonis and Sini, 2012). A total of 50 virtual random points (1 point = 2% cover) was superimposed to each picture, using a stratified random sampling method (Canning-Clode *et al.*, 2013). The number of random points chosen

for the image analyses followed the Smithsonian's guidelines, even if the point count analysis is usually carried out under the stereoscope and not through the use of photos (Chang *et al.*, 2018). Using the species list, each point was assigned to a taxon, based on what laid under the point. If the point hit a portion of the plate with bare PVC substrate, or it was not univocally attributable to one taxon, the values "bare" or "NA" were indicated, respectively. In case of taxa present in the species list but not found under any random point, an arbitrary value of 1% of cover was assigned. Mean percent cover (\pm S.D.) was calculated for NIS, taxonomic groups, "bare" and "NA" points.

Results - A total of 37 taxa in Palmaria Island and 31 in Porto Venere were identified. Six NIS were found in Palmaria: the bryozoans *Celleporaria brunnea* (Hincks, 1884) and *Watersipora arcuata* Banta, 1969; the polychaetes *Branchiomma* sp. (*sensu* Tamburini *et al.*, 2021), *Hydroides dirampha* Mörch, 1863 and *Hydroides elegans* (Haswell, 1883); and the bivalve *Arcuatula senhousia* (Benson, 1842) (Tab. 1). In Porto Venere, only two NIS – *Branchiomma* sp. and *H. elegans* – were found. NIS were found in eight out of ten PVC plates in Palmaria Island and in five out of six plates in Porto Venere. Mean NIS percent cover (\pm S.D.) amounted to $3.2\pm 3.1\%$ in Palmaria and $3.8\pm 4.8\%$ in Porto Venere. Mean percent cover of the different taxonomic groups, "bare" and "NA" points are shown in Fig. 1 that highlights a general dominance of polychaetes in both localities, mainly serpulids (*H. elegans*, *Salmacina* sp.) and spirorbids (*Simplaria* sp., *Janua* sp.; see also Fig. 2). After three months of immersion, the plates from Porto Venere were not completely colonized, with a minimum of 6% to a maximum of 66% of bare space assessed (Fig. 1).

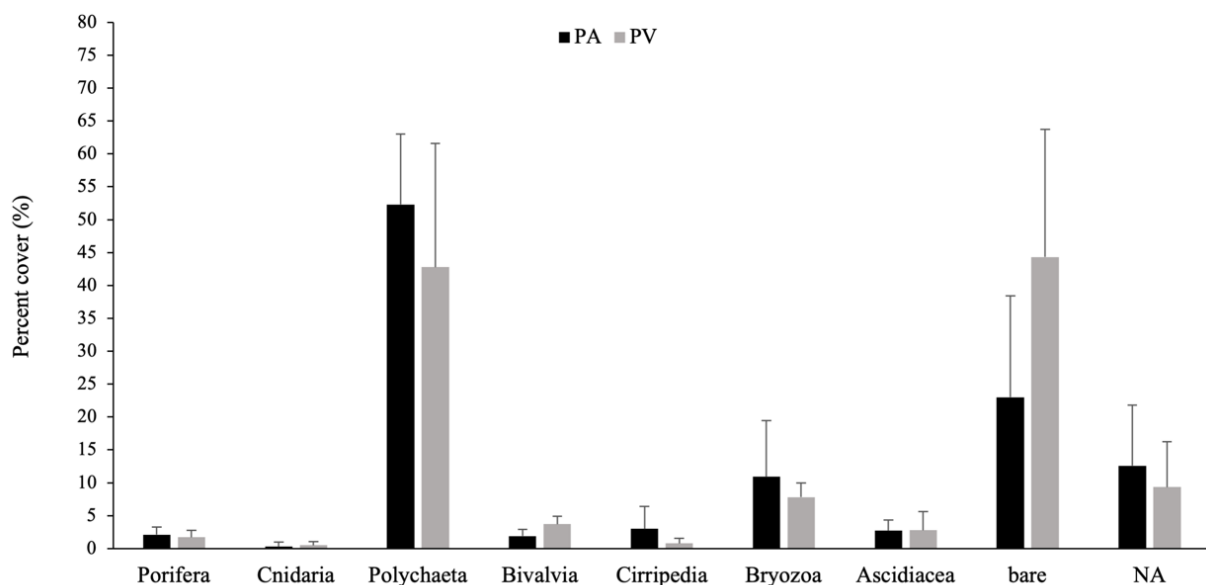


Fig. 1 - Mean percent cover (\pm S.D.) of the taxonomic groups, including bare substrate and non-assignable points (NA), found on the PVC plates in Palmaria Island (PA) and Porto Venere (PV).

Ricoprimento percentuale medio (\pm D.S.) dei taxa, incluse le porzioni di substrato nudo e di punti non assegnati (NA), trovati sui pannelli all'Isola Palmaria (PA) e a Porto Venere (PV).

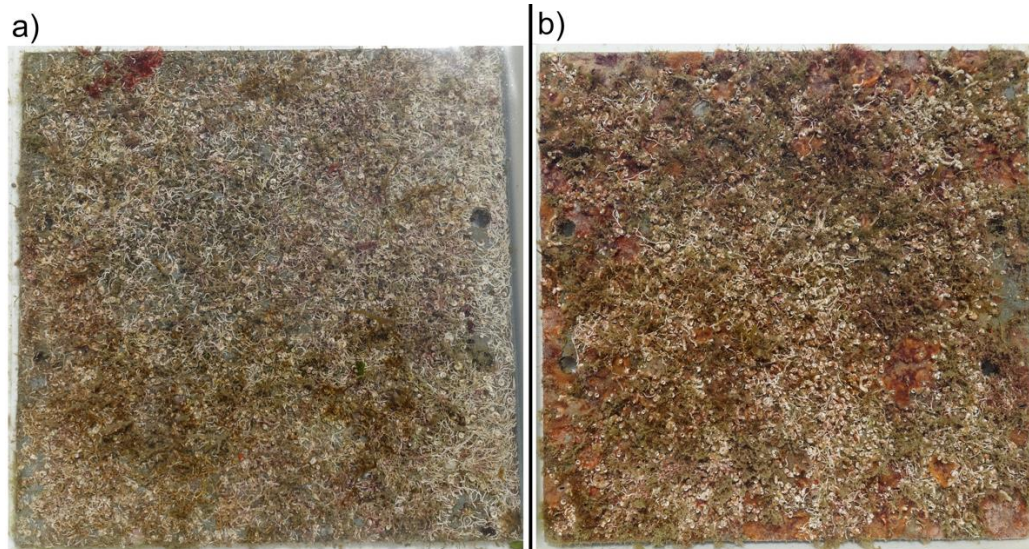


Fig. 2 - Examples of PVC plates collected in Porto Venere (a) and in Palmaria Island (b), highly colonized by serpulid polychaetes.

Esempi di pannelli in PVC raccolti a Porto Venere (a) e all'Isola Palmaria (b), fortemente colonizzati da policheti serpulidi.

Tab. 1 - List of the species recorded in Porto Venere and in Palmaria Island. Asterisk indicates NIS.

Lista delle specie identificate a Porto Venere e all'Isola Palmaria. L'asterisco indica le NIS.

<p>PORIFERA <i>Clathrina</i> sp. Porifera Ind. <i>Sycon</i> sp.</p> <p>CNIDARIA <i>Anemonia sulcata</i> (Pennant, 1777) <i>Aglaophenia pluma</i> (Linnaeus, 1758) <i>Clytia</i> sp.</p> <p>ANNELIDA, POLYCHAETA *<i>Branchiomma</i> sp. *<i>Hydroides dirampha</i> Mörch, 1863 *<i>Hydroides elegans</i> (Haswell, 1883) <i>Janua</i> sp. <i>Pileolaria</i> sp. Sabellidae Ind. <i>Salmacina</i> sp.</p> <p>MOLLUSCA, BIVALVIA <i>Anomia ephippium</i> Linnaeus, 1758 *<i>Arcuatula senhousia</i> (Benson, 1842) <i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819 <i>Musculus costulatus</i> (Risso, 1826) <i>Ostrea edulis</i> Linnaeus, 1758</p> <p>CRUSTACEA, CIRRIPEDA <i>Amphibalanus amphitrite amphitrite</i> (Darwin, 1854) <i>Perforatus perforatus</i> (Bruguère, 1789)</p>	<p>BRYOZOA <i>Aetea</i> sp. <i>Bugula neritina</i> (Linnaeus, 1758) *<i>Celleporaria brunnea</i> (Hincks, 1884) <i>Cradoscrupocellaria bertholletii</i> (Audouin, 1826) <i>Cradoscrupocellaria reptans</i> (Linnaeus, 1758) <i>Crisia</i> sp. <i>Cryptosula pallasiana</i> (Moll, 1803) <i>Filicrisia</i> sp. <i>Savignyella lafontii</i> (Audouin, 1826) <i>Schizobrachiella sanguinea</i> (Norman, 1868) <i>Schizomavella</i> sp. <i>Schizoporella errata</i> (Waters, 1878) <i>Schizoporella pungens</i> Canu & Bassler, 1928 <i>Turbicellepora magnicostata</i> (Barroso, 1919) <i>Umbonula oviceolata</i> Hastings, 1944 *<i>Watersipora arcuata</i> Banta, 1969 <i>Watersipora complanata</i> (Norman, 1864) <i>Watersipora subtorquata</i> (d'Orbigny, 1852)</p> <p>TUNICATA <i>Botryllus schlosseri</i> (Pallas, 1766) <i>Didemnum</i> sp. <i>Diplosoma</i> cf. <i>listerianum</i> (Milne Edwards, 1841) Stolidobranchia Ind.</p>
--	---

Conclusions - The three-year monitoring carried out by Tamburini *et al.* (2021) in the Gulf of La Spezia highlighted a lower presence and abundance of NIS in the marina of Porto Venere, in comparison with other port localities. Porto Venere is considered an important hub of recreational boats, including yachts, coming from many Mediterranean and European countries, thus the limited number of NIS was firstly attributed to its geographical location, *i.e.*, its position close to Palmaria Island, an area included in a regional natural park and thus subject to a certain level of protection, and outside the dam of the Gulf of La Spezia (Tamburini *et al.*, 2021). Palmaria Island is mostly affected by local traffic (ferries and small fishing boats), but the higher number of NIS observed in this study, in comparison to Porto Venere, indicates that the natural regional park is not exempt from NIS introduction and does not protect Porto Venere from bioinvasions. On the other hand, it has to be highlighted that the regional park is not a marine protected area and that the mean NIS percent cover in both sites was rather low in comparison to data collected in the marinas inside the Gulf of La Spezia. This suggests that, at the moment, NIS are not a critical issue in the investigated area, but further investigations should assess the factors that promote the good "resistance" of Porto Venere marina to NIS introduction. The seasonality of fouling settlement, however, could influence the presence and cover of NIS: in order to test this effect, further experiments on NIS dynamics in this area are recommended, as well as the continuous monitoring of the localities, in order to promptly detect new introductions. The application of image analysis of PVC plates has proved to be useful in the collection of quantitative results in a relatively short time, although for some fouling species the taxonomic identification through image analysis could be difficult. In fact, the main limit of this approach lies in the poor resolution of images that sometimes prevents from assigning unambiguously a taxon to the virtual points, but the use of a complete species list for each plate helps in limiting the number of NA points assessed. An application at a broader scale will help to better evaluate this digitally assisted technique.

Acknowledgements: Authors are grateful to the Municipality of Porto Venere for granting permissions for this study.

References

- CANNING-CLODE J., FOFONOFF P., McCANN L., CARLTON J.T., RUIZ G. (2013) - Marine invasions on a subtropical island: fouling studies and new records in a recent marina on Madeira Island (Eastern Atlantic Ocean). *Aquat. Invasions*, **8** (3): 261-270.
- CHANG A.L., BROWN C.W., CROOKS J.A., RUIZ G.M. (2018) - Dry and wet periods drive rapid shifts in community assembly in an estuarine ecosystem. *Glob. Change Biol.*, **24** (2): 627-642.
- GALIL B.S., MARCHINI A., OCCHIPINTI-AMBROGI A. (2018) - East is east and West is west? Management of marine bioinvasions in the Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **201**: 7-16.
- JIMENEZ H., KEPPEL E., CHANG A.L., RUIZ G.M. (2018) - Invasions in marine communities: contrasting species richness and community composition across habitats and salinity. *Estuar. Coast.*, **41**: 484-494.
- OCCHIPINTI-AMBROGI A. (2007) - Global change and marine communities: alien species and climate change. *Mar. Pollut. Bull.*, **55** (7-9): 342-352.
- OCCHIPINTI-AMBROGI A., SAVINI D. (2003) - Biological invasions as a component of global change in stressed marine ecosystems. *Mar. Pollut. Bull.*, **46** (5): 542-551.
- TAMBURINI M., KEPPEL E., MARCHINI A., REPETTO M.F., RUIZ G.M., FERRARIO J., OCCHIPINTI-AMBROGI A. (2021) - Monitoring non-indigenous species in port habitats: first application of a standardized North American protocol in the Mediterranean Sea. *Front. Mar. Sci.*, **8**: 700730.
- TRYGONIS V., SINI M. (2012) - PhotoQuad: a dedicated seabed image processing software, and a comparative error analysis of four photoquadrat methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **424-425**: 99-108.

F. ZANETTI¹, S. FAI², F. FABRONI³, R. SIMONINI¹, S. RIGHI¹¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.²Comune di Nardò, Italia.³Centro Regionale di Strategia Marina ARPACAL, Crotona, Italia.

213460@studenti.unimore.it

CARATTERI MORFOMETRICI DEL VERME DI FUOCO *HERMODICE CARUNCULATA* (ANNELIDA): CONFRONTO TRA POPOLAZIONI**MORPHOMETRIC TRAITS OF THE BEARDED FIREWORM *HERMODICE CARUNCULATA* (ANNELIDA): COMPARISON BETWEEN POPULATIONS**

Abstract - We assessed the relationships among allometric traits (body length, weight, and number of chaetigers) in *Hermodice carunculata* specimens from Porto Cesareo (Ionian Sea) and Tropea (Tyrrhenian Sea). Regression analyses evidenced that, with a given length, specimens from Porto Cesareo are heavier than those from Tropea. This result may be explained by the lack of small-sized worms in the samples, which are hard to observe on the field, or to local adaptation/differentiation.

Key-words: allometry, morphology, populations, zoobenthos, Mediterranean Sea.

Introduzione - Il verme di fuoco *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766) è un amfinomide urticante diffuso nell'Oceano Atlantico e nel Mar Mediterraneo (Schulze *et al.*, 2017). Da qualche anno lungo le coste italiane sono state segnalate popolazioni in aumento e casi di espansioni di areale (Righi *et al.*, 2020). Per studiare questi fenomeni sono state recentemente avviate analisi di popolazione basate su metodi molecolari e sullo studio di variabili morfometriche individuali. Ad oggi, l'unica popolazione mediterranea che è stata caratterizzata in modo approfondito è quella raccolta lungo le coste ioniche nei pressi di Porto Cesareo in agosto 2017 (PC17, n=106; Righi *et al.*, 2019). Nel presente studio le informazioni pregresse sono state integrate con nuovi dati morfometrici di vermi di fuoco campionati nella stessa area (PC19, n=104) e a Tropea, una località tirrenica (n=46), in agosto 2019. L'obiettivo è quello di aumentare la robustezza delle equazioni allometriche ottenute in precedenza e valutare l'esistenza di variazioni nelle relazioni allometriche tra popolazioni, potenziali indicatori di differenziamento locale.

Materiali e metodi - Gli esemplari di *Hermodice carunculata* sono stati raccolti da subacquei in habitat rocciosi infralitorali a 0,5-18 m di profondità. Dopo la raccolta, i vermi di fuoco sono stati trasportati al Laboratorio di Ecologia dell'Università di Modena e Reggio Emilia (Italia) e tenuti per 3-7 giorni in un sistema di acquari con ricircolo in condizioni controllate (temperatura: 24-25 °C; fotoperiodo: 16 h chiaro/8 h scuro; salinità: 32-36; volume totale: 600 l). Per ottenere le misure, gli esemplari sono stati anestetizzati in MgCl₂ al 7% fino a quando non cessavano di rispondere a stimolazione meccanica, quindi sono stati fotografati utilizzando una fotocamera digitale subacquea (Olympus Tough TG-4). Il peso fresco è stato registrato utilizzando una bilancia ($\pm 0,01$ g Acculab ATL) dopo aver asciugato ciascun verme per 1 minuto su carta assorbente (Nesto *et al.*, 2018). La lunghezza del corpo (di seguito "lunghezza"), il peso, il numero totale di segmenti chetigeri (di seguito "chetigeri") sono stati ricavati dalle immagini utilizzando il software ImageJ (Rasband, 1997-2018). Inizialmente, le variabili morfometriche dei tre gruppi (PC17, PC19 e Tropea) sono state confrontate tramite ANOVA e test di Tukey a posteriori (Tab. 1). In base ai risultati ottenuti sono stati uniti i due gruppi di Porto Cesareo. Quindi sono stati scartati i valori estremi, ovvero gli

individui più corti di 7 cm (n=5, rinvenuti solo a Porto Cesareo) e più lunghi di 28 cm (n=3). Le analisi delle relazioni tra coppie di variabili morfologiche e allometriche sono state eseguite su dati trasformati con logaritmo (Garraffoni *et al.*, 2010). In particolare, l'analisi delle differenze nelle relazioni tra variabili morfometriche nelle due popolazioni ha previsto la trasformazione \log_{10} dei dati e la derivazione di equazioni del tipo $y=ax^b$ tramite regressione. Per ciascuna coppia di variabili sono stati confrontati statisticamente i valori di b. Quando le differenze erano significative le popolazioni sono state trattate separatamente. In caso contrario la regressione è stata ricalcolata sull'intero dataset. Il software PAST è stato usato per le analisi statistiche ponendo $\alpha=5\%$.

Risultati - Non sono state riscontrate differenze significative nella lunghezza e nel numero di chetigeri tra i due gruppi di Porto Cesareo e nel peso medio dei tre gruppi. I vermi di fuoco di Tropea erano mediamente più lunghi di quelli di Porto Cesareo e mostravano un numero di chetigeri superiore a quelli di PC17 (Tab. 1).

Tab. 1 - Confronto delle variabili morfometriche nei tre gruppi di *H. carunculata*. Statistiche descrittive: med.=media; d.s.=deviazione standard; min.=minimo; max.=massimo. Per ogni variabile, gruppi con medie diverse (test di Tukey $p<0,05$) portano apici differenti.
Comparison of morfometric traits in the three groups of H. carunculata. Descriptive statistics: med.=mean; d.s.=standard deviation; min.=minimum; max.=maximum. For each trait, groups that differed in terms of means (Tukey $p<0.05$) have different quotes.

	Lunghezza [cm]				Peso [g]				Chetigeri [n°]			
	F=4,8 p<0,01				F=1,3 n.s.				F=3,7 p<0,05			
	med.	d.s.	min.	max.	med.	d.s.	min.	max.	med.	d.s.	min.	max.
PC17	15,8 ^a	5,3	3,3	28,4	11,8	9,0	0,5	45,6	81,1 ^a	15,7	37	128
PC19	15,6 ^a	3,9	8,3	28,9	10,5	5,0	2,2	31,4	84,5 ^{a,b}	12,6	60	125
Tropea	18,2 ^b	5,9	7,1	32,3	13,0	7,5	1,9	32,1	88,4 ^b	19,6	58	136

L'analisi della regressione sul dataset 7-28 cm (n=248) ha evidenziato l'esistenza di relazioni altamente significative tra la lunghezza del corpo (Lu) e il peso (Pe) sia per la popolazione di Porto Cesareo ($Pe=0,023Lu^{2,21}$; n=201; t=32,9; $p<0,001$; $R^2=0,82$) sia per quella di Tropea ($Pe=0,040Lu^{1,97}$; n=44; t=21,5; $p<0,001$; $R^2=0,91$), ma nella prima equazione l'aumento di peso in funzione della lunghezza (b=2,21) è più rapido rispetto alla seconda (b=1,96; $\chi^2=4,04$, $p<0,05$). Al contrario, non sono state osservate differenze significative tra le due popolazioni nelle relazioni lunghezza-segmenti chetigeri (Sc) (test su b: $\chi^2=0,16$; $p>0,69$) e peso-segmenti chetigeri ($\chi^2=1,99$; $p>0,15$). Le equazioni ricavate includendo tutti i 256 individui esaminati sono: $Lu=0,00914Sc^{1,68}$ (t=28,2; $p<0,001$; $R^2=0,69$); $Pe=1,3 \cdot 10^{-6} Sc^{3,59}$ (t=23,4; $p<0,001$; $R^2=0,55$) (Fig. 1).

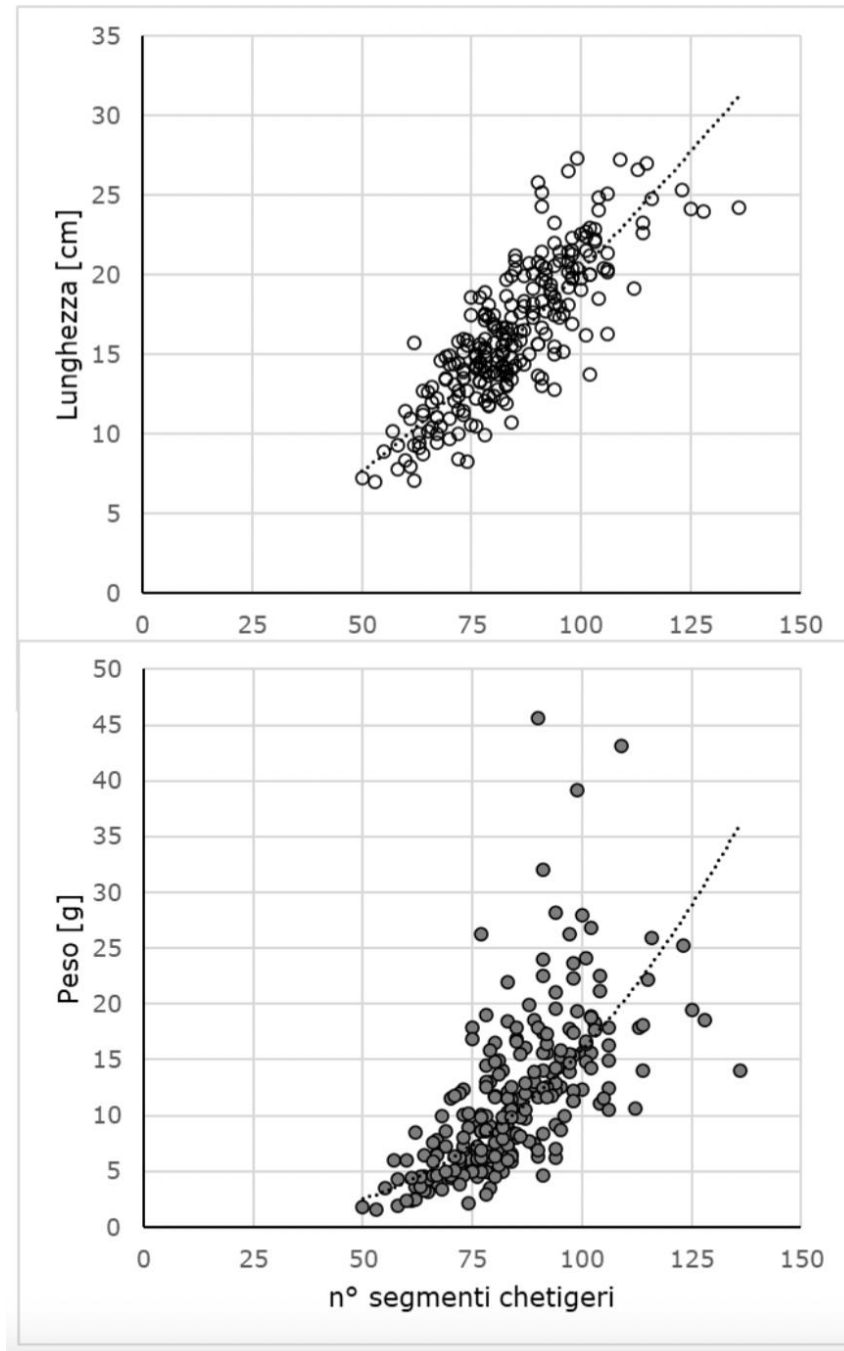


Fig. 1 - Relazioni tra numero di segmenti chetigeri e lunghezza (in alto) e numero di segmenti chetigeri e peso (in basso) in *H. carunculata*.
Relations between the number of chaetigers and length (top) and number of chaetigers and weight (bottom) in H. carunculata.

Conclusioni - Questo studio permette di generalizzare molti dei risultati ottenuti in precedenza (Righi *et al.*, 2019). Le equazioni che legano lunghezza-segmenti chetigeri e peso-segmenti chetigeri, che mostrano andamenti simili tra le due popolazioni e derivano da relazioni molto strette, possono essere utili per indagini di popolazioni. Il numero di chetigeri è, infatti, relativamente facile da ottenere perché i segmenti sono marcati da una linea gialla molto evidente, e soprattutto non richiede necessariamente la raccolta degli organismi, né l'uso di riferimenti metrici o bilance digitali. Il numero di segmenti chetigeri può, infatti, essere derivato anche da fotografie ad alta definizione

dell'animale *in toto* raccolte sul campo. Al contrario, la lunghezza e gli altri tratti allometrici necessitano di un sistema di riferimento da affiancare all'animale. Anche la misurazione del peso non è sempre affidabile perché può risultare falsata da un eventuale pasto o dalla presenza di gameti. Viene, infatti, normalmente consigliato di non usare il peso come variabile fissa per analisi di questo tipo, bensì di ricavarlo dalla relazione con altre variabili morfometriche (Górska *et al.*, 2019), come la lunghezza o il numero di segmenti chetigeri. Le relazioni peso-lunghezza sono molto più strette ma variano tra le due popolazioni. Ciò può dipendere dalla mancanza di determinate classi di taglia (soprattutto individui più corti di 7 cm) oppure da un differenziamento o adattamento locale. Per valutare queste ipotesi saranno necessari ulteriori campionamenti nelle località già considerate (soprattutto a Tropea) e in altri bacini, accoppiando analisi morfometriche e molecolari. Sarà interessante ampliare ulteriormente il dataset campionando anche altre popolazioni, soprattutto in zone neocolonizzate e/o a Nord rispetto al margine di avanzamento dell'areale (Righi *et al.*, 2020).

Bibliografia

- GARRAFFONI A.R.S., YOKOYAMA L.Q., AMARAL A.C.Z. (2010) - Allometry and population structure of *Nicolea uspiana* (Polychaeta: Terebellidae). *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **90** (5): 877-883.
- GÓRSKA B., GROMISZ S., WŁODARSKA-KOWALCZUK M. (2019) - Size assessment in polychaete worms- application of morphometric correlations for common North Atlantic taxa. *Limnol. Oceanogr. Meth.*, **17** (4): 254-265.
- NESTO N., SIMONINI R., PREVEDELLI D., DA ROS L. (2018) - Evaluation of different procedures for fertilization and larvae production in *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776) (Nereididae, Polychaeta). *Aquac. Res.*, **49** (4): 1396-1406.
- RASBAND W.S. (1997-2018) - ImageJ. U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- RIGHI S., MALETTI I., MALTAGLIATI F., CASTELLI A., BARBIERI M., FAI S., PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2019) - Morphometric and molecular characterization of an expanding Ionian population of the fireworm *Hermodice carunculata* (Annelida). *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **99** (7): 1569-1577.
- RIGHI S., PREVEDELLI D., SIMONINI R. (2020) - Ecology, distribution and expansion of a Mediterranean native invader, the fireworm *Hermodice carunculata* (Annelida). *Mediterr. Mar. Sci.*, **21** (3): 558-574.
- SCHULZE A., GRIMES C.J., RUDEK T.E. (2017) - Tough, armed and omnivorous: *Hermodice carunculata* (Annelida: Amphinomididae) is prepared for ecological challenges. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **97** (5): 1075-1080.

L. CASCIARO, I. BITETTO, M. DONNALOIA, P. GAUDIO,
M. PALMISANO, P. CARBONARA

COISPA Tecnologia e Ricerca s.c.r.l., Torre a Mare (BA), Italy.
casciaro@coispa.eu

AGEING AND REPRODUCTION OF *SPICARA SMARIS* (LINNAEUS, 1758) IN THE SOUTHERN ADRIATIC SEA AND WESTERN IONIAN SEA

ETÁ E RIPRODUZIONE DI *SPICARA SMARIS* (LINNAEUS, 1758) NEL MAR ADRIATICO MERIDIONALE E NEL MAR IONIO OCCIDENTALE

Abstract - Specimens of *Spicara smaris* (Linnaeus, 1758), from DCF commercial sampling in the Southern Adriatic Sea (GSA 18, sensu GFCM) and Western Ionian Sea (GSA 19, sensu GFCM), have been collected and aged. The following von Bertalanffy growth curve (VBGC) parameters have been estimated respectively in the two areas: $L_{\infty}=24$ cm, $k=0.267$ (years⁻¹), $t_0=-1.23$ (years); $L_{\infty}=24.9$ cm, $k=0.231$ (years⁻¹), $t_0=-1.19$ (years). Sex and maturity data allowed to estimate the size at first maturity (GSA 18: 8.97 ± 0.05 cm, GSA 19: 9.41 ± 0.04 cm) and the size of sex inversion (GSA 18: 13.47 ± 0.03 cm, GSA 19: 13.18 ± 0.04 cm) for this species. The analysis of the maturity cycle indicated a reproduction period from February to June with a peak in April.

Key-words: picarel, age, maturity, sex inversion, spawning cycle.

Introduction - *Spicara smaris* (Linnaeus, 1758) is a protogynous teleost inhabiting seagrass beds and muddy bottoms (<100 m of depth) and widespread in the Mediterranean and Black Seas, and in the Atlantic from Portugal to Morocco and the Canary Islands (Dulčić *et al.*, 2003). The picarel is caught as bycatch mostly by bottom trawl and gill and trammel nets. This work investigates for the first time the growth and reproduction patterns of *S. smaris* in two Geographical Sub Areas (FAO-GFCM GSA): South Adriatic Sea (GSA 18) and the Western Ionian Sea (GSA 19).

Materials and methods - Samplings of commercial catches (Data Collection Framework, EU Reg. 199/2008) from 2009 to 2018 have been used for maturity and age determination. Total length (TL) nearest 0.5 cm was measured; sex and maturity stages were recorded according to the MEDITS protocol for 10554 (GSA 18) and 4123 (GSA 19) specimens. The length at first maturity ($L_{m50\%}$) and the maturity range ($MR=L_{m75\%}-L_{m25\%}$) were estimated for sex combined using binomial generalized linear models (GLMs) with logistic link. The same approach was applied to determinate the sex inversion length (FM_{50}). Sagittae were collected from 948 females, 736 males, 59 undetermined in the two GSAs, according to a sub-sampling scheme of 5 specimens for each length class (0.5 cm), sex and quarter. The ageing criteria reported in Carbonara and Follesa (2019) were used, with birthday set at 1st of July, according to reproduction period (spring), and the age was assigned with a resolution of 0.5 years. VBGC parameters for sex combined were estimated minimizing the sum of the squared residuals between observed and expected values (Non-linear Least Square, R-software). The VBGCs by area were compared by Chen test.

Results - The specimens ranged between 4.5 and 20.5 cm of TL (respectively 0 and 5.5 years old). The maximum observed age was 3.5 years for females and 5.5 years for males (Fig. 1). The growth parameters were $L_{\infty}=24$ cm TL, $k=0.267$ years⁻¹, $t_0=-1.23$ years in GSA 18 and $L_{\infty}=24.9$ cm TL, $k=0.231$ years⁻¹, $t_0=-1.19$ years in GSA 19 (Tab. 1, Fig. 1). According to the Chen test, the two VBGCs were not significantly

different ($p > 0.05$). The picarel grows rapidly during the first year of life, reaching the 40% of the L_{∞} . The monthly percentages of the adult maturity stages showed that spawners were present from February to June, with a peak in April in both GSAs (57% of mature specimens, Fig. 2). Post-spawning specimens occurred from May to September (Fig. 2). $L_{m50\%}$ and MR were 8.97 ± 0.05 cm and 1.64 ± 0.05 cm of TL in the GSA 18 and 9.41 ± 0.04 cm and 0.88 ± 0.04 cm of TL in the GSA 19 (Tab. 1, Fig. 3). The FM50 was 13.47 ± 0.03 cm of TL in the GSA 18 and 13.18 ± 0.04 cm of TL in the GSA 19 (Tab. 1, Fig. 3). In GSA 18 specimens larger than 18.0 cm of TL were only males and in the GSA 19 larger than 17 cm of TL. The sexual maturity occurs in the first year, while the sexual inversion in the second year. Two intersexual specimens were found, of 15 and 17 cm TL, during May in the GSA 18.

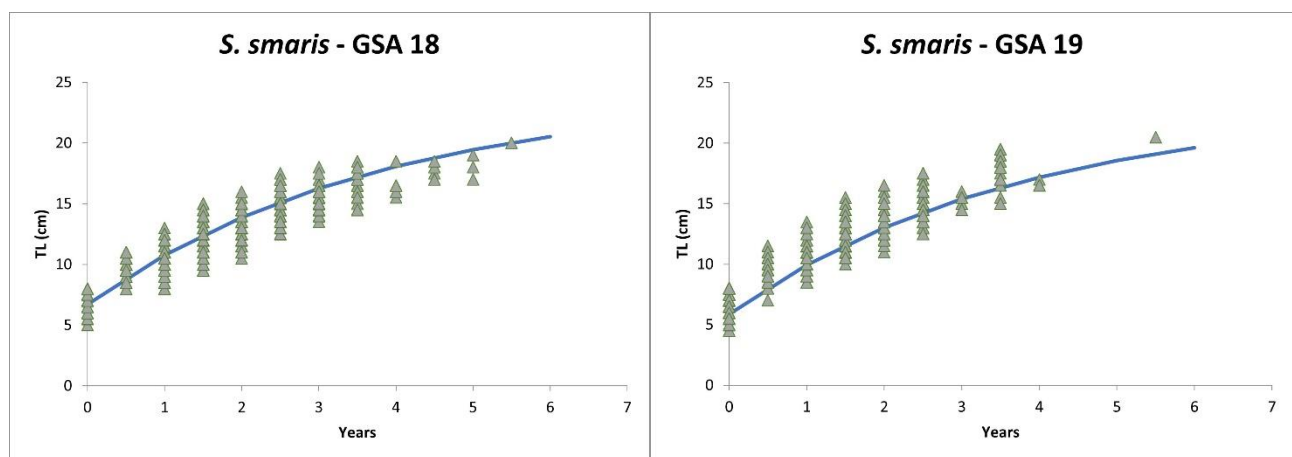


Fig. 1 – Growth curves (VBGC) and age at length distributions.
Curve di crescita (VBGC) e distribuzioni lunghezza-età.

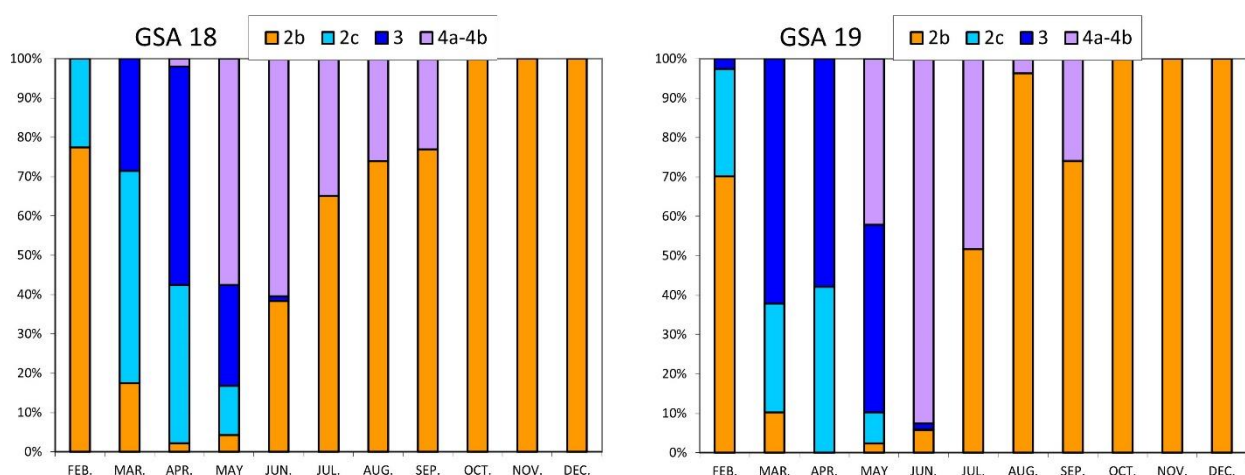


Fig. 2 - Monthly maturity stage composition (in percentage) in the GSAs 18 ($n=9447$) and 19 ($n=3424$) for sex combined of adult specimens of *S. smarlis*.
Percentuali mensili degli stadi di maturità nelle GSA 18 ($n=9447$) e 19 ($n=3424$) per individui adulti di *S. smarlis*, sessi combinati.

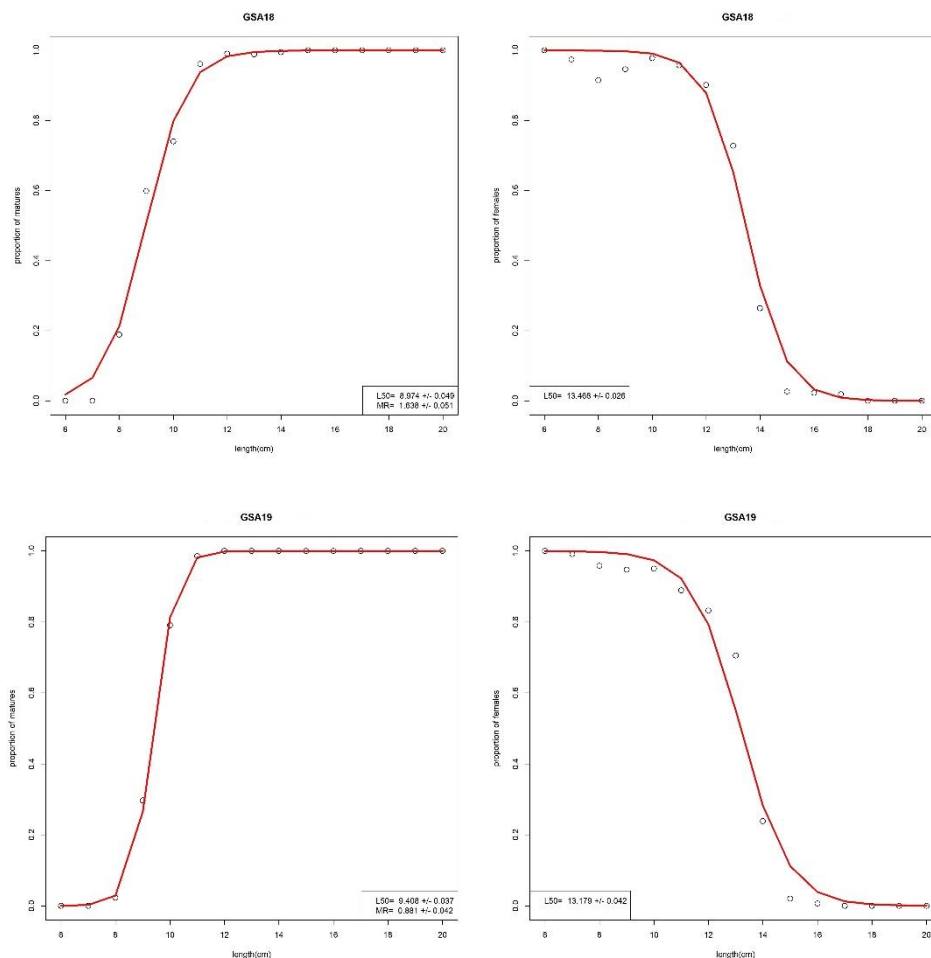


Fig. 3 - Maturity and sexual inversion ogives.
Ogive di maturità e di inversione sessuale.

Tab. 1 - VBG parameters and ageing method, Lm50%, MR and FM50 from different authors and areas.
Parametri VBG, Lm50%, MR e FM50 corrispondenti a diversi autori e aree.

Author	Area	L_{∞}	k	t_0	Method	$L_{m50\%}$	MR	FM ₅₀
Present work	GSA 18	23.2	0.237	-1.40	otolith	9.0	1.6	13.5
Present work	GSA 19	24.9	0.231	-1.19	otolith	9.4	0.9	13.2
Dulčić <i>et al.</i> , 2003	Croatia	22.76	0.277	-0.79	scales			
Vidalis and Tsimenidis, 1996	Crete	19.23	0.154	-3.52	otolith and scales			
Ismen, 1995	Turkey	20.05	0.44	-0.01	otolith			
Cardinale and Osio, 2012	Cyprus	19.62	0.27	-2.01	n.a.	9.1		
Tsangridis and Filippousis, 1991	Saronikos Gulf	19.6	0.23	-1.97	LFD			

Conclusions - Few studies are currently available on the growth and reproduction of *S. smaris*, despite this species is quite common in Mediterranean Sea and considering that both are key aspects in the stock assessment process. The reproduction peak, observed in spring (April-May), was, also, detected in Greece and Cyprus waters (Karlou-Riga *et al.*, 2007; Cardinale and Osio, 2012). The estimated Lm50% are comparable with the value of 9.1 cm found in Cyprus (Cardinale and Osio, 2012). The fast growth in the first year and the sexual inversion at age two was also observed in the Black Sea (Turkey) (Ismen, 1995). The estimated VBG is basically comparable to those present in literature (Tab. 1, Fig. 4), although some differences can be attributed

to ageing methods (scales, otolith readings, Length Frequency Distribution) and ageing scheme.

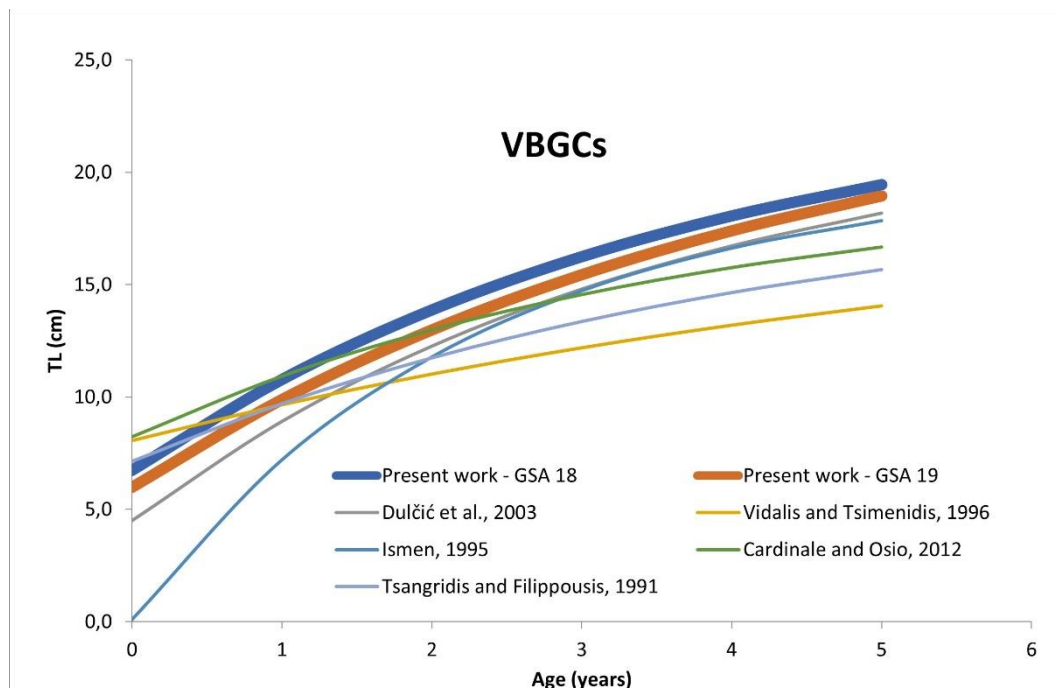


Fig. 4 - The combined growth curves (VBGC) from different authors.

Curve di crescita (VBGC) a sessi combinati secondo differenti autori.

References

- CARBONARA P., FOLLESA M.C. (EDS) (2019) - Handbook on fish age determination: a Mediterranean experience. *Studies and Reviews*, **98**. FAO, Rome: 192 pp.
- CARDINALE M., OSIO G.-C. (EDS) (2012) - Report of the Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries on assessment of *Merluccius merluccius*, *Mullus barbatus*, *Mullus surmuletus*, *Boops boops*, *Spicara smaris/Spicara flexuosa* and *Nephrops norvegicus* in Aegean and Ionian waters (STECF 12-21). EUR 25635 EN. Publications Office of the European Union, Luxembourg: 344 pp.
- DULČIĆ J., PALLAORO A., CETINIĆ P., KRALJEVIĆ M., SOLDI A., JARDAS I. (2003) - Age, growth and mortality of picarel, *Spicara smaris* L. (Pisces: Centranchidae), from the eastern Adriatic (Croatian coast). *J. Appl. Ichthyol.*, **19** (1): 10-14.
- ISMEN A. (1995) - Growth, mortality and yield per recruit model of picarel (*Spicara smaris* L.) on the eastern Turkish Black Sea coast. *Fish. Res.*, **22** (3-4): 299-308.
- KARLOU-RIGA C., ANASTOPOULOS P., KOULMPALOGLOU D.-S., PETZA D. (2007) - Batch fecundity of picarel *Spicara smaris* (L.) in the Saronikos Gulf (Greece). *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, **38**: 514.
- TSANGRIDIS A., FILIPPOUSIS N. (1991) - Use of length-frequency data in the estimation of growth parameters of three Mediterranean fish species: bogue (*Boops boops* L.), picarel (*Spicara smaris* L.) and horse mackerel (*Trachurus trachurus* L.). *Fish. Res.*, **12** (4): 283-297.
- VIDALIS K., TSIMENIDIS N. (1996) - Age determination and growth of picarel (*Spicara smaris*) from the Cretan continental shelf (Greece). *Fish. Res.*, **28** (4): 395-421.

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

A. LIGAS¹, P. CARBONARA², L. CASCIARO², F. FALSONE³, M.C. FOLLESA⁴, V. GANCITANO³,
P. GAUDIO², C. NEGLIA², P. PESCI⁴, A. PROFETA³, J. PULCINELLA³, P. RINELLI³,
A. SANTOJANNI³, A. MASSARO⁵

¹Consorzio per il Centro di Biologia Marina ed Ecologia Applicata (CIBM), Livorno, Italy.

²COISPA, Torre a Mare (BA), Italy.

³CNR-IRBIM, Ancona, Mazara del Vallo (TP), Messina, Italy.

⁴University of Cagliari, Italy.

⁵APLYSIA, Livorno, Italy.

ligas@cibm.it

PILOT STUDY ON THE INCIDENTAL BY CATCH OF VULNERABLE SPECIES IN THE BOTTOM TRAWL FISHERIES IN ITALY

STUDIO PILOTA SULLE CATTURE ACCIDENTALI DI SPECIE VULNERABILI NELLA PESCA A STRASCICO IN ITALIA

Abstract - A pilot study on the monitoring of the incidental by catch of vulnerable species (reptiles, mammals, elasmobranchs, birds) in the bottom trawl fisheries in Italy was performed in 2018. The pilot study covered all the seven Italian GSAs, and provided the information on the by catch of 20 species.

Key-words: bottom trawling, by catch, vulnerable species, Italy.

Introduction - In the Mediterranean and Black Sea, all the species of seabirds, sea turtles, marine mammals and elasmobranchs included in Appendix II (endangered or threatened species) and Appendix III (species whose exploitation is regulated) of the Convention for the Protection of the Marine Environment and the Coastal Region of the Mediterranean (the Barcelona Convention) are considered as vulnerable. This applies also to elasmobranchs included in the IUCN Red List of Threatened Species. Although the progresses made through the implementation of standard monitoring programmes, there are still important gaps of knowledge in the Mediterranean and Black Sea (Spedicato, 2016; FAO, 2019, 2020; Ligas, 2019; Otero *et al.*, 2019; Carpentieri *et al.*, 2021). Effective implementation of bycatch monitoring programmes can allow scientists and decision-makers to obtain a better knowledge of the interactions between fisheries and vulnerable species and set priorities for management and conservation actions. This would also enable stakeholders to apply efficient mitigation measures (where needed), and to increase the protection on vulnerable species while securing the profitability of fisheries. The monitoring of the by catch of vulnerable species in fishing gears other than those monitored under the Reg. EU 812/2004 has been performed for the first time in Italian waters in 2018. Bottom trawl fisheries were selected as candidate fisheries of this pilot study following the recommendation and findings of Spedicato (2016). This pilot study was implemented within the Italian National Workplan 2017-2019 as part of the activities foreseen under the new EU-MAP. This study reports the information on the monitoring of the incidental by catch of vulnerable species from seven Italian GSAs.

Materials and methods - The methodology used for the monitoring of the incidental by catch of vulnerable species was the one proposed by the EU Project "Strengthening regional cooperation in the area of fisheries data collection in the Mediterranean and Black Sea" (MARE/2014/19-SI2.705484: Spedicato, 2016), and are in line with the procedures proposed by the General Fisheries Commission for the Mediterranean and Black Sea (GFCM) (FAO, 2019). The incidental by catch of

vulnerable species in trawl fisheries has been monitored through a fleet observer programme, taking the advantage of the monitoring on board foreseen under the sampling of biological data in commercial fisheries within the EU Data Collection Framework (Reg. EU 2017/1004). Additional specific samplings on boards were performed (around 10-15 additional days). In parallel, a self-sampling and reporting programme by means of the completion of a specific logbook distributed to the skipper of a representative sub-sample of vessels has been performed. Interviews at landing point were also performed. In order to use standardized protocols among the different GSAs, several web-based meetings took place and were attended by all the persons in charge of the sampling in the seven Italian GSAs. Training has been provided to fleet observers and fishermen involved in the self-reporting programme. Guidelines and manuals were prepared and distributed to instruct observers and fishermen on the data collection and recording; in addition, species identification guides were prepared and distributed.

The incidental by catch of vulnerable species was recorded using standardized forms and logbooks prepared following the recommendation and formats proposed by the EU Project MARE/2014/19 Mediterranean and Black Sea (Spedicato, 2016; Ligas, 2019). When possible, morphometric data (e.g. size, weight, etc.) were recorded on the individuals caught. As concerns raising procedures, the capture rate by species and *métier* was calculated dividing the number of positive days (with catch) by the number of observed fishing days by means of both the observations on board and at landing point, and the logbooks.

Results - In total, 4536 fishing days were monitored in 2018 in the 7 Italian GSAs (193 through observations on board, 3343 through dedicated log-books filled in by fishermen, and 1000 through interviews; see Tab. 1). Twenty species were observed and reported during the monitoring programme in 2018: one reptile, *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), one cetacean, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), and 18 elasmobranchs (Tab. 2).

Tab. 1 - Summary of the fishing days monitored by *métier* and method in 2018 (4536 days monitored).

Sommario delle giornate di pesca monitorate per métier e metodo nel 2018 (4536 giornate monitorate).

Methods	<i>Métier</i>	n. vessels	days monitored
Observations on board	OTB_DES	43	140
Self-sampling (log-book)	OTB_DES	36	2253
Interviews	OTB_DES	6	1000
Observations on board	OTB_MDD	15	35
Self-sampling (log-book)	OTB_MDD	27	997
Observations on board	OTB_DWS	6	18
Self-sampling (log-book)	OTB_DWS	7	93
OTB_DES days monitored			3393
OTB_MDD days monitored			1032
OTB_DWS days monitored			111
Days monitored			4536

The species showing the largest number of individuals caught was *Squalus blainville* (Risso, 1827) (493 specimens), followed by *Mustelus mustelus* (Linnaeus, 1758) (244 individuals). A considerable by catch of *C. caretta* was observed (98 individuals caught, with a frequency of occurrence close to 2%). The bulk of the *C. caretta* by catch comes from the Adriatic Sea: 23 individuals were reported in GSA 17 (4%

frequency of occurrence) and 53 specimens in GSA 18 (9%). In the other GSAs, the frequency of occurrence was lower than 1%.

Tab. 2 - Summary of the vulnerable species observed and reported under the monitoring of the incidental by catch of trawl fisheries in 2018 (4536 days monitored).

Sommario delle specie osservate durante il monitoraggio delle catture accidentali della pesca a strascico nel 2018 (4536 giorni di pesca monitorati).

Species	n. specimens	n. days with catch	Frequency (%)
<i>Caretta caretta</i> (Linnaeus, 1758)	98	64	1.41
<i>Tursiops truncatus</i> (Montagu, 1821)	1	1	0.02
<i>Aetomylaeus bovinus</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817)	4	3	0.07
<i>Centrophorus granulosus</i> (Bloch & Schneider, 1801)	11	7	0.15
<i>Dasyatis pastinaca</i> (Linnaeus, 1758)	200	58	1.28
<i>Heptranchias perlo</i> (Bonaterre, 1788)	3	2	0.04
<i>Hexanchus griseus</i> (Bonaterre, 1788)	50	47	1.04
<i>Leucoraja melitensis</i> (Linnaeus, 1758)	23	3	0.07
<i>Mustelus asterias</i> Cloquet, 1819	1	1	0.02
<i>Mustelus mustelus</i> (Linnaeus, 1758)	244	61	1.34
<i>Mustelus punctulatus</i> Risso, 1827	2	2	0.04
<i>Myliobatis aquila</i> (Linnaeus, 1758)	66	21	0.46
<i>Oxynotus centrina</i> (Linnaeus, 1758)	38	33	0.73
<i>Prionace glauca</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	0.02
<i>Pteroplatytrygon violacea</i> (Bonaparte, 1832)	20	17	0.37
<i>Rostroraja alba</i> (Lacepède, 1803)	2	2	0.04
<i>Scyliorhinus stellaris</i> (Linnaeus, 1758)	4	4	0.09
<i>Squalus acanthias</i> Linnaeus, 1758	66	25	0.55
<i>Squalus blainville</i> (Risso, 1827)	493	69	1.52
<i>Tetronarce nobiliana</i> (Bonaparte, 1835)	1	1	0.02

Conclusions - This pilot study represents the first extensive monitoring scheme of the incidental by catch of vulnerable species in bottom trawl fisheries in Italian waters. Independent observations made by trained observers are considered as the most reliable and useful means of collecting data. However, these programmes can be quite expensive. Therefore, it was decided to couple a fleet observer programme with a self-sampling monitoring scheme. Integration of self-reporting tools with observer programmes allows also for cross-checking and review of self-reported data. By catch occurrence and absence data provided through self-sampling are very useful in flagging up by catch hotspots, which could be missed by a limited number of on-board observations. This is particularly true because bycatch rates may be very low and so will be missed by low numbers of on-board observations. In fact, by catch data provided through self-sampling were very useful in flagging up by catch hotspots of *C. caretta* in the Adriatic Sea, which could be missed by means of a limited number of on-board observations. Most of the scientists involved in the study underlined the increased difficulties of performing observations on board commercial vessels during normal fishing activities due to the administrative and bureaucratic issues. These difficulties can hamper the correct implementation of the sampling programmes devoted to the collection of biological data on commercial fisheries and discards. The support of the administration on this field would be an asset. The major difficulty encountered in most of the investigated areas is represented by the low degree of cooperation by fishermen. Despite the training received, and the continuous coordination and support from the scientific staff involved in the monitoring, some of the fishermen identified for the self-sampling programme provided a low response in

terms of completion of the logbooks. The logbook methodology has a low cost but requires a high degree of cooperation from the industry. In this sense, fishers often have too many forms to complete on a daily basis and their voluntary collaboration may suffer from the obligation of reporting different data. There was also the danger that fishers may not always record accurate data, or identify species incorrectly. This issue was overcome as the reporting forms were accompanied by a clear and easy identification guide. Furthermore, self-sampling fishers have been also hosting on board observers, thus providing for basic training in species identification. Self-sampling fishers were trained by observers so that species identification could be validated by trained observers and experts. In the light of all these considerations and the results obtained, the experience gained during the pilot study in 2018 will represent a fruitful basis for the design and implementation of further monitoring programmes in the future.

References

- CARPENTIERI P., NASTASI A., SESSA M., SROUR A. (2021) - Incidental catch of vulnerable species in Mediterranean and Black Sea fisheries - A review. *Studies and Reviews*, **101**. General Fisheries Commission for the Mediterranean - FAO, Rome: 317 pp.
- FAO (2019) - Monitoring the incidental catch of vulnerable species in Mediterranean and Black Sea fisheries: methodology for data collection. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, **640**. General Fisheries Commission for the Mediterranean - FAO, Rome: 81 pp.
- FAO (2020) - *The state of Mediterranean and Black Sea fisheries 2020*. General Fisheries Commission for the Mediterranean - FAO, Rome: 139 pp.
- LIGAS A. (2019) - Strengthening regional cooperation in the area of fisheries biological data collection in the Mediterranean and Black Sea. Contract MARE/2016/22-SI2.770115. Final Report: 86 pp + Annexes.
- OTERO M., SERENA F., GEROVASILEIOU V., BARONE M., B0 M., ARCOS J.M., VULCANO A., XAVIER J. (2019) - *Identification guide of vulnerable species incidentally caught in Mediterranean fisheries*. IUCN, Malaga, Spain: 204 pp.
- SPEDICATO M.T. (2016) - Strengthening regional cooperation in the area of fisheries data collection in the Mediterranean and Black Sea. Contract MARE/2014/19-SI2.705484. Final Report: 34 pp. + Annexes.

This work was performed within the Italian Plan for Fisheries Data Collection (EU Dec. 1251/2016).

E. MELIADÒ¹, G. BAVESTRELLO², S. LIBRALATO³, M. PETRILLO², R. CATTANEO-VIETTI²,
G. CIPRIANO¹, P. RICCI¹, M. INGROSSO¹, R. CARLUCCI¹

¹Department of Biology, University of Bari, Italy.

²DISTAV, University of Genova, Italy.

³OGS, Oceanography Division, Trieste, Italy.

eleonora.meliado@libero.it

THE UNDERWATER LAMP FOR FISHING SMALL PELAGICS USED BETWEEN 1912 AND 1942 IN ITALY: A HISTORICAL ANECDOTE

LA LAMPADA SUBACQUEA PER LA PESCA DI PICCOLI PELAGICI USATA TRA IL 1912 E IL 1942 IN ITALIA: UN ANEDDOTO STORICO

Abstract - Underwater lamps were used in small pelagic fisheries in Italian waters from 1912 to middle 20th century. It represented an essential change in the fishing technique with light sources. During the Fascist regime (1922-1943), mechanically propelled vessels were subsidised to use this technology. The historical anecdote presented here is a contribution to the knowledge of small pelagic fishing technologies used in Italy during the first half of the 20th century.

Key-words: historical fisheries, underwater lamp, small pelagics, Mediterranean Sea.

Introduction - Since 1912, fishermen replaced the traditional system of superficial acetylene lamp with the first underwater lamp for purse seine fishery (Falanga, 1941). Between 1915 and 1917, the state of war prohibited the use of light sources for overnight fishing activities in Italy for safety reasons (Monterosso, 1919). During the Fascist regime (1922-1943), this system was subsidised to be used by commercial fisheries. After the Second World War, the use of underwater lamps stopped, and it was replaced by petrol lamps. This study is a historical contribution to the knowledge of small pelagic fishing technologies used in Italy from 1912 to 1942, through several historical sources.

Materials and methods - The results of the experiments carried out on the underwater lamp in Italian waters were described with photos and technical drawings on the magazine "La Pesca Italiana" (1940-1946), recovered in library of Marine Biology and Fisheries Laboratory of Fano and the Biblioteca Nazionale of Florence. The official data of catches of small pelagics fisheries using the underwater lamp in 1942 refers to 22 Maritime Compartments (Imperia, Savona, Genoa, La Spezia, Livorno, Viareggio, Portoferraio, Civitavecchia, Rome, Gaeta, Cagliari, Olbia, Naples, Salerno, Brindisi, Bari, Ancona, Chioggia, Venice, Trieste, Fiume and Pola).

Results - Compared to the surface acetylene lamp in use until 1912, the underwater lamp called "Pietro Conti lamp" equipped with a cast-iron hull, increased the productivity of 30% of the small pelagics catches (Police, 1913; Monterosso, 1919). In 1931, the device was improved adding a Zeiss parabolic reflector inside a glass ceiling, protected by a bronze cage connected by electric wires (Russo lamp). This lamp was tested for the first time in the Gulf of Catania (Sicily), providing encouraging results (Fig. 1). It provided an increase in catches from 400 to 700 tons per year during the period 1932-1935 (Russo, 1942).

La Pesca Italiana
Mensile
Direttore ACHILLE RUSSO, Accademico d'Italia
ANNO I - N. 5
25 Settembre 1940-XVIII

PESCA LUMINOSA

Pesca con luce superficiale e subacquea - Elasticità applicata alla pesca e sbarramenti per la tonnara - Reclami contro la pesca luminosa e stato attuale delle nostre conoscenze.

La pesca con sorgente luminosa, praticata fin dai tempi più remoti con mezzi diversi, specialmente con fiamme prodotte da legni rovinati, si è sempre più diffusa, a scopo industriale, dal principio di questo secolo.

Il potenziamento di tal genere di pesca data dal 1906 ed è dovuto alla manutenzione di alcuni centri pescherecci d'Italia, alla quale spetta il primato, in quanto sono negli anni successivi, constatata l'utilità del metodo.



Fig. 1 - Appareto d'illuminazione a gas acetilene adibito nel 1912. Fianco a destra la lampada Zeiss di 120 mm. Dietro il tubo di gomma (3) si può vedere il tubo di sostegno (2) e il gas acetilene (1) che esce dal tubo di sostegno. (4) Cannocchiale per il gas acetilene. (5) Riflettore.

sino. Si ebbero quindi vari dispositivi di luce sommersa, che, da prima a scopo scientifico (2), nel 1906 furono diretti al miglioramento dell'industria. In tale anno, difatti, per far fronte alla crisi acedimera, manifestatasi su le coste Istriane, dietro suggerimento del Fape (3), Danerjue e Lomonaco, chiusa in una campina di vetro galleggiante; ma, tale sistema ed altri consimili, non dettero i risultati sperati, e, come si è visto, essi furono sostituiti da un sistema attuale, ottenuto con gas acetilene o di petrolio, nelle notti illuminate dal litoreale.



Fig. 2 - Lampada elettrica ad immersione senza riflettore interno, adibita nei primi esperimenti e costruita nel 1914.

Il nuovo genere di pesca, che era di evidente utilità pratica, venne perfezionato, perché i fari primitivi furono sostituiti da lampade, alimentate da gas acetilene o da gas petrolifero, entrambe ricoperte da un riflettore per proiettare la luce su la superficie acquosa (fig. 1).

Altri esperimenti furono successivamente fatti con ceste assai favorevoli, come quelli di Monterosso (9), bastere di dire su quelli, fatti nel mare di Sovanto (10); nel 1931, ai quali ha assistito il sottoscritto, si può dire il quale così un riflettore, dopo aver constatato che la locale Scuola professionale marittima possiede una lampada ad immersione subacquea del tipo Russo, si è verificato che, adibendo questa lampada non ha avuto la fortuna che si sperava. Le esperienze fatte con una vela marina di Sovanto mi mostrano che la dei sostegni, che meriterebbero di essere meglio colorizzati e vagliati dai pesatori. Potrei essere apprezzare questi vantaggi grazie al rag. Giacomo, il quale nel la mattina compagnia nelle osservazioni a Sovanto ed a Catanzaro marino. Egli, che, con grande interesse, si dedica ai problemi della pesca, può sperimentualmente farmi notare che, piazzando con la lampada elettrica fra una o petrolio ed un acetilene, at-



Fig. 3 - Dispositivo adibito in origine, per la pesca con luce subacquea. Nella base a l'accumulatore (3) e l'argano (4) con i fili conduttori della corrente (5) e con (X) massa su fondo marino.

Non 1912 fu costruita a Catania (4) una lampada che poteva essere sommersa a diversi metri di profondità, e che, nella sua semplice struttura (fig. 2), era costituita da un globo di vetro resistente, chiuso in una gabbia di protezione, su la cui apertura si adattava un coperchio metallico a perfetta tenuta, attraversato da due tubi con premii stops per il passaggio dei fili di una corrente elettrica, resi impermeabili da un rivestimento di gomma. Al centro, del lato interno del coperchio, fu posta una lampadina elettrica, che veniva attivata da una batteria d'accumulatore.

Nei primi esperimenti (fig. 3), tale lampada fu situata alla sommità di una massa metallica, poggiata sul fondo adoperata libere, in relazione con determinate reti e sacco o di circolazione, atte a raccogliere, al momento opportuno, le specie felicemente attive.

Negli anni successivi, il dispositivo fu perfezionato sia per zavorrarlo, onde evitare il capovolgimento, quando

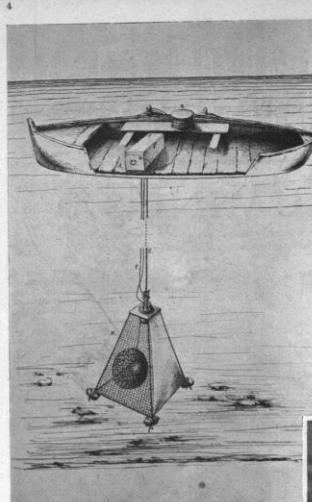


Fig. 4 - Lampada elettrica subacquea costruita nel 1930, con riflettore Zeiss di 120 mm. nell'interno.

era sospeso in acqua, sia per l'impiego di un riflettore, adatto a diffondere la luce in una zona più estesa. Difatti, nel 1930 e 1931 (5) furono costruite due lampade, formate, nel loro interno, da un riflettore, posto sotto il coperchio, di guida che la sagoma di tutto l'apparecchio e risultata più larga. Nell'apparecchio costruito nel 1930 la lampadina (fig. 4) fu posta sul fondo di un riflettore parabolico Zeiss di 120 millimetri, mentre in quello del 1931 (fig. 6), che è la forma definitiva, tale riflettore fu sostituito da uno specchio parabolico Zeiss di 245 millimetri, che diffonde a maggiore distanza la luce (fig. 6).

Quest'ultima lampada, per il suo miglior funzionamento, fu costruita con metalli diversi, con l'interrotto, e, nel circuito, fu interposto un reattore e cursore per regolare l'intensità luminosa.

La nostra lampada, anche nella primitiva costruzione, ha dato notevoli risultati pratici per un forte potere d'attrazione delle specie con fototassi positive.

Durante la grande guerra, dall'anno 1915 al 1917, nei quali fu proibita la pesca con luce superficiale, quella subacquea, schermata da grande riflettore, ha dato la possibilità di provvedere in parte all'alimentazione carnea in alcuni centri di pesca, come Siracusa, Rosarno, Forte Ferreo, ecc. (7).

Nel 1917, nel lago di Bracciano, dal principe Don Francesco Del Drago fu adottato lo

LA PESCA ITALIANA

dotto dei due Clapetidi diminuiti notevolmente perché fu proibita la pesca luminosa invece aumentò negli anni successivi, quando la luce fu di nuovo permessa.

La Sicilia, che ha anche applicata fototassi positiva, sebbene la sua biologia sia ancora poco conosciuta, si è comportata, negli stessi anni, come l'Acchigia.

(segue).

ACHILLE RUSSO.

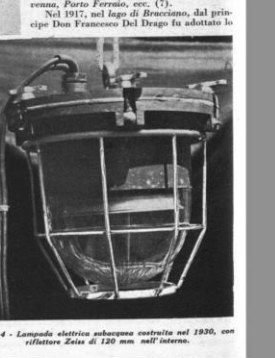


Fig. 5 - La stessa lampada smontata. A destra il coperchio con riflettore e lampadina al centro, a sinistra il recipiente di vetro, nel davanti, un tavoletto, la prova di corrente, il interruttore e fra essi un reattore e cursore.

LA PESCA ITALIANA

stesso sistema con risultati molto favorevoli. Come si rileva dalla pubblicazione, che dà notizia di tale pesca dopo breve tempo, lo specchio d'acqua illuminato si andò coprendo lateralmente da una micidiale di piccoli pesci, nel centro dell'illuminazione, e di grossi, come Lucii e Carpe, alla periferia (6).

Altri esperimenti furono successivamente fatti con ceste assai favorevoli, come quelli di Monterosso (9), bastere di dire su quelli, fatti nel mare di Sovanto (10); nel 1931, ai quali ha assistito il sottoscritto, si può dire il quale così un riflettore, dopo aver constatato che la locale Scuola professionale marittima possiede una lampada ad immersione subacquea del tipo Russo, si è verificato che, adibendo questa lampada non ha avuto la fortuna che si sperava. Le esperienze fatte con una vela marina di Sovanto mi mostrano che la dei sostegni, che meriterebbero di essere meglio colorizzati e vagliati dai pesatori. Potrei essere apprezzare questi vantaggi grazie al rag. Giacomo, il quale nel la mattina compagnia nelle osservazioni a Sovanto ed a Catanzaro marino. Egli, che, con grande interesse, si dedica ai problemi della pesca, può sperimentualmente farmi notare che, piazzando con la lampada elettrica fra una o petrolio ed un acetilene, at-



Fig. 6 - Sezione verticale della lampada precedente. c) coperchio di alluminio con riflettore Zeiss di 245 mm. e sistema di circuito a) globo di protezione - d) lampada elettrica - e) specchio parabolico - f) tubi premispinta per il passaggio dei fili della corrente.

Uno di essi riguarda alcune specie migratrici, che la luce dovrebbe dalla loro corsa abituale, facendole allontanare dalle zone, nelle quali avviene la loro cattura. In tali specie sono state comprese l'Acchigia e la Sardinella fra i Clapetidi, il Tonno fra gli Scomberiformi (11).

Per l'Acchigia, di cui si conosce, nelle grandi linee, la sua biologia e che, fino a pochi anni fa, si riteneva complice migrazione orizzontali a larga area di diffusione, oggi si sa che il suo ciclo vitale si conclude in zone determinate presso la costa e che per ciascuna non si possono distinguere delle razze locali. Questa specie non si sposta da una zona all'altra lontana, ma compie migrazioni locali, che sono relative alle funzioni fisiologiche come la ricerca dell'alimento, la deposizione dei prodotti

La lampada elettrica subacquea, nonostante le sue buone qualità di funzionamento, a mio parere, non entra finora nella pratica peschereccia per difficoltà di varia natura, e, soprattutto, per il disagio giornaliero della carica degli accumulatori, che debbono essere sbarcati ogni mattina e reimbarcati la sera.

Per eliminare tali inconvenienti si è progettato di adattare, per la pesca luminosa litoreale o di alto mare, un battello a propulsione meccanica, mediante il quale si potesse ottenere a bordo la carica degli accumulatori a mezza della giorno.

Negli anni in cui si diffuse la pesca luminosa, non pochi furono i reclami contro di essa, specialmente da parte dei pesatori, che, non facendone uso, si ritenevano danneggiati nell'esercizio delle loro reti. Tali reclami, che, per la loro vivacità, spesso erano causa di gravi disordini, decisero nel 1912 il Ministero dell'Agricoltura, su proposta della Commissione consultiva della pesca, a dare incarico ad alcuni biologi italiani di fare ricerche per risolvere il problema, allora molto oscuro, relativo ai danni che la



Fig. 7 - La stessa lampada smontata. A destra il coperchio con specchio parabolico Zeiss di 245 mm. e sistema di circuito a) globo di vetro; in mezzo i fili conduttori della corrente con rivestimento di gomma.



Fig. 8 - Come luminosa prodotta dalla lampada subacquea fornita di specchio parabolico. Il mare in alto, sia circolare, sia una vela, manovrata da una sola barca.

LA PESCA ITALIANA

La pesca con fiamme a gas acetilene, nel 1906, fu successivamente introdotta nel Golfo di Catania (Catania) e nel Golfo di Napoli (Napoli).

(1) G. G. Russo, *Per un dispositivo pratico e sicuro per la pesca subacquea a luce elettrica con un solo punto illuminato* Pubbl. Inst. oceanografico, Mon. 1915.

(2) G. G. Russo, *Rapporti sui lavori pescherecci e sulla immersione della lampada Zeiss di 120 mm.* Boll. Ist. Mar., Vol. X, 1906; *Pesche subacquee a luce elettrica*, Arch. de Zoologie expérimentale et générale, T. VI, 1907.

(3) Russo A. *Ulteriori ricerche su la pesca con sorgenti luminose nel Golfo di Catania*, Atti Acc. Gioiaria di Sc. Nat., Vol. VIII, S. V., Catania, 1912; *Esperimenti di Pesca con luce subacquea*, Id., Vol. X, ser. 3, Catania, 1915; *Modificazioni e aggiunte al metodo di pesca con luce subacquea*, Boll. Acc. Gioiaria, Catania, 1919.

(4) Russo A. *Esperimenti di pesca luminosa con lampada elettrica sommersa a Pesca dalle Acchigie con sorgenti luminose a c.* Boll. di pesc. di piscicoltura e idrobiologia, Roma, 1912.

(5) La lampada fu costruita dal valente Tecnico del R. Osservatorio astronomico di Catania, sig. Simone Carrara, e messa a punto presso l'Istituto Zoologico di Catania.

(6) V. U. Vico G. *La pesca con luci luminose elettriche subacquee*, Bassago di pesc. A. III, ser. II, Roma, 1919; *Valori delle luci*, (L'isola pubblicistica), I. 1, n. 2, Roma, 1918.

(7) Don. Diaco E. *Pesca con luce subacquea nel lago di Bracciano*, Riv. di pesc. A. II, Roma, 1917.

(8) M. Rossi B. *Esperimenti di pesca e ricerche di Biologia marina con lampade elettriche ad immersione*, Riv. Acc. Gioiaria di Sc. Nat., Vol. VIII, S. V., Catania, 1919-20.

(9) Pesca Ca. *La pesca nei mari di Calabria*, Boll. di piscicoltura e idrobiologia, A. VI, Roma, 1916.

(10) Notevoli stati si svilupparono in biologia del Tonno e del Pomodoro fecero in Italia, negli ultimi anni, i professori Sella, Saccorossi anche quelli nel Tonno della prof. Saccorossi.

Fig. 1 - Article published by the journal "La Pesca Italiana" in 1940. Articolo pubblicato dal giornale "La Pesca Italiana" del 1940.

In the period 1937-1939, the system was also tested in fishing for juveniles, but it was dismissed in 1940 due to the decrease of landings to 300 tons per year (Russo, 1940). Russo (1942) described this ancient story in the journal "La Pesca Italiana" (Fig. 2).

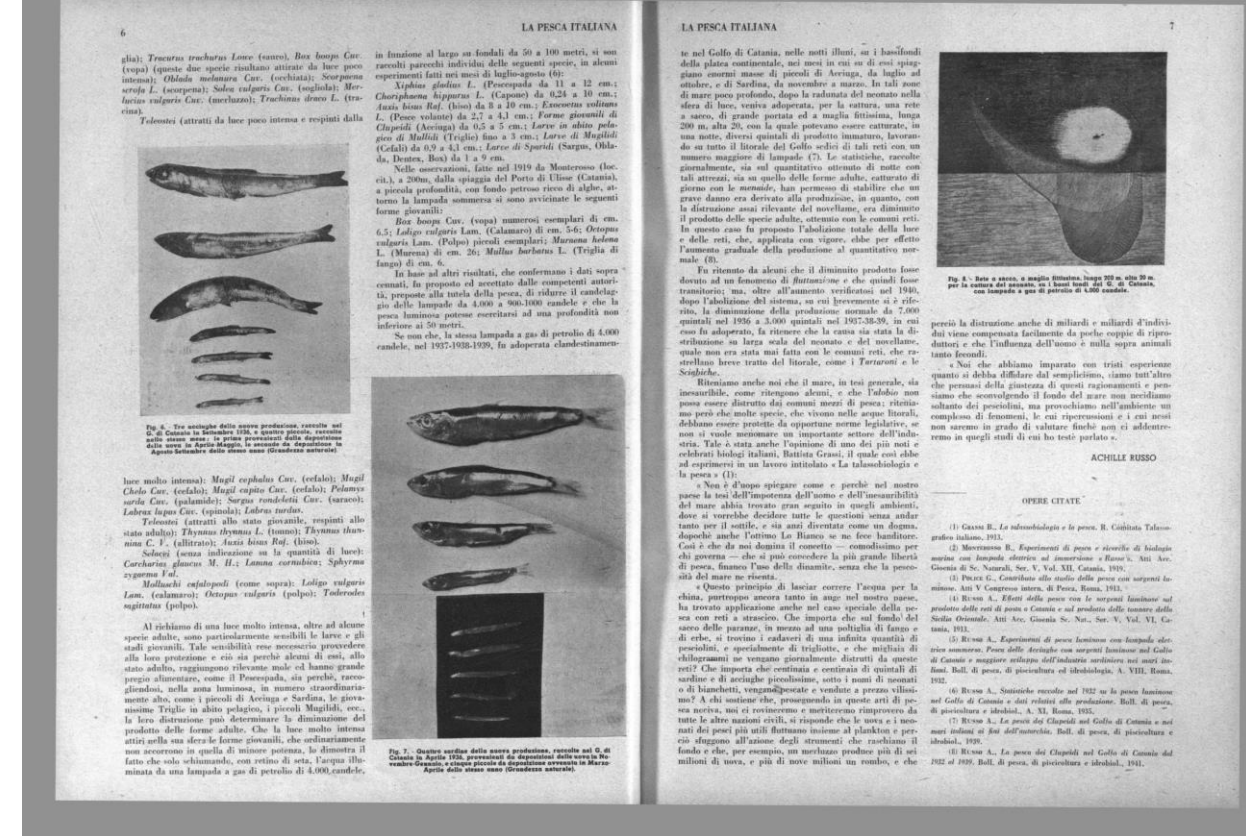
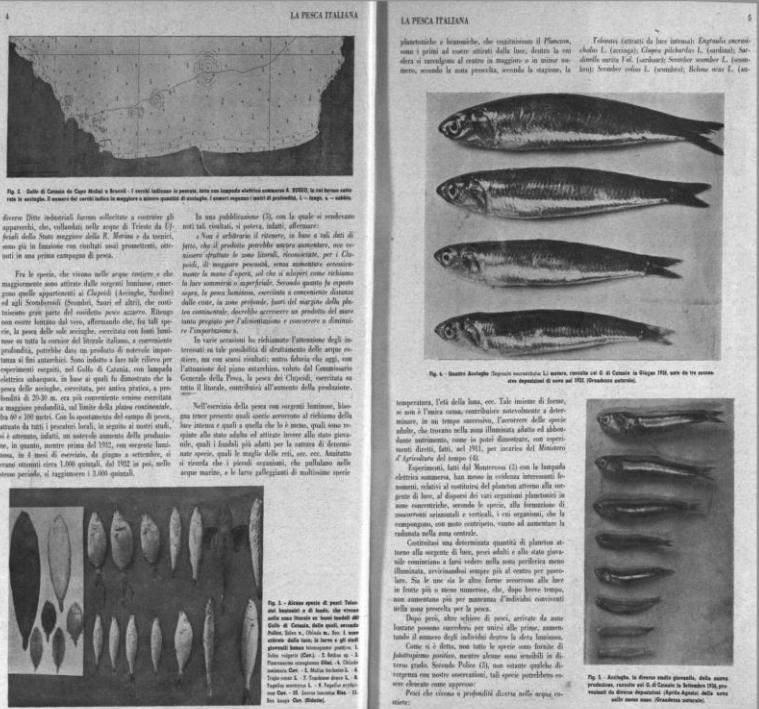


Fig. 2 - Article published by the journal "La Pesca Italiana" in 1942. Articolo pubblicato dal giornale "La Pesca Italiana" del 1942.

In April 1941, as a result of new experiments conducted in Trieste and Livorno, the National Fascist Party subsidised with a contribution of 35% the purchase of the lamp for 707 purse seiners in 22 Italian Maritime Compartments. The official production of small pelagics, recorded in La Pesca Italiana (Russo, 1942), reached 12467 tons during

April-November 1942 with an average value of 566.6 tons per vessel (SD 506.2). Among the 22 Maritime Compartments analysed, the highest value of total catches was reported in Savona (1750.5 tons), while the lowest was recorded in Viareggio (10.8 tons) (Fig. 3)

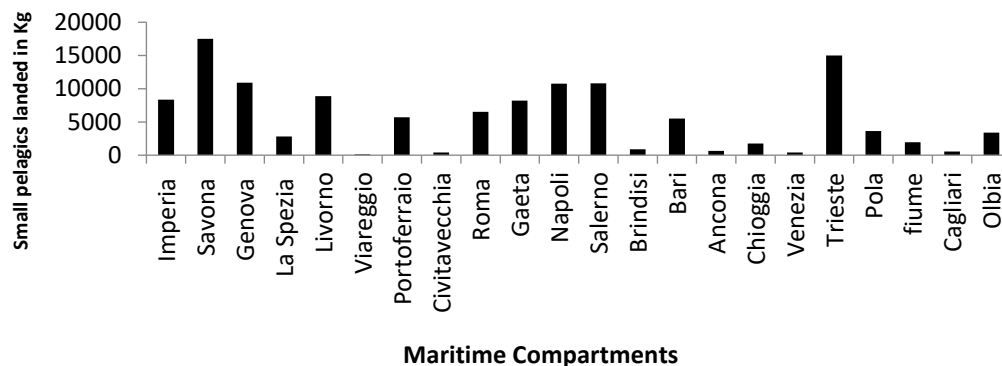


Fig. 3 - Quantity in kg of small pelagics landed in each considered Maritime Compartments in 1942.
Quantità di sbarcato in kg di piccoli pelagici per Compartimento Marittimo nel 1942.

Conclusions - It is crucial to establish historical fishing footprints as a baseline for management (FAO, 2019). In this context, these historical anecdotes provide a reconstruction of catches and technological changes in small pelagic fisheries in Italy during the first half of the 20th century. The use of underwater lamp from 1912 in small pelagic fisheries in the Italian waters represented an important change in fishing technologies. The political target of the Fascist regime to increase the production of the canning industry was supported by subsidies and ongoing experimentation of more efficient vessels in 22 Maritime Compartments until 1942. In that historical period, the marine resources, including the small pelagics, were considered underexploited, the active 707 purse seiners accounting for 25% of total catches (Russo, 1940). Overfishing, habitat modifications, climate changes and the regulation of nutrients discharges (introduced from the second half of '80), have played a role in the general reduction of the ecosystem's productivity and small pelagics catches particularly in the Adriatic (Libralato *et al.*, 2018). In 2019 several Italian stocks of anchovy and sardine are assessed as overfished (FAO, 2019) with 321 active purse seiners, 130 pelagic trawlers and a production of 66750 tons per year, representing 35% of the national fisheries product (Maiorano *et al.*, 2019).

References

- FALANGA R. (1941) - La pesca e la guerra. *La Pesca Italiana*, **2** (5):11-13.
- FAO (2019) - Report of the twenty-first session of the Scientific Advisory Committee on Fisheries. Cairo, Egypt, 24-27 June 2019. *FAO Fisheries and Aquaculture Report*, **1290**. General Fisheries Commission for the Mediterranean - FAO, Rome: 173 pp.
- LIBRALATO S., FORTIBUONI T., GIOVANARDI O., PRANOVI F., RAICEVICH S., SOLIDORO C. (2018) - I cambiamenti di lungo periodo dell'ecosistema Alto Adriatico desunti dall'analisi dello sbarcato. *Biol. Mar. Mediterr.*, **25** (1): 27-30.
- MAIORANO P., SABATELLA R.F., MARZOCCHI B.M. (EDS) (2019) - *Annuario sullo stato delle risorse e sulle strutture produttive dei mari italiani*. 432 pp.
- MONTEROSSO B. (1919) - Esperimenti di pesca e ricerche di biologia marina con lampada elettrica ad immersione "Russo". *Atti Acc. Gioenia di Scienze Naturali*, **12**. Serie V, Mem. XIII: 1-16.
- POLICE G. (1913) - Contributo allo studio della pesca con le sorgenti luminose. *Atti V Congresso Internazionale di Pesca*. Roma, 26-31 maggio 1911: 279-304.
- RUSSO A. (1940) - Pesca luminosa. *La Pesca Italiana*, **1** (5): 4-6.
- RUSSO A. (1942) - La pesca luminosa. *La Pesca Italiana*, **3** (2): 3-7.

A. NERI^{1,2}, C. MANCUSI^{1,3}, A. VOLIANI³, L. MARSILI¹¹Dipartimento di Scienze Fisiche, della Terra e dell'Ambiente, Università di Siena, Italia.²CIBM, Livorno, Italia.³ARPAT, Livorno, Italia.

alessandra.neri@student.unisi.it

ALIMENTAZIONE DI *SQUALUS BLAINVILLE* (RISSO, 1827) (CHONDRICHTHYES) NEL MAR LIGURE MERIDIONALE (MEDITERRANEO NORD-OCCIDENTALE)

FEEDING OF SQUALUS BLAINVILLE (RISSO, 1827) (CHONDRICHTHYES) IN THE SOUTHERN LIGURIAN SEA (NORTH-WESTERN MEDITERRANEAN)

Abstract - The stomach contents of 130 longnose spiny dogfish *Squalus blainville* caught in the southern Ligurian Sea were analyzed. Preliminary results show a generalist diet of this predator, with preference of teleosts, cephalopods and crustaceans.

Key-words: stomach content, diet, *Squalus blainville*, southern Ligurian Sea, north-western Mediterranean.

Introduzione - Lo spinarolo bruno *Squalus blainville* (Risso, 1827) è un piccolo squaliforme dalle abitudini bentoniche e gregarie (Compagno, 1984), che si può trovare fino a profondità di oltre 700 m; è presente in Oceano Atlantico, Pacifico e Indiano, ma anche in Mar Mediterraneo e Mar Nero (Serena, 2005). *S. blainville* è una specie ovovivipara che può raggiungere una lunghezza totale di 95 cm (23 cm alla nascita) (Compagno, 1984). In questa nota sono riportati dati sulla dieta di alcuni esemplari di *S. blainville* catturati nel Mediterraneo nord-occidentale.

Materiali e metodi - Gli stomaci di 130 esemplari di *S. blainville* (68 maschi, 62 femmine) sono stati analizzati per valutarne il contenuto. Gli esemplari esaminati, collezionati durante le Campagne MEDITS (Spedicato *et al.*, 2019) condotte dal 2009 al 2019 nell'area del Mar Ligure Meridionale (GSA 9), sono stati catturati mediante pesca a strascico a profondità comprese tra 310 e 409 metri. Le dimensioni degli esemplari campionati erano comprese tra 23,5 e 63 cm di lunghezza totale e circa i due terzi di essi erano sessualmente immaturi. Il riconoscimento delle prede è stato effettuato utilizzando guide identificative (Clarke, 1986; Tuset *et al.*, 2008) e confrontando i reperti rinvenuti negli stomaci con campioni conservati in collezione. Le prede sono state identificate al più basso livello tassonomico possibile, valutandone l'abbondanza numerica percentuale (N%) e la frequenza percentuale (F%), ossia la percentuale degli stomaci in cui è stato rinvenuto almeno un individuo di una data preda.

Risultati - Le analisi effettuate hanno evidenziato che 114 esemplari di *S. blainville* (60 maschi e 54 femmine), dei 130 disponibili, risultavano avere gli stomaci pieni o con tracce di prede, mentre i rimanenti sono risultati essere vuoti o con materia organica digerita. Dalle analisi condotte sono state individuate 777 prede, suddivise in 10 taxa (Tab. 1). I risultati ottenuti evidenziano una presenza abbondante e frequente di Crostacei, in particolare Eufausiacei (N%=53; F%=26,3) ed Isopodi (N%=8,8; F%=36). Le analisi hanno riscontrato anche una buona presenza e frequenza sia di Osteitti che di Cefalopodi. Tra i pesci ossei la specie maggiormente presente è risultata *Maurolicus muelleri* (Gmelin, 1789) (N%=2,8; F%=8,8), mentre tra i cefalopodi le famiglie più frequenti sono state Sepiolidae (N%=3,2; F%=17,5), in particolare le

specie *Heteroteuthis dispar* (Rüppell, 1844) e *Sepietta oweniana* (d'Orbigny, 1841), e Octopodidae (N%=1,5; F%=10,5), con *Eledone cirrhosa* (Lamarck, 1798).

Tab. 1 - Abbondanza numerica percentuale (N%) e frequenza percentuale (F%) per taxa.
Percentage numerical abundance (N%) and percentage of occurrence (F%) per taxa.

Taxa	N%	F%
Osteichthyes	10,9	50,0
Chondrichthyes	0,3	1,8
Cephalopoda	8,8	40,4
Crustacea	72,8	74,6
Polychaeta	2,7	12,3
Holothuroidea	1,3	7,0
Sipunculida	1,0	3,5
Thaliacea	1,2	4,4
Ascidacea	0,1	0,9
Hydrozoa	0,9	4,4
Prede totali	777	

Tra i taxa che sono risultati meno abbondanti, da menzionare i Policheti costituiti quasi totalmente da policheti erranti. Alcune prede, come Osteitti (N%=4,9; F%=28,9), Cefalopodi (N%=1,3; F%=8,8) e Condroitti (N%=0,3; F%=1,8), in particolare se di grandi dimensioni, non sono state identificate a livello di specie, non solo a causa dell'avanzato stato di digestione delle stesse, ma anche perché spesso sono state trovate solamente delle porzioni di prede (Fig. 1), che non presentavano elementi identificativi sufficienti per un completo riconoscimento. Inoltre, durante le analisi sono stati reperiti negli stomaci due oggetti di origine antropica, un frammento di un involucro di plastica trasparente (Fig. 2) e dello spago lungo circa 22 cm (Fig. 3).

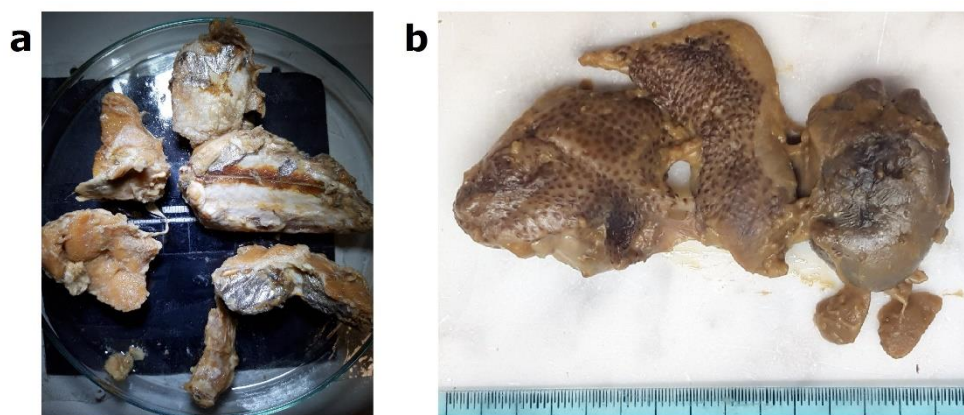


Fig. 1 - Porzioni di prede trovate negli stomaci di *S. blainville* analizzati: a) porzioni di osteitto non identificato; b) porzione di cefalopode non identificato.

Portions of prey found in the stomachs of *S. blainville* analysed: a) portions of unidentified bony fish; b) portion of unidentified cephalopod.



Fig. 2 – Frammento di plastica trasparente trovato nello stomaco di uno *S. blainville* analizzato.
Fragment of transparent plastic found in a stomach of S. blainville analysed.



Fig. 3 – Porzione di spago trovato nello stomaco di uno *S. blainville* analizzato.
Portion of string found in a stomachs of S. blainville analysed.

Conclusioni - I risultati acquisiti dall'analisi dei contenuti stomacali di *S. blainville* in quest'area del Mediterraneo indicano una dieta piuttosto generalista. Tale osservazione, unita alle abitudini gregarie della specie, induce a pensare che *S. blainville* possa attaccare le prede più grandi con un'azione di gruppo, determinando così l'ingestione di porzioni da parte di diversi individui. In questo studio viene confermata la preferenza per crostacei, osteitti e cefalopodi, come risulta anche da altri lavori relativi all'alimentazione di questa specie, condotti nel Mediterraneo centro-orientale (Kousteni *et al.*, 2017; Bonnici *et al.*, 2018; Bengil *et al.*, 2019).

Bibliografia

- BENGIL F., BENGIL E.G.T., MAVRUK S., HERAL O., KARAMAN O.D., OZAYDIN O. (2019) - Feeding ecology of four demersal shark species (*Etmopterus spinax*, *Galeus melastomus*, *Scyliorhinus canicula* and *Squalus blainville*) from the Eastern Aegean Sea. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, **19** (6): 475-484.
- BONNICI L., BONELLO J.J., SCHEMBRI P.J. (2018) - Diet and trophic level of the longnose spurdog, *Squalus blainville* (Risso, 1826) in the 25-nautical mile Fisheries Management Zone around the Maltese Islands. *Reg. Stud. Mar. Sci.*, **19**: 33-42.
- CLARKE M.R. (1986) - *A handbook for the identification of cephalopod beaks*. Clarendon Press, Oxford: 286 pp.

- COMPAGNO L.J.V. (1984) - FAO species catalogue. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes. *FAO Fish. Synop.*, **125**: 249 pp.
- KOUSTENI V., KARACHLE P.K., MEGALOFONOU P. (2017) - Diet and trophic level of the longnose spurdog *Squalus blainville* (Risso, 1826) in the deep waters of the Aegean Sea. *Deep Sea Res. Pt. I*, **124**: 93-102.
- 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.
- SPEDICATO M.T., MASSUTÍ E., MÉRIGOT B., TSERPES G., JADAUD A., RELINI G. (2019) - The MEDITS trawl survey specifications in an ecosystem approach to fishery management. *Sci. Mar.*, **83** (S1): 9-20.
- TUSET V.M., LOMBARTE A., ASSIS C.A. (2008) - Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *Sci. Mar.*, **72** (S1): 7-198.

S. REDOLFI BRISTOL¹, F. CAVRARO¹, L. SCAPIN², M. ZUCCHETTA³, P. FRANZOI¹

¹Department of Environmental Sciences, Informatics and Statistics (DAIS),
Ca' Foscari University of Venice, Italy.

²Laguna Project snc, Venezia, Italy.

³Institute of Polar Sciences, ISP-CNR, Venezia, Italy.
s.redolfibristol@unive.it

DISTRIBUTION OF GREY MULLET JUVENILES ALONG AN ENVIRONMENTAL GRADIENT IN VENICE LAGOON

DISTRIBUZIONE DI GIOVANILI DI MUGILIDI LUNGO UN GRADIENTE AMBIENTALE IN LAGUNA DI VENEZIA

Abstract - The identification of nursery fish habitats is a crucial step for the management of transitional water ecosystems. This study shows that grey mullet *Chelon auratus* and *Chelon ramada* juveniles during their migration inside the lagoon choose different habitats with specific physical-chemical conditions.

Key-words: lagoon, fish, nursery, conservation, habitat utilization.

Introduction - Early life history stages of marine migrant fish species (MM) enter the transitional water ecosystems (TWE) and use them as nursery areas (Sheaves *et al.*, 2015). Inside these ecosystems, MM juveniles of different species can exhibit a preference for habitats as a result of specific response to multiple environmental features (Vasconcelos *et al.*, 2011). The aim of this work was to investigate the distribution of grey mullet juveniles [*Chelon auratus* (Risso, 1810) and *C. ramada* (Risso, 1827)] in shallow water habitats of the Venice lagoon along an environmental gradient from the sea to the inland lagoon areas.

Materials and methods - Samplings were carried out with a beach-seine net (2 mm mesh size) from late winter to early summer 2016, during 7 surveys in 12 stations of the northern sub-basin of the Venice lagoon, exploring both seagrass and saltmarsh habitats (Fig. 1). In each station, together with fish samples, the main physical-chemical characteristics of water were recorded. Generalized Linear Mixed Models (GLMM) were used to analyze the effects of period of sampling and environmental variables (temperature, salinity, oxygen saturation, turbidity, chlorophyll concentration in water and sediment, grain size and organic content of sediment) on juvenile density distribution (individuals 100 m⁻²). GLMMs were fitted using density of each species as response variables. Stations were included as a random effect term, to account for the potential lack of independence among sampling sites. Models selection was carried out by means of Akaike Information Criterion and the best model was analysed in terms of standardized coefficients to identify the role of each variable in explaining species distribution. Principal Component Analysis (PCA) was used to observe differences between habitats in terms of environmental parameters and highlight the heterogeneity of the sampling stations.

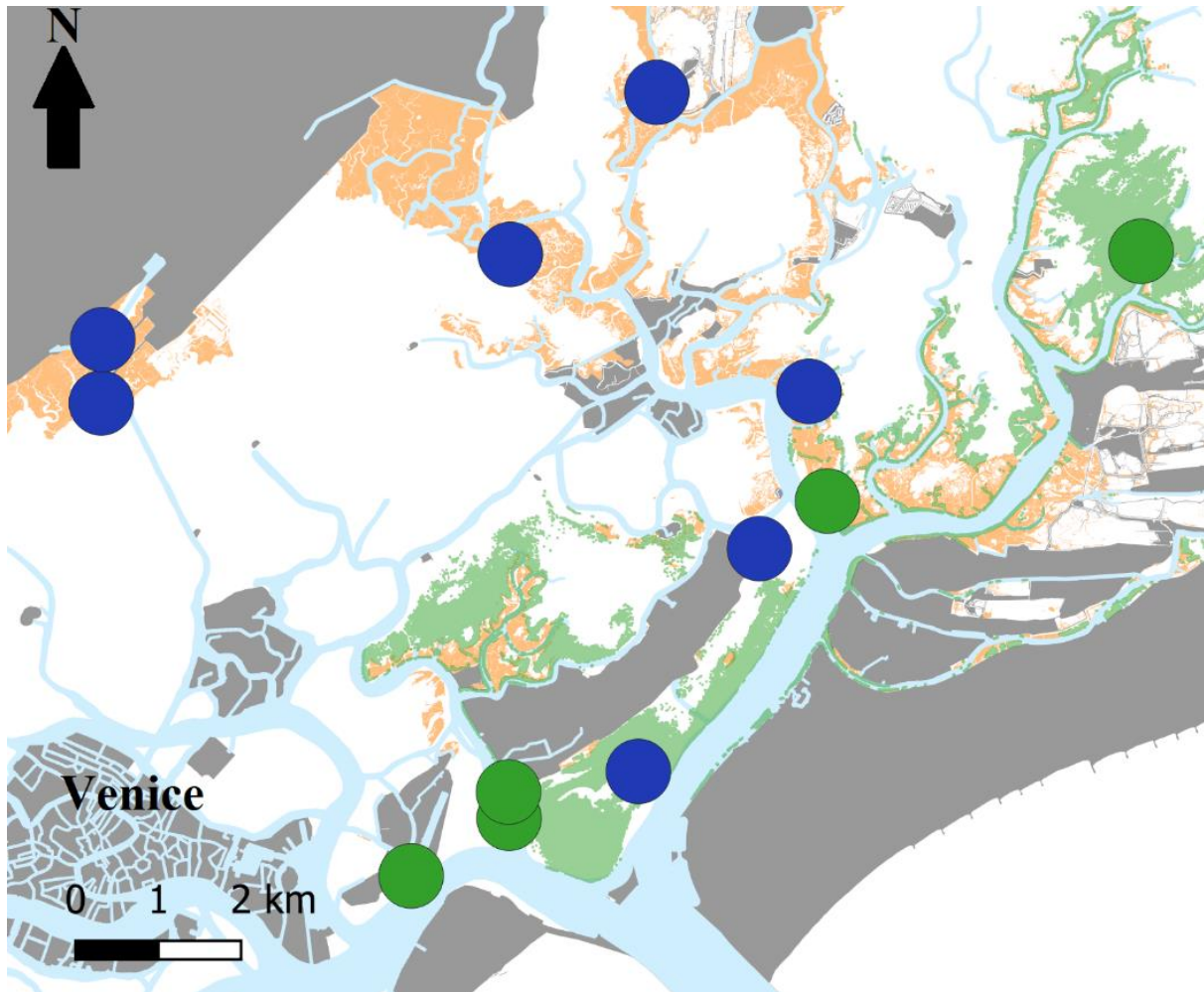


Fig. 1 - Location of sampling stations in the Venice lagoon. The green dots represent seagrass habitats, while the blue dots represent saltmarsh habitats.

Localizzazione delle stazioni di campionamento in laguna di Venezia. I punti verdi rappresentano habitat a prateria di fanerogame, mentre i punti blu rappresentano habitat a barena.

Results - Results highlighted that the juveniles (Standard Length between 9.0 mm and 50.0 mm) of the two species prefer different environmental conditions (Fig. 2). In Fig. 2 the red or blue shade indicates respectively a negative or positive effect of the environmental parameters on juvenile densities, according to the results of the GLMMs. *C. auratus* abundance is related with environments characterized by higher salinity and lower turbidity and chlorophyll concentration both in water and sediment, while *C. ramada* shows opposite relationship with environmental conditions with the exception of organic matter content and grain size of the sediment. PCA (Fig. 3) showed that the stations are distributed mainly along two gradients: one linked to residence times of water and sand content (in the inner stations the time needed to change the water through the tide cycles is higher than in the stations near the sea inlet and the percentage of sand in the sediment is lower) and one more linked to salinity, turbidity and water chlorophyll (trophic). Therefore, results of PCA showed that saltmarsh habitats could differ each other according with environmental parameters and in some cases could present similar environmental conditions of seagrass meadows.

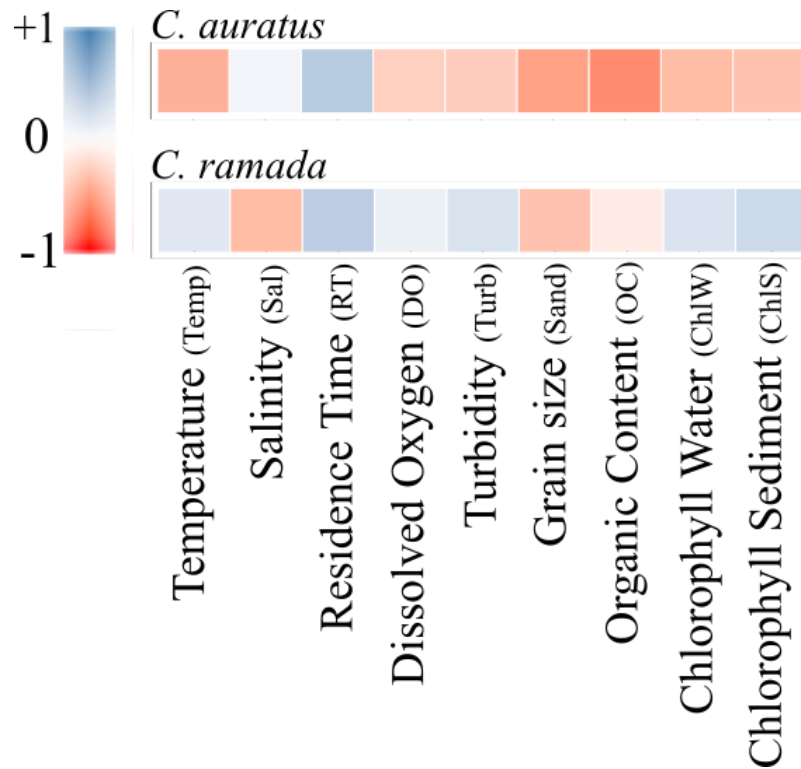


Fig. 2 - Standardized coefficients estimated by GLMMs for each response variable. Blue shade indicates a positive effect of environmental parameters; red shade indicates a negative effect.
Coefficienti standardizzati stimati dai GLMM per ciascuna variabile di risposta. I colori blu indicano un effetto positivo delle variabili ambientali; i colori rossi un effetto negativo.

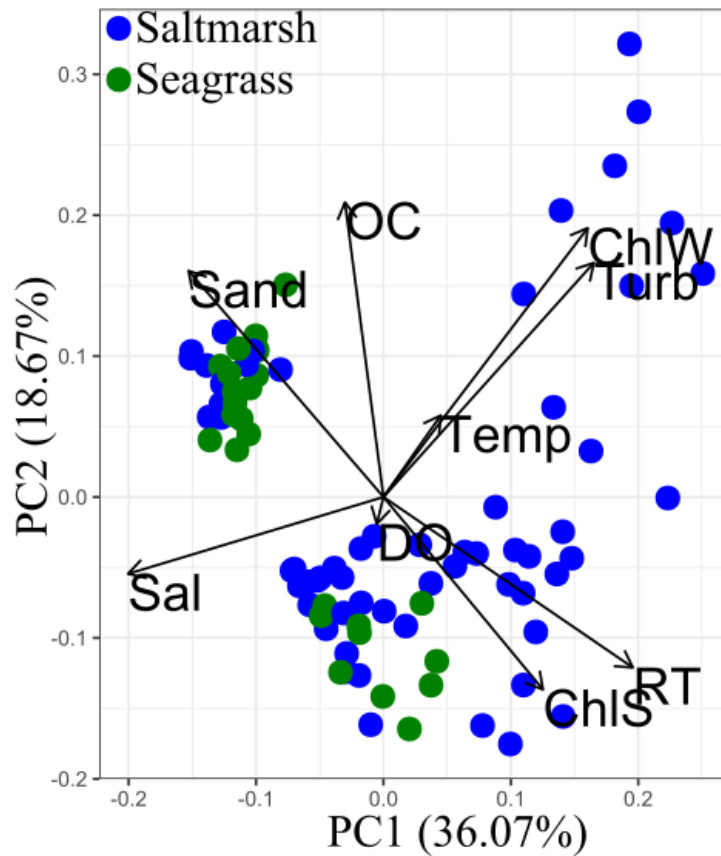


Fig. 3 - Ordination of the stations according to the results of PCA.
Ordinamento delle stazioni secondo i risultati della PCA.

Conclusions - A full comprehension of the distribution dynamics of MM juveniles in TWE habitats is a crucial step in preserving and managing the functioning of these coastal ecosystems (Nagelkerken *et al.*, 2015). The results of the present study pointed out that juveniles of *C. auratus* and *C. ramada*, after entering the lagoon of Venice, choose different habitats with specific physical-chemical conditions. Indeed, *C. ramada* is linked to less salty and more nutrient-rich saltmarshes, while *C. auratus* is more related to less turbid and less nutrient-rich areas, not only in saltmarshes but also in seagrass meadows. Therefore, it is highlighted that the habitat alone (saltmarsh or seagrass) does not guarantee the identification of best distribution of these species. For example, not all the saltmarsh habitats are equally suitable for both species, hence the importance of considering the multiple environmental gradients when investigating MM juvenile distribution in TWE.

References

- NAGELKERKEN I., SHEAVES M., BAKER R., CONNOLLY R.M. (2015) - The seascape nursery: a novel spatial approach to identify and manage nurseries for coastal marine fauna. *Fish Fish.*, **16** (2): 362-371.
- SHEAVES M., BAKER R., NAGELKERKEN I., CONNOLLY R.M. (2015) - True value of estuarine and coastal nurseries for fish: incorporating complexity and dynamics. *Estuar. Coast.*, **38**: 401-414.
- VASCONCELOS R.P., REIS-SANTOS P., COSTA M.J., CABRAL H.N. (2011) - Connectivity between estuaries and marine environment: integrating metrics to assess estuarine nursery function. *Ecol. Indic.*, **11** (5): 1123-1133.

P. SARTOR¹, F. ANCONA², A. ANIBALDI³, F. CALÍ⁴, F. CAPEZZUTO², P. CARBONARA⁵,
C. D'IGLIO⁶, M. DONNALOIA⁵, M.C. FOLLESA⁷, D. GIORDANO⁶, D. MASSI⁸, A. MULAS⁷,
M. PANFILI⁴, A. SANTOJANNI⁴, M. SARTINI⁹, M. STAGIONI³, A. TITONE⁸

¹CIBM, Consorzio per il Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata, Livorno, Italy.

²Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Italy.

³Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Bologna, Italy.

⁴CNR-IRBIM, Ancona, Italy.

⁵COISPA, Torre a Mare (BA), Italy.

⁶CNR-IRBIM, Messina, Italy.

⁷Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università di Cagliari, Italy.

⁸CNR-IRBIM, Mazara del Vallo (TP), Italy.

⁹Aplysia, Livorno, Italy.

sartor@cibm.it

TROPHIC ECOLOGY OF *MERLUCCIOUS MERLUCCIOUS* (LINNAEUS, 1758): FIRST RESULTS OF A COORDINATED STUDY IN THE ITALIAN SEAS

ECOLOGIA TROFICA DEL NASELLO, MERLUCCIOUS MERLUCCIOUS (LINNAEUS, 1758): PRIMI RISULTATI DI UNO STUDIO COORDINATO NEI MARI ITALIANI

Abstract - A coordinated study on the trophic ecology of *M. merluccius* (Linnaeus, 1758) was carried out in 2018 in all the Italian seas, by means of stomach content analysis. The preliminary results confirm a diet mainly based on Bony Fishes, followed by Euphausiids and Decapod Crustaceans. Ontogenetic changes in the trophic spectrum were also evidenced.

Key-words: *Merluccius merluccius*, diet, demersal species, trophic chain.

Introduction - Trophic ecology has been introduced in the Italian Working Plans for Fisheries Data Collection since 2018, as a Pilot Study, following the indications of the EUMAP (EU Decree 1251/2016). The Pilot Study was focused on the European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), to increase the understanding on diet and pool of resources sustaining its life cycle. This study is the first experience in Italy of a coordinated investigation at national level on the diet of *M. merluccius*. This note presents the first results of the study performed in 2018; the investigation has continued in the following years (from 2019 to 2021) and currently is implemented in the Italian Work Plan for data collection in the fisheries (EU Dec. 2017/1004; 2021/1167; 2021/1168; 2016/1701).

Materials and methods - After a preparatory phase aimed at standardising the working protocols, a study based on stomach content analysis of *M. merluccius* was carried out. Data collection involved all the Italian GSAs. Hakes were sampled in June-August 2018, from the MEDITS trawl survey; additional samples were collected from the biological sampling of the commercial fisheries (EU Reg. 1004/2017). A total of 13887 specimens was analysed, taking data on Total Length (TL) and stomach repletion (1: empty; 2: full<50%; 3: full>50%; 4: bursting; 5: everted). A minimum of 15 stomachs per five size classes and GSA was collected: I<10.5 cm; II=10.5-15 cm; III=15.5-20 cm; IV=20.5-32.5 cm; V>32.5 cm. Stomach contents were identified to the lowest taxonomic level possible; the following indices were computed for each prey: Frequency of occurrence (%F); Percentage in weight (%W); Percentage in number (%N); Index of Relative Importance (IRI)=%F (%N+%W) (Hyslop, 1980; Cortés, 1997), also computed in percentage (%IRI).

Results - Overall, the stomachs in the 29% of the hakes analysed had prey remains; 27% were empty and 44% everted. The highest percentage of stomachs with food (35%) was found in the smallest specimens (<10.5 cm TL), the lowest (21%) in the largest specimens (>32.5 cm TL). The percentage of specimens with everted stomachs increased with size, reaching 61% in the hakes >32.5 cm TL. As shown in Tab. 1, the diet of the European hake in the Italian GSAs is mainly composed by Bony Fishes, followed by Euphausiids and Decapod Crustaceans; the other taxa played a minor role in the diet. No substantial deviations were identified in the various GSAs, with the only exception of a greater importance of the Euphausiids in the GSAs 16 and 11 and of the Decapods in the GSA 19.

Tab. 1 - Diet of *M. merluccius*. Values of IRI% of the major Taxa, by GSA.

Dieta di M. merluccius. Valori di IRI% dei Taxa superiori, per GSA.

	GSA 9	GSA 10	GSA 11	GSA 16	GSA 17	GSA 18	GSA 19
Decapoda	3.0	0.9	2.3	2.0	5.0	8.1	19.0
Copepoda							0.3
Mysidacea	3.0	2.6	0.7	0.7	0.1		
Euphausiacea	1.0	1.3	14.7	74.0		6.4	0.4
Amphipoda							0.1
Isopoda	0.2						
Crustacea undet.	0.2	0.1			0.7	3.5	1.0
Bivalvia				0.1			
Cephalopoda	0.6	0.1	0.6	0.2	0.2	0.2	0.3
Osteichthyes	92.0	95.0	81.7	23.0	94.0	81.8	79.0

The diet showed clear ontogenetic changes: the smallest hakes preyed mainly on small Crustaceans, like Euphausiids and Mysids. Bony Fishes were mostly present in the diet of hakes >15 cm TL, although their presence was detected in all the size classes. Decapods were most important in the hakes from 10.5 to 20.0 cm TL (Fig. 1). The predominance of Bony fishes in the diet was confirmed by the results of the non parametric test of Kruskal Wallis ($p < 0.05$) applied to the IRI values of the main taxa, as well as the ontogenetic differences in the diet. Despite the advanced digestion stage of many preys, 100 Taxa were identified at species level or of higher taxonomic group (Tab. 2): Decapoda (27), Stomatopoda (1), Copepoda (1), Isopoda (2), Euphausiacea (4), Mysidacea (2), Amphipoda (1), Cephalopoda (14), Bivalvia (2), Osteichthyes (46). As regards Decapoda, the preys mostly present are the nektobenthic species *Chlorotocus crassicornis* (A. Costa, 1871), *Plesionika heterocarpus* (A. Costa, 1871), *Solenocera membranacea* (Risso, 1816) and *Parapenaeus longirostris* (H. Lucas, 1846); the pelagic species *Pasiphaea sivado* (Risso, 1816); the benthic species *Alpheus glaber* (Olivi, 1792). Euphausiacea are represented by the pelagic species *Meganyctyphanes norvegica* (M. Sars, 1857), while Mysidacea by the suprabenthic species *Lophogaster typicus*, M. Sars, 1857. As concerns Osteichthyes, the main preys are the small pelagics as *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) and *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), other pelagic species as *Ceratoscopelus maderensis* (Lowe, 1839), *Mauroliticus muelleri* (Gmelin, 1789) and the nektobenthic species *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758). Worthy of note is the cannibalism: the presence of *M. merluccius* as a prey was recorded in 6 of 7 GSAs; the highest incidence of cannibalism was noticed in GSA9.

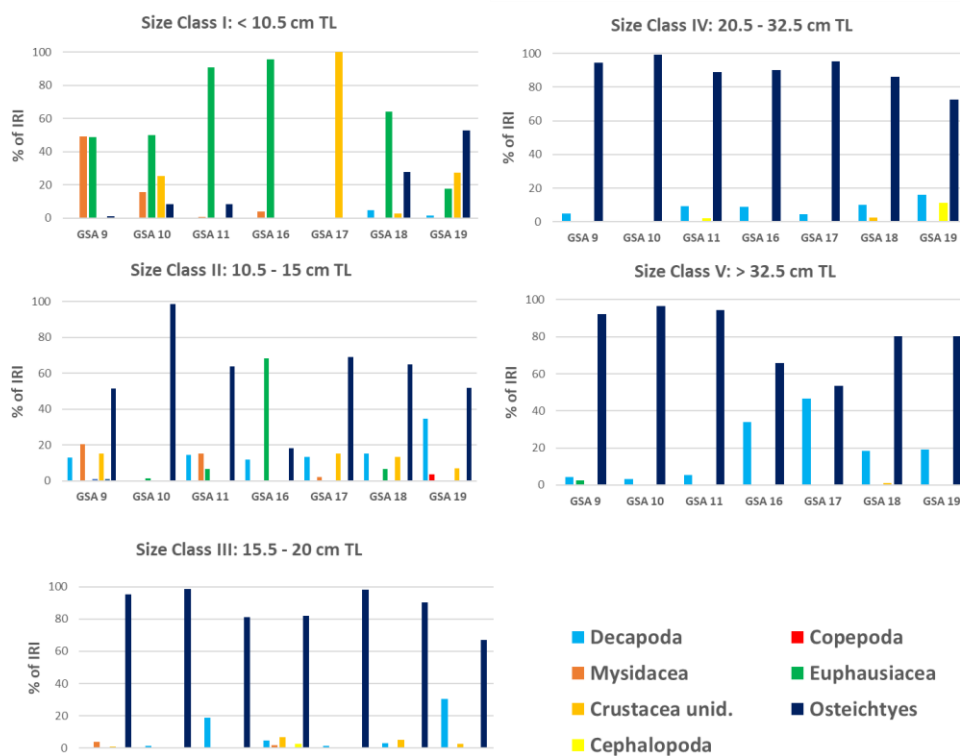


Fig. 1. - Diet of European hake. Values of the Index of Relative Importance (IRI%) of the major Taxa, for each GSA and size class.

Dieta del nasello. Valori dell'Indice di Importanza Relativa (IRI%) dei Taxa principali, per ciascuna GSA, per classe di taglia.

Conclusions - The general characteristics of the European hake diet highlighted by this study substantially agree with the previous knowledge, in particular relating to the ontogenetic differences (Colloca *et al.*, 2017; Fanelli *et al.*, 2018; Carrozzi *et al.*, 2019). Although some prey categories seem to predominate the diet, the trophic spectrum is highly diversified, confirming the *euryphagia* of the species. The prosecution of this study will allow to characterize better the composition of the diet and evaluate the cannibalism in *M. merluccius*, that seems more important in areas with high densities of juveniles of the species, as the GSA 9 (Colloca *et al.*, 2017).

References

- CARROZZI V., DI LORENZO M., MASSI D., TITONE A., ARDIZZONE G.D., COLLOCA F. (2019) - Prey preferences and ontogenetic diet shift of European hake *Merluccius merluccius* (Linnaeus 1758) in the central Mediterranean Sea. *Reg. Stud. Mar. Sci.*, **25**: 100440.
- COLLOCA F., MANNINI A., FIORENTINO F. (2017) - *Merluccius merluccius*. In: Sartor P., Mannini A., Carlucci R., Massaro E., Queirolo S., Sabatini A., Scarcella G., Simoni R. (eds), Synthesis of the knowledge on biology, ecology and fishery of the halieutic resources of the Italian seas. *Biol. Mar. Mediterr.*, **24** (Suppl. 1): 292-303.
- CORTÉS E. (1997) - A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54** (3): 726-738.
- FANELLI E., RUMOLO P., BARRA M., BASILONE G., GENOVESE S., BONANNO A. (2018) - Mesoscale variability in the trophic ecology of the European hake *Merluccius merluccius* in the Strait of Sicily. *Hydrobiologia*, **821**: 57-72.
- HYSLOP E.J. (1980) - Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *J. Fish Biol.*, **17** (4): 411-429.

This work was realized within the Italian Plan for Fisheries Data Collection (EU Dec. 1251/2016).

Tab. 2. - List of the Taxa found in the stomachs of *M. merluccius* in each GSA. The Taxa found in at least four GSAs are reported in bold.

Lista dei Taxa rinvenuti nei contenuti stomacali di M. merluccius in ciascuna GSA. I Taxa rinvenuti in almeno quattro GSA sono evidenziati in grassetto.

PREY ITEM	GSA							PREY ITEM	GSA						
	9	10	11	16	17	18	19		9	10	11	16	17	18	19
Decapoda								<i>Todarodes sagittatus</i>	X						
<i>Aegaeon cataphractus</i>		X	X					Sepiolidae unid.			X				X
<i>Alpheus glaber</i>	X		X	X	X	X	X	Sepioidea unid.						X	
<i>Aristaeomorpha foliacea</i>		X						Teuthoidea unid.	X					X	
<i>Chlorotocus crassicornis</i>	X		X	X		X	X	Cephalopoda n.d.	X	X		X	X		X
<i>Goneplax rhomboides</i>							X	Bivalvia							
<i>Munida</i> sp.						X		<i>Venus</i> spp.			X				
<i>Parapenaeus longirostris</i>	X		X	X		X	X	Bivalvia unid.						X	
<i>Pasiphaea sivado</i>	X	X	X	X		X	X	Osteichthyes							
<i>Philocheras bispinosus</i>						X		<i>Argentina sphyraena</i>						X	
<i>Philocheras echinulatus</i>							X	<i>Boops boops</i>		X				X	X
<i>Philocheras sculptus</i>			X					<i>Callionymus maculatus</i>				X			
<i>Philocheras</i> sp.					X			<i>Capros aper</i>		X					
<i>Plesionika edwardsii</i>							X	<i>Cepola macrophthalmia</i>		X			X		
<i>Plesionika heterocarpus</i>			X	X		X	X	<i>Ceratoscopelus maderensis</i>		X	X	X		X	X
<i>Plesionika martia</i>		X						<i>Chlorophthalmus agassizi</i>		X		X			X
<i>Plesionika</i> sp.	X							<i>Coelorhynchus caelorhynchus</i>				X			
<i>Pontophilus spinosus</i>			X					<i>Conger conger</i>		X					
<i>Processa acutirostris</i>		X						<i>Engraulis encrasicolus</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Processa canaliculata</i>							X	<i>Gadiculus argenteus</i>				X		X	X
<i>Processa</i> sp.	X		X		X			<i>Gaidropus biscayensis</i>					X	X	
<i>Solenocera membranacea</i>	X	X	X	X	X	X	X	<i>Glossanodon leioglossus</i>			X	X		X	
Crangonidae unid.			X			X		<i>Helicolenus dactylopterus</i>					X		
Pandalidae unid.						X		<i>Hymenocephalus italicus</i>		X		X			X
Aristeida unid.							X	<i>Lampanyctys crocodilus</i>	X	X	X				
Brachiura unid.							X	<i>Lepidopus caudatus</i>	X		X	X			
Natantia unid.							X	<i>Lestidiops</i> sp.			X				
Decapoda unid.		X	X	X	X	X	X	<i>Lesuerigobius suerii</i>						X	
Stomatopoda								<i>Lesuerigobius friesii</i>						X	
<i>Pseudosquillaopsis cerisii</i>		X						<i>Lesuerigobius</i> spp.	X						
Copepoda								<i>Macroramphosus scolopax</i>		X					X
Arpacticoida unid.							X	<i>Maurolicus muelleri</i>	X	X	X			X	X
Isopoda								<i>Merluccius merluccius</i>	X		X	X	X	X	X
<i>Cirolana</i> sp.	X							<i>Micromesistius poutassou</i>					X	X	
Isopoda unid.	X							<i>Mullus surmuletus</i>				X			
Euphausiacea								<i>Myctophum punctatum</i>							X
<i>Meganychtiphanes norvegica</i>	X	X	X			X		<i>Molva dyperigia</i>						X	
<i>Nyctiphanes couchii</i>				X				<i>Notoscopelus elongatus</i>			X				
<i>Stylocheiron longicorne</i>		X						<i>Pagellus acarne</i>		X					
Euphausiacea unid.	X	X	X			X	X	<i>Pagellus erythrinus</i>				X			
Mysidacea								<i>Phycis blennoides</i>						X	X
<i>Lophogaster typicus</i>	X		X	X		X		<i>Sardina pilchardus</i>	X			X		X	X
Mysidacea unid.		X			X			<i>Spicara smaris</i>			X				
Amphipoda								<i>Sudis hyalina</i>				X			
Amphipoda unid.					X	X		<i>Synchiropus phaeton</i>							X
Crustacea n.d.	X	X		X	X	X	X	<i>Trachurus mediterraneus</i>			X	X		X	
Cephalopoda								<i>Trachurus trachurus</i>	X	X	X	X			
<i>Abralia veranyi</i>				X		X		<i>Trisopterus capelanus</i>	X						
<i>Illex coindetii</i>						X	X	<i>Vinciguerra attenuata</i>			X				
<i>Rondeletiola minor</i>		X			X			Clupeidae unid.		X					X
<i>Sepia elegans</i>			X					Gobiidae unid.					X	X	
<i>Sepietta oweniana</i>	X							Myctophidae unid.	X			X		X	X
<i>Sepiola rondeleti</i>			X					Ophichthidae unid.		X					
<i>Sepietta</i> spp.				X				Paralepididae unid.						X	
<i>Sepiola</i> spp.				X				Osteichthyes unid.	X	X	X	X	X	X	X
<i>Todaropsis eblanae</i>			X												

G. CARUSO¹, M.G. GIACOBBE², X. CAO³, C. SONG³, F. AZZARO¹, F. DECEMBRINI¹,
M. LEONARDI¹, Y.Y. ZHOU³

¹Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) - Istituto di Scienze Polari (ISP), Messina, Italy.

²CNR-IRBIM, Messina, Italy.

³Chinese Academy of Sciences (CAS) - Institute of Hydrobiology (IHB), Wuhan, P.R. China.
gabriella.caruso@cnr.it

BACTERIA-PHYTOPLANKTON INTERACTIONS IN A COASTAL MEDITERRANEAN AREA AFFECTED BY HARMFUL ALGAL BLOOMS (SYRACUSE GULF, IONIAN SEA)

INTERAZIONI BATTERI-FITOPLANCTON IN UN'AREA COSTIERA MEDITERRANEA SOGGETTA A FIORITURE DI ALGHE TOSSICHE (GOLFO DI SIRACUSA, MAR IONIO)

Abstract - In order to understand bacteria-phytoplankton interactions in harbor environments, trophic conditions (nutrient, chlorophyll, organic matter), microbial enzyme activities and phytoplankton and bacterial abundances were studied seasonally from September 2018 to August 2019 in the Syracuse Gulf (Ionian Sea), a Mediterranean area often experiencing Harmful Algal Blooms. During spring, dinoflagellate bloom was coupled with high microbial activity rates that recycled nutrients to sustain phytoplankton growth; conversely, in the other seasonal periods, phytoplankton and bacterial abundances were uncoupled. This suggested that bacterial-phytoplankton interactions modulated differently microbial metabolism in terms of enzyme production depending on the variable trophic conditions (bloom or not-bloom periods).

Key-words: algal blooms, microbes, phytoplankton, enzymes, Ionian Sea.

Introduction - Harmful algal blooms (HABs) occur in aquatic ecosystems under optimal temperature, trophic and light conditions. The dynamics of these blooms are known to vary from site to site, in relation to hydrographic and topographic characteristics (Vila *et al.*, 2005). Phytoplankton and bacteria are linked by complex metabolic relationships, playing a key role in carbon fluxes and nutrient regeneration (Mayali, 2018). Heterotrophic bacteria are fuelled by the organic carbon released in a dissolved form by phytoplankton; *vice-versa*, organic matter is re-mineralized within the microbial loop, supplying nutrients for phytoplankton growth (Song *et al.*, 2018, 2019). Within the international research program "Mechanisms of red tides and hypoxia as ecological marine disasters and technologies for its early warning along the Belt and Road Countries" the role of microbial processes in organic matter turnover and phytoplankton growth were investigated. In this context, the Syracuse Gulf was selected as a target Mediterranean site to compare the spatial and temporal dynamics of phytoplankton and bacteria and to assess how these two components of microbial food web interact over time. Located along the Ionian Sea, the Syracuse Gulf is a wide coastal area limited by the Ortigia Island in the north and by the Maddalena peninsula in the south (Fig. 1), with an average depth of 25-30 m at its entrance and a total surface of about 700 ha. Different forcings coexist within this ecosystem, making it a natural laboratory suitable for studying how microbial communities react to contrasting natural and anthropogenic variables, *i.e.* freshwaters from the Aretusa springs and from the Anapo-Cyane rivers, urban, agriculture, shellfish farming and maritime activities that release their waste loads in the Gulf. Eutrophic conditions are reached especially in the spring-summer period in the harbor, which is characterized by a limited water exchange. Previous studies (*i.e.* Vila *et al.*, 2005) documented the

recurrent occurrence between March and May of HABs of *Alexandrium minutum* Halim and other dinoflagellates; nevertheless, these surveys did not look at the bacterial component and its possible metabolic interactions with the phytoplankton community. This study aimed at evaluating phytoplankton and heterotrophic bacterial abundance and metabolism, as well as their spatial and temporal variations in response to the main environmental parameters.

Materials and methods - During late summer (September 2018), spring (May 2019) and summer (August 2019), surface water samples were collected from six hydrological stations: two affected by freshwater inputs (stat. 2: Aretusa springs; stat. 3: Anapo-Cyane rivers), two by maritime and mariculture activities (stat. 1 and 4, respectively) and two marine stations (stat. 5 and 6) as controls (Fig. 1). At stat. 1 and 4, samplings were also performed at bottom (maximum depth 4 m), due to the frequent occurrence of blooms at these stations impacted by anthropic activities.

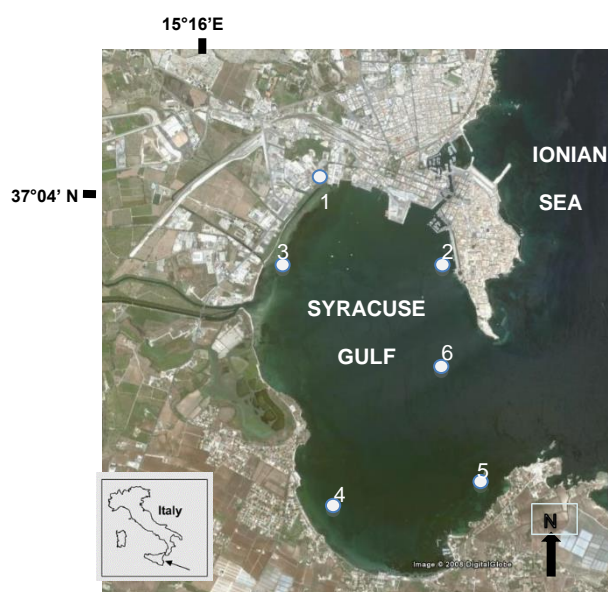


Fig. 1 - Syracuse Gulf (Ionian Sea). Location of the sampling stations.

Golfo di Siracusa (Mar Ionio). Posizione delle stazioni di campionamento.

Temperature (T), salinity (S), dissolved oxygen (DO) were measured by a multiparametric SeaBird 911plus CTD-O-FI probe; water transparency by a Secchi disc. Nitrogen (N) and Phosphorus (P) nutrients [ammonia (NH_4), nitrite (NO_2), nitrate (NO_3); inorganic phosphate (PO_4); total N and P (TN and TP), total dissolved (TDN and TDP) and dissolved organic N and P (DON and DOP)] were determined by spectrophotometry (Caruso *et al.*, 2022). Total Suspended Matter (TSM) via gravimetric analysis, Particulate Organic Carbon (POC) and Particulate Nitrogen (PN) via CHN autoanalyzer, Chlorophyll-a (Chl-a) as a proxy of phytoplankton biomass by fluorimetric analysis were estimated (Lazzara *et al.*, 1990). Phytoplankton abundance and taxonomic composition were studied by epifluorescence microscope analysis of Lugol-fixed samples; culturable heterotrophic bacterial abundance was assessed on Marine agar plates incubated for 7 days. Three microbial enzymes (leucine-aminopeptidase, LAP; beta-glucosidase, GLU; alkaline phosphatase, AP), acting on proteins, polysaccharides and organic phosphates, were estimated using fluorogenic substrates. Pearson correlations among all the variables were also computed.

Results - Mean T values recorded in the study area ranged from 18.13 ± 1.67 °C to 28.39 ± 0.72 °C, S from 35.81 ± 1.89 psu to 37.70 ± 0.60 psu (in spring and summer, respectively). DO varied from 5.61 ± 0.96 mg/l to 7.94 ± 0.60 mg/l from Sep-2018 to Aug-2019, respectively; water transparency from 2.67 ± 1.37 m to 4.23 ± 2.41 m during spring and summer 2019, respectively. POC was comprised between 632.17 ± 30.30 $\mu\text{gC/l}$ and 3362.61 ± 48.73 $\mu\text{gC/l}$ measured in Sep-2018 and May-2019, while in the same periods PN varied from 115.07 ± 5.87 $\mu\text{gN/l}$ to 635.99 ± 8.77 $\mu\text{gN/l}$; TSM ranged from 18.08 ± 5.96 mg/l to 80.83 ± 15.95 mg/l from Sep-2018 to Aug-2019. Chl-a peaked in spring, sustained by high nutrients (NO_3 : 9.56 ± 5.17 $\mu\text{mol/l}$; PO_4 : 3.11 ± 2.91 $\mu\text{mol/l}$). In September 2018 (Fig. 2a), low microbial activity levels were measured, with significant relationships between Chl-a and proteolytic (LAP, $r=0.95$, $P<0.01$) and glycolytic activities (GLU, $r=0.68$; $P<0.05$). LAP values (0.21 $\mu\text{mol/l/h}$) correlated also with TSM and POC ($r=0.70$, $P<0.05$ and 0.83 , $P<0.01$, respectively), suggesting that enzyme synthesis was stimulated by organic polymers. In May 2019 (Fig. 2b), an algal bloom occurred, with abundances of 10^7 cells/l at some stations, that caused a strong decrease in the water transparency (2.67 ± 1.37 m) and an increase in Chl-a (8.90 ± 9.97 $\mu\text{g/l}$). Dinoflagellates predominated, mostly with non-toxic species (data not shown); their growth was supported by high organic and inorganic P (2.43 and 0.26 $\mu\text{mol/l}$, respectively), inorganic N salts, TSM, POC and PN that increased significantly ($p<0.01$) compared to late summer. Conversely, TN, TDN and DON slightly decreased due to phytoplankton consumption. During this sampling, microbial enzyme activities 1-2 orders of magnitude higher than in Sep-2018 recycled actively organic matter into nutrients, sustaining phytoplankton growth. LAP was significantly related to TDN ($r=0.63$; $p<0.05$); total phytoplankton and dinoflagellates correlated to TSM, POC and PN ($r=0.94$, 0.96 , 0.97 ; $p<0.01$, respectively). In August 2019 (Fig. 2c), high AP activity (116 $\mu\text{mol/l/h}$) provided PO_4 that together with high temperature (28.39 °C) supported phytoplankton growth, so contributing to high TSM and POC (80.83 ± 15.95 mg/l; 1080.77 ± 176.83 $\mu\text{C/l}$ respectively). AP was correlated to TSM and POC ($r=0.76$, 0.63 ; $P<0.01$, 0.05 , respectively), providing a C source too. Phytoplankton organic carbon was a trophic source for bacteria, as shown by high LAP (5.12 $\mu\text{mol/l/h}$), reflecting mutualistic phytoplankton-bacteria relationships. C and P cycles were in synergy, AP correlating with LAP and GLU ($r=0.63$, 0.72 ; $p<0.05$, 0.01 , respectively).

Conclusions - In the Syracuse Gulf, microbial dynamics underwent seasonal changes. In May 2019, nutrient enrichment from river inputs (especially at station 3) caused phytoplankton bloom and water eutrophication. Examining phytoplankton and bacteria association at a cell-scale level is crucial for a deeper understanding of the ecosystem processes related to water biogeochemistry and nutrient cycling (Buchan *et al.*, 2014). While phytoplankton peaked in spring and declined in summer, bacterial abundances did not vary significantly over time, but microbial activities reached their highest levels during spring, suggesting in this season a metabolic coupling between phytoplankton and bacteria that were able to decompose the organic substrates released by phytoplankton. Conversely, in the other periods phytoplanktonic and bacterial patterns were uncoupled. The observed dynamics evidenced a functional plasticity of the microbial assemblage, depicting trends commonly observed in other aquatic ecosystems (Buchan *et al.*, 2014). Depending on the environmental conditions (bloom vs non-bloom), bacterial-phytoplankton interactions modulated differently microbial metabolism in terms of enzyme production, proving evidence of the microorganisms' ability to react quickly to changing trophic conditions.

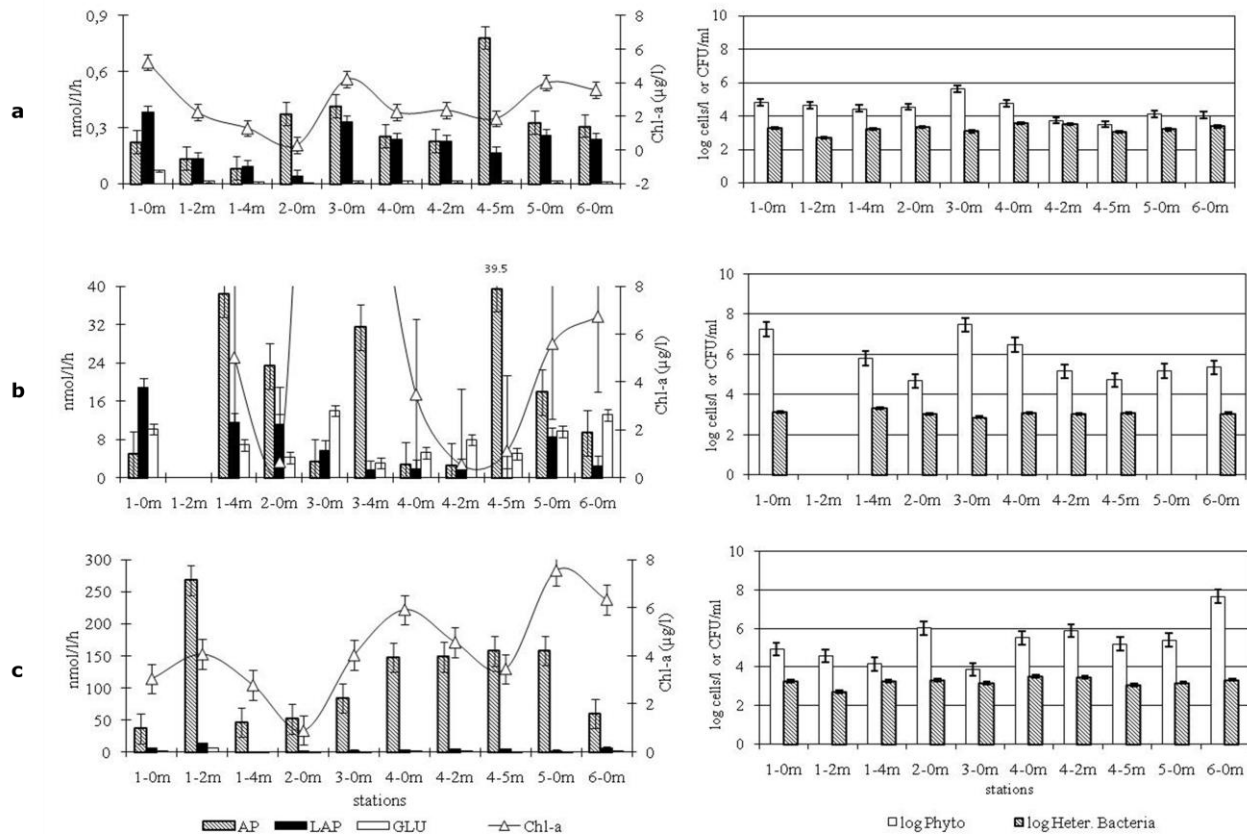


Fig. 2 - Microbial activity and abundance patterns measured in September 2018 (a), May 2019 (b) and August 2019 (c) in the Syracuse Gulf. On the left, enzyme activity rates (LAP, AP and GLU) and Chlorophyll-a concentration; on the right, phytoplankton and heterotrophic bacterial abundances. *Andamenti di attività ed abbondanza microbica misurati in settembre 2018 (a), maggio 2019 (b) ed agosto 2019 (c) nel Golfo di Siracusa. A sinistra, tassi di attività enzimatica (LAP, AP e GLU) e concentrazione di clorofilla a; a destra, abbondanza del fitoplancton e dei batteri eterotrofi.*

References

- BUCHAN A., LECLEIR G.R., GULVIK C.A., GONZÁLEZ J.M. (2014) - Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. *Nat. Rev. Microbiol.*, **12**: 686-698.
- CARUSO G., GIACOBBE M.G., AZZARO F., DECEMBRINI F., LEONARDI M., MISEROCCHI S., CAO X., SONG C., ZHOU Y. (2022) - All-in-one: microbial response to natural and anthropogenic forcings in a coastal Mediterranean ecosystem, the Syracuse Bay (Ionian Sea, Italy). *J. Mar. Sci. Eng.*, **10** (1): 19.
- LAZZARA L., BIANCHI F., FALCUCCI M., HULL V., MODIGH M., RIBERA D'ALCALÀ M. (1990) - Pigmenti clorofilliani. *Nova Thalassia*, **11**: 207-223.
- MAYALI X. (2018) - Editorial: metabolic interactions between bacteria and phytoplankton. *Front. Microbiol.*, **9**: 727.
- SONG C., CAO X., ZHOU Y., AZZARO M., MONTICELLI L.S., LEONARDI M., LA FERLA R., CARUSO G. (2018) - Different pathways of nitrogen and phosphorus regeneration mediated by extracellular enzymes in temperature lakes under various trophic state. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **25**: 31603-31615.
- SONG C., CAO X., ZHOU Y., AZZARO M., MONTICELLI L.S., MAIMONE G., AZZARO F., LA FERLA R., CARUSO G. (2019) - Nutrient regeneration mediated by extracellular enzymes in water column and interstitial water through a microcosm experiment. *Sci. Total Environ.*, **670**: 982-992.
- VILA M., GIACOBBE M.G., MASÓ 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** (4): 673-695.

Research funded by the Chinese Ministry of Science and Technology (MOST) within the National Key Research and Development Program of China (grant n. 2016YFE0202100).

R. MUSSAT SARTOR, M. BATTUELLO, L. CARACAUSI, L. FAVARO,
N. NURRA, D. PESSANI

Dipartimento di Scienze della vita e Biologia dei sistemi (DBIOS), Università di Torino, Italia.
daniela.pessani@unito.it

PRESENZA DELL'ITTIOPLANCTON IN MAR LIGURE ORIENTALE IN DIFFERENTI MESI E BATIMETRIE

PRESENCE OF ICHTHYOPLANKTON IN EASTERN LIGURIAN SEA IN DIFFERENT MONTHS AND BATHYMETRIES

Abstract - The ichthyoplankton composition was analysed from plankton samples collected in the Eastern Ligurian Sea in four different months (February, May, August, and November), at three bathymetric levels (0-5, -5-50, and -50-100 m). The larvae of 34 taxa (32 at specific level and 2 at generic one) were identified and their temporal and vertical distribution recorded and discussed. The fish larvae are present mainly in May/August and February/May, almost only in the bathymetric range 0-50 m. The obtained results are compared with the adult distribution and reproductive period. The lack of data available on ichthyoplankton in eastern Mediterranean, in spite of the relevance of larvae for the knowledge and conservation of fishery resources, underlines the importance of this study.

Key-words: fish larvae, specific identification, vertical samplings, qualitative data, *Cyclothone braueri*.

Introduzione - Tra gli indicatori (strumenti di valutazione e decisione) previsti dalla *Marine Strategy Framework Directive* (MSFD; <https://www.eea.europa.eu/policy-documents/2008-56-ec>) è stato inserito lo zooplancton: in particolare, la rilevante frazione costituita da uova e larve di Osteitti (ittioplancton) è strettamente connessa ai descrittori 1, 3 e 4 della stessa MSFD. Tuttavia, l'ittioplancton è un elemento della rete trofica spesso trascurato e poco noto, soprattutto per la difficoltà di identificazione delle sue componenti. In realtà la conoscenza della presenza quali-quantitativa delle larve di pesce, unita a quella della loro distribuzione spazio-temporale, può aiutare a migliorare le informazioni su problemi quali il reclutamento e le fluttuazioni degli stock ittici, fondamentali per valutare la gestione degli stessi, e la presenza di specie alloctone; queste conoscenze permettono anche di intercettare precocemente i potenziali fenomeni di *shifting habitat* legati al cambiamento climatico in atto. Si ritiene quindi di grande interesse analizzare la componente ittioplanctonica fino all'identificazione specifica che permette di collegare la presenza e la distribuzione della larva con l'ambiente di vita dell'adulto ed il suo periodo riproduttivo. Il settore sud-orientale del Mar Ligure prospiciente la Toscana, per morfologia, tipologia di substrato (fondi mobili), limitata batimetria, presenza di correnti meridionali costanti che si incanalano verso Nord, ricchezza di specie commerciali e non, può essere un'opportuna area di studio per lo zooplancton in generale e per la sua componente a larve di Osteitti, in particolare.

Materiali e metodi - Gli esemplari esaminati provengono da 36 campioni planctonici prelevati, ad est dell'Isola di Gorgona, in 3 punti lungo la batimetria dei 100 m (distante dalla linea di costa 12,5 miglia nautiche). I prelievi sono stati condotti in superficie (0-5 m) e lungo la colonna d'acqua (-5-50 m e -50-100 m) all'imbrunire-inizio notte, in maggio, agosto, novembre 2014 e febbraio 2015. I campioni sono stati raccolti con rete Bongo (\emptyset bocca: 60 cm, apertura di maglia: 300 μ m) (Battuello *et al.*, 2016 per i dettagli metodologici). Le larve di Osteitti sono state identificate a livello specifico in base a caratteristiche meristiche, morfologiche e, ove possibile, cromatiche principalmente

grazie al lavoro di Rodríguez *et al.* (2017) e, anche, a letteratura più datata e frammentaria.

Risultati - Sono stati analizzati i dati di presenza/assenza relativi alle larve dei 34 *taxa* identificati (32 specie e 2 generi) di Osteitti (Tab. 1).

Tab. 1 - Larve di specie di Osteitti presenti nei mesi ed alle profondità di campionamento; in grassetto le specie campionate in un solo mese/profondità.

Presence of the larvae of the Osteichthyes species at sampled months and depths; in bold the species sampled only in a month/depth.

Famiglia	Specie	Mesi				Profondità [m]		
		V	VIII	XI	II	0-5	5-50	50-100
Congridae	Gnathophis mystax (Delaroche, 1809)		+				+	
Clupeidae	<i>Sardina pilchardus</i> (Walbaum, 1792)			+	+	+	+	+
Engraulidae	<i>Engraulis encrasicolus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+		+	+	+
Gonostomatidae	<i>Cyclothone braueri</i> Jespersen & Tåning, 1926	+	+	+	+	+	+	+
Sternoptychidae	<i>Maurolicus muelleri</i> (Gmelin, 1789)	+			+	+	+	
Myctophidae	<i>Benthoosema glaciale</i> (Reinhardt, 1837)				+	+	+	+
	<i>Myctophum punctatum</i> Rafinesque, 1810		+	+	+	+	+	+
Gadidae	<i>Trisopterus luscus</i> (Linnaeus, 1758)	+			+	+		
	Trisopterus minutus (Linnaeus, 1758)				+		+	
Belonidae	Belone belone (Linnaeus, 1760)	+				+		
Scorpaenidae	<i>Scorpaena porcus</i> Linnaeus, 1758		+			+	+	
	Scorpaena scrofa Linnaeus, 1758	+				+		
Sebastidae	Helicolenus dactylopterus (Delaroche, 1809)	+				+		
Triglidae	Lepidotrigla cavillone (Lacepède, 1801)				+	+		
Serranidae	Anthias anthias (Linnaeus, 1758)		+				+	
	<i>Serranus hepatus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+			+	+	
	<i>Serranus scriba</i> (Linnaeus, 1758)		+			+	+	
Apogonidae	<i>Apogon imberbis</i> (Linnaeus, 1758)		+			+	+	
Carangidae	<i>Trachurus trachurus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+			+	+	
Sparidae	<i>Diplodus vulgaris</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817)	+				+	+	
	<i>Diplodus</i> sp.	+				+	+	
	Pagellus bogaraveo (Brünnich, 1768)	+					+	
	<i>Pagellus erythrinus</i> (Linnaeus, 1758)	+				+	+	
	Pagrus pagrus (Linnaeus, 1758)	+				+		
Mullidae	Mullus barbatus Linnaeus, 1758	+				+		
Mugilidae	<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758			+		+	+	
Labridae	<i>Coris julis</i> (Linnaeus, 1758)	+	+			+	+	
Uranoscopidae	Uranoscopus scaber Linnaeus, 1758	+					+	
Blennidae	<i>Parablennius sanguinolentus</i> (Pallas, 1814)	+	+			+		
Callionymidae	<i>Callionymus maculatus</i> Rafinesque, 1810	+				+	+	
	<i>Callionymus</i> sp.	+				+	+	
Bothidae	<i>Arnoglossus laterna</i> (Walbaum, 1792)	+	+		+	+	+	
	<i>Bothus podas</i> (Delaroche, 1809)	+	+			+	+	
Soleidae	Solea solea (Linnaeus, 1758)				+	+		
Totale taxa	34	22	15	5	10	29	25	5

Considerando solo le larve identificate a livello specifico e raccolte almeno in 2 campioni mensili o 2 batimetrie, si evidenzia che *C. braueri* è l'unica presente in tutte le situazioni esaminate. Come prevedibile, predominano le specie dei mesi primaverili ed estivi (maggio ed agosto), ma discrete sono anche le presenze invernali (febbraio). Interessante è il caso di *B. glaciale*, specie presente solo in febbraio ma alle tre batimetrie considerate. Le larve di *S. pilchardus*, raccolte a novembre e febbraio, confermano, secondo Sabatés *et al.* (2007), la strategia della specie per evitare la competizione con *E. encrasicolus* (assente in febbraio). Riguardo alla distribuzione batimetrica, *T. luscus* e *P. sanguinolentus* sono state campionate solo in superficie, mentre *S. pilchardus*, *E. encrasicolus*, *C. braueri*, *B. glaciale* e *M. punctatum* occupano tutta la colonna d'acqua (dalla superficie al fondo); nessuna specie è esclusiva della zona intermedia o profonda. Le larve di Osteitti sembrano quindi prediligere complessivamente la fascia batimetrica 0-50 m.

Conclusioni – L'area compresa tra l'Isola di Gorgona e la costa toscana si è rivelata interessante e proficua per lo studio dello zooplancton (Battuello *et al.*, 2016) ed appare ospitare una componente ittioplanctonica diversificata. Tutte le specie, delle quali sono state identificate le larve, sono segnalate da Relini e Lanteri (2010) nel settore biogeografico 1, a cui appartiene l'area in esame: considerando che le larve non identificate costituiscono l'1,4% di quelle campionate, non si può escludere che in questa pur piccola frazione siano incluse larve di specie estranee all'area. La presenza delle larve non può ovviamente essere disgiunta anche dalla distribuzione spaziale/batimetrica e dal periodo riproduttivo degli adulti, che vengono quindi riportati nella Tab. 2, ottenuta consultando vari autori, principalmente Relini *et al.* (1999), ed il sito <https://www.fishbase.se>.

Tab. 2 - Distribuzione spaziale e periodo riproduttivo (PR) delle specie sopra elencate.
Spatial distribution and reproductive period (PR) of the above listed species.

Demersali	PR	Costiere	PR	Pelagiche	PR
<i>Arnoglossus laterna</i>	III-XI	<i>Anthias anthias</i>	III-VI	<i>Belone belone</i>	II-V
<i>Bothus podas</i>	V-VIII	<i>Apogon imberbis</i>	VI-X	<i>Engraulis encrasicolus</i>	IV-XI
<i>Callionymus maculatus</i>	I-V	<i>Coris julis</i>	III-VIII	<i>Sardina pilchardus</i>	I-XII
<i>Gnathophis mystax</i>	IX-XII			<i>Trachurus trachurus</i>	I-XII
<i>Helicolenus dactylopterus</i>	X-II				
<i>Lepidotrigla cavillone</i>	III-IX	Bentopelagiche	PR		
<i>Mullus barbatus</i>	V-VII	<i>Diplodus vulgaris</i>	IX-XI	Mesopelagiche	PR
<i>Parablennius sanguinolentus</i>	V-VII	<i>Mugil cephalus</i>	(1)	<i>Bentosema glaciale</i>	V-VI
<i>Scorpaena porcus</i>	V-IX	<i>Pagellus bogaraveo</i>	VI-XI	<i>Myctophum punctatum</i>	I-XII?
<i>Scorpaena scrofa</i>	V-VIII	<i>Pagellus erythrinus</i>	IV-V		
<i>Serranus hepatus</i>	III-VIII	<i>Pagrus pagrus</i>	III-VI		
<i>Serranus scriba</i>	IV-VII	<i>Trisopterus luscus</i>	I-VIII	Batipelagiche	PR
<i>Solea solea</i>	XII-V	<i>Trisopterus minutus</i>	II-VI	<i>Cyclothone braueri</i>	VI-XI?
<i>Uranoscopus scaber</i>	IV-VIII			<i>Mauroliscus muelleri</i>	III-IX

(1) Differenti periodi dell'anno, a seconda delle zone/Different times of the year, depending on the area

La maggior parte delle specie è demersale; seguono in abbondanza le specie pelagiche (anche meso e batipelagiche) e bentopelagiche, mentre poco numerose sono quelle costiere, che presentano comunque larve nei campioni esaminati. A parte le specie che si riproducono tutto l'anno, la riproduzione delle specie qui considerate avviene principalmente nei mesi primaverili ed estivi. Confrontando i dati riportati nella Tab. 1

con quelli della Tab. 2 si notano alcune discrepanze tra i mesi di presenza delle larve e quelli nei quali sono segnalati gli adulti riproduttivi, specialmente a carico di *G. mystax*, *C. braueri*, *B. glaciale*, *L. cavillone* e *D. vulgaris*: va evidenziata però la quasi totale assenza di informazioni relative alla durata dello sviluppo larvale delle singole specie, informazione che potrebbe chiarire alcuni casi dubbi. Non va inoltre tralasciato il ruolo rilevante delle correnti meridionali che, attraversando l'area di campionamento, potrebbero portare esemplari larvali provenienti da situazioni ambientali (e riproduttive) diverse. Tuttavia, solo campionamenti condotti su tutto il periodo stagionale sono in grado di confermare o meno le presenze larvali indicate. Non sono a tutt'oggi noti dati relativi alle larve dei pesci dell'alto Tirreno/Mar Ligure: pertanto la validità dei risultati ottenuti può essere verificata tramite il confronto con lavori che si riferiscano ad aree del Mediterraneo occidentale ed a simili periodi e profondità di prelievo. López-Sanz *et al.* (2009), campionando in primavera ed estate alle Isole Medes (Area marina protetta) su batimetriche comprese tra 10 e 80 m, identificano a livello di specie o genere 58 *taxa*: di questi solo 11 specie sono presenti nell'ittioplancton qui esaminato. Gli autori attribuiscono all'"effetto riserva" la stabilità della popolazione adulta, per lo più costituita da specie costiere, e di conseguenza la ricchezza quali-quantitativa in larve. Inoltre, secondo Granata *et al.* (2011), l'ambiente costiero costituisce un habitat particolarmente adatto per i primi stadi dei pesci, formando una sorta di *nursery* anche per specie non necessariamente tipiche di quell'ambiente. Olivar e Sabatés (1997), esaminando la distribuzione batimetrica delle larve di Osteitti, sottolineano come questi planctonti non siano influenzati dalla migrazione verticale diurna e come occupino per la maggior parte la fascia batimetrica compresa tra 0 e -40 m; poche sono le forme larvali campionate a profondità maggiori. Anche in questo caso la lista faunistica enumera poche specie in comune con quelle qui indicate. Questo studio risulta quindi essere il primo relativo all'ittioplancton nell'area in esame ed in generale lungo le coste liguro-tirreniche. Ulteriori progetti sull'ittioplancton dell'area dovranno necessariamente prevedere più campionamenti durante l'anno e naturalmente l'analisi quantitativa: al momento si è fornito un primo *data set* di specie presenti con le loro larve, da ampliare ed incrementare in futuro.

Bibliografia

- BATTUELLO M., BRIZIO P., MUSSAT SARTOR R., NURRA N., PESSANI D., ABETE M.C., SQUADRONE S. (2016) - Zooplankton from a North Western Mediterranean area as a model of metal transfer in a marine environment. *Ecol. Indic.*, **66**: 440-451.
- GRANATA A., CUBETA A., MINUTOLI R., BERGAMASCO A., GUGLIELMO L. (2011) - Distribution and abundance of fish larvae in the northern Ionian Sea (Eastern Mediterranean). *Helgol. Mar. Res.*, **65**: 381-398.
- LÓPEZ-SANZ À., VERT N., ZABALA M., SABATÉS A. (2009) - Small-scale distribution of fish larvae around the Medes Islands marine protected area (NW Mediterranean). *J. Plankton Res.*, **31** (7): 763-775.
- OLIVAR M.P., SABATÉS A. (1997) - Vertical distribution of fish larvae in the north-west Mediterranean Sea in spring. *Mar. Biol.*, **129**: 289-300.
- RELINI G., LANTERI L. (2010) - Osteichthyes. In: Relini G. (ed), Checklist della flora e della fauna dei mari italiani. Parte II. *Biol. Mar. Mediterr.*, **17** (Suppl. 1): 649-674.
- RELINI G., BERTRAND J., ZAMBONI A. (EDS) (1999) - Sintesi delle conoscenze sulle risorse da pesca dei fondi del Mediterraneo centrale (Italia e Corsica). *Biol. Mar. Mediterr.*, **6** (Suppl. 1): 868 pp.
- RODRÍGUEZ J.M., ALEMANY F., GARCÍA A. (2017) - *A guide to the eggs and larvae of 100 common Western Mediterranean Sea bony fish species*. FAO, Rome: 256 pp.
- SABATÉS A., OLIVAR M.P., SALAT J., PALOMERA I., ALEMANY F. (2007) - Physical and biological processes controlling the distribution of fish larvae in the NW Mediterranean. *Prog. Oceanogr.*, **74** (2-3): 355-376.

A. PENNA¹, E. BALDRIGHI², P. PENNA², F. RICCI¹, F. MORO², C. FERRARIN³,
F. GRILLI², N. MARINCHEL¹, A. CAMPANELLI², M. BETTI², S. CAPELLACCI¹,
S. CASABIANCA¹, L. BOLOGNINI⁴, M. ROMEI⁵, M. MARINI², E. MANINI²

¹Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino (PU), Italy.

²IRBIM CNR, Ancona, Italy.

³ISMAR CNR, Venezia, Italy.

⁴Regione Marche, Ancona, Italy.

⁵ASET S.p.A., Fano (PU), Italy.

antonella.penna@uniurb.it

WATERCARE PROJECT: HOW TO IMPROVE BATHING AND COASTAL WATER MANAGEMENT FROM MICROBIAL CONTAMINATION

IL PROGETTO WATERCARE: COME MIGLIORARE LA GESTIONE DELLE ACQUE DI BALNEAZIONE E COSTIERE DALLA CONTAMINAZIONE MICROBICA

Abstract - The EU Interreg Italy-Croatia WATERCARE Project aims to improve the quality of microbial and environment, as well as the resource efficiency in the Adriatic bathing and coastal waters, managing the microbial contamination through innovative tools in wastewater management and treatment. In order to realize this goal, WATERCARE is developing an innovative water quality integrated system that included several technical and operative tools, applicable in five Adriatic coastal sites.

Key-words: Adriatic Sea, bathing waters, discharge, coastal water management, microbial contamination.

Introduction - In the Adriatic Sea, massive rainy events are causing floods of rivers and streams with relevant consequences on environment. The anomalous rainy episodes, as possible negative effect of climate change, induce flood and relevant consequences. During these events, the microbial contamination significantly affects the quality of bathing water with beach closure, negative impact on marine environment, on tourism and related activities of coastal towns, which base their economy on summer tourism. Under Italian law, bathing water management and monitoring is regulated by Governmental Decree no. 116/2008 and Eu Bathing Water Directive (BWD - 2006/7/EC). The BWD places a stronger emphasis on public health protection in bathing water through improved monitoring and management (EC, 2006). It sets restrictive water quality standard based on the concentration of fecal indicator bacteria (FIB), as intestinal enterococci and *Escherichia coli* in order to prevent health risk associated with bathing in marine waters. Bathing water classification is based on the prediction and assessment of health risk. Bathing water quality is determined at scheduled intervals after massive precipitation events. The results of bacterial analyses are available only after 48 h and, in that interval, bathing is still allowed. The urban wastewater treatment and the collecting systems in each municipality have to take into consideration wastewater requirements. However, the collecting system are not fully efficient, and rainfall sometimes exceeds the capacity of the fragile sewerage systems of towns. An important requirement of urban wastewater management is to reduce the contamination interval to a few hours through infrastructure that retains the most significant pollution loads and provide assessing the risk of bathing (Oliver *et al.*, 2014). The EU Interreg Italy-Croatia WATERCARE Project aimed to improve the environmental quality and resource efficiency in the Adriatic bathing and coastal waters, reducing the microbial contamination by using and developing an innovative water quality integrated system (WQIS). It was composed by a real time hydro-meteorological monitoring network and an *ad hoc* infrastructure for bathing water management in a pilot site, through a forecast operational model. The study was aimed to develop a real-time alert system able to preventively identify the

potential ecological risk from fecal contamination of bathing waters and to support of governance decision in bathing water management (Ferrarin *et al.*, 2021; Penna *et al.*, 2021).

Materials and methods - Fano (western Adriatic coast) was the pilot area for this project's realization of monitoring and prevention of water contamination. Fano is also the pilot site for the realization of a detention reservoir by ASET (Azienda Servizi sul Territorio) to reduce combined sewer overflow in the Arzilla River during intense rainfalls. Microbial and environmental parameters were carried out at Arzilla River mouth and seawater during the sampling surveys in the summer 2019-2020, in relation to raining overflow events and following a defined sampling grid of transects in forward-facing the coast (Fig. 1A). River water sampling was carried out by using an automatic water sampler ISCO Avalanche 6712 programmed with specific time scheduler. The sampling phase started after a specific event such as abundant rain or activation of the spillway. *Escherichia coli* and enterococci, indicators of fecal bacteria, were determined in seawater samples following Luna *et al.* (2019). Their abundance was reported as CFU 100 ml⁻¹ of water filtered. Chemical-physical parameters were carried by using a multiparametric CTD (Idronaut 316 model Ocean Seven Plus), and nutrients (N-NO₃, N-NO₂, N-NH₃, P-PO₄, TN, TP, Si-SiO₂) together with chlorophyll *a* were determined spectrophotometrically (Manini *et al.*, 2022). The WQIS (Water Quality Integrated System) is a computer system consisting of several interconnected and continuously interacting subsystems of manual and automated activities such as meteorological, freshwater, and seawater monitoring. The flow of information stored in the WQIS database is managed by a continuously running software that processes the data by means of a forecast operational model connected to an alert tool. These tools are the WQIS results and allow generation and delivery of FIB dispersion forecast maps, which were then used by decision makers (Penna *et al.*, 2021). After storage, data were analyzed and visualized using Grafana (Grafana Labs, 2020) open-source software. The time series and real-time data stored in the WQIS database were used as Forecast Operational Model (FOM) inputs and to activate the real-time Alert tool as described in Ferrarin *et al.* (2021). The numerical model of the coastal waters (FOM) was developed to simulate and forecast bacterial dispersion in bathing waters for Fano target site. Procedures (*i.e.*, scripts and interfaces) acquired manual monitoring data, such as chemical and microbiological data, and ancillary data (Ferrarin *et al.*, 2021). A centralized database (based on MySQL RDBMS), which contained the automatic and manual monitoring data collected from all WATERCARE sites was also developed (Fig. 1B). WQIS and FOM are designed to predict FIB dispersion after a heavy rainfall event and to produce forecast maps to be delivered to decisionmakers. The alert tool notifies an event to recipients/actors through a predetermined communication channel (*e.g.* email, SMS, or Telegram) which are Decision makers, Water managers, Scientific site managers, Monitoring managers, Sample managers, Laboratory analysts (see also Penna *et al.*, 2021).

Results - We analysed the spatial and temporal variability of faecal bacteria distribution, and the main environmental parameters positively correlated with faecal bacteria, in two sampling areas: Arzilla River and seawater. We considered different conditions of heavy precipitations into two bathing seasons (2019-2020). From the data analysed, we observed that *E. coli* and intestinal enterococci concentrations were always higher in the Arzilla River than those of seawater sites ($p < 0.001$). Generally, the values exceeded the allowed limit by Directive 2006/7/EC at the station near the mouth of the Arzilla River, where the river flows into the sea and at the SW50 stations. The faecal load

was below the limit established by law when it moved away from the river mouth to offshore along all three transects (Fig. 2A). A highly significant and positive correlation was found between the abundance trend of *E. coli* and intestinal enterococci in all sampling periods in the Arzilla River ($p < 0.01$) and in seawater ($p < 0.01$), and between rainfall and total abundance of *E. coli* and intestinal enterococci in Arzilla River ($p < 0.01$) in all events. The nutrient concentrations of the seawater samples collected immediately after the rainy events showed an evident and immediate dilution of ammonium and nitrate from the mouth to offshore along all the three transects associated with the hydrodynamics of the surface water mass, which was associated above all with wind direction and intensity. In particular, the highest concentration of nutrients was found at the Arzilla mouth in the range of 2.4 to 70 μM and 75 to 380 μM for ammonium and nitrate, respectively. The highest ammonium concentration was reached (70 μM) on 3 September 2019, while the highest nitrate concentration (380 μM) occurred on 6 August 2020 (Fig. 2B).

Conclusions - Riverine system played a significant role in the bacterial contamination of bathing waters during the rainfall event visible in the station near the mouth of the Arzilla River and near the shore of SW50. Wastewater discharge played also a significant role in the nutrient dispersion into bathing waters as evident in the same stations near the mouth of the river and in SW50. Moreover, winds and local hydrodynamic events had been considered playing a role in the dispersion phenomena along the coastal bathing waters. In conclusion, a new tool of WQIS was provided by this Project in order to prevent and manage recreational waters contaminated by microbial faecal loadings, to help local authorities making critical decisions with regard to coastal waters and beach access. It will support decision makers protecting the health of the general public and of bathers, and it will enable adaptation to EU Water Framework Directive (WFD) (EC, 2000) and Marine Strategy Framework Directive requirements (MSFD) (EC, 2008).

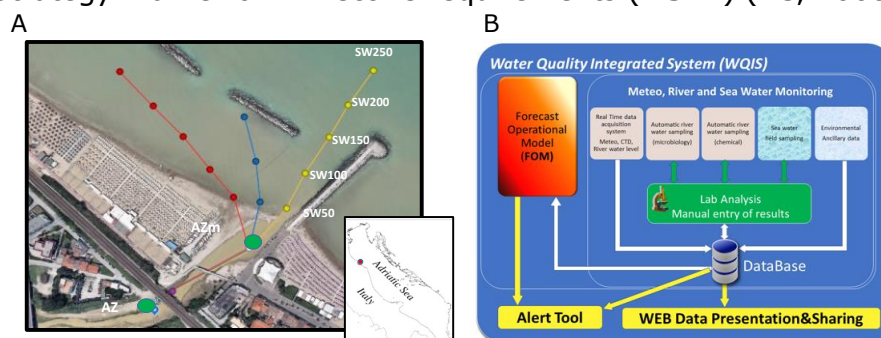


Fig. 1 - A) Study site and sampling strategy in Fano. Two sampling stations were positioned along the Arzilla River (green dots), AZ (located at the automatic water sampling for microbial and chemical analyses) and at Arzilla mouth (AZm). On the sea, sampling stations were distributed along three transects at different distances from the shore (representative yellow dots). Transect 1 near the coastline (red line); transect 2 in the middle (blue line); transect 3 in front of the river mouth (yellow line). B) Water Quality Integrated System data flow scheme. CTD: multiparameter probe measuring conductivity, temperature, depth, and other physical and chemical parameters (modified from Penna *et al.*, 2021).

A) Sito di studio e strategia di campionamento a Fano. Sono state posizionate due stazioni di campionamento lungo il fiume Arzilla (in verde), presso AZ (localizzata in prossimità del campionario automatico di acqua per analisi microbiche e chimiche) e presso AZm (localizzata alla foce del fiume Arzilla). In mare le stazioni di campionamento sono state distribuite lungo tre transetti a differente distanza dalla costa (punti gialli su una direttrice rappresentativa). Il transetto 1 localizzato vicino alla costa (linea rossa); il transetto 2 localizzato in mezzo (linea blu); il transetto 3 di fronte alla foce del fiume (linea gialla). B) Schema del flusso di dati del Water Quality Integrated System. CTD: sonda multiparametrica che misura conduttività, temperatura, profondità, e altre variabili chimico-fisiche (modificato da Penna *et al.*, 2021).

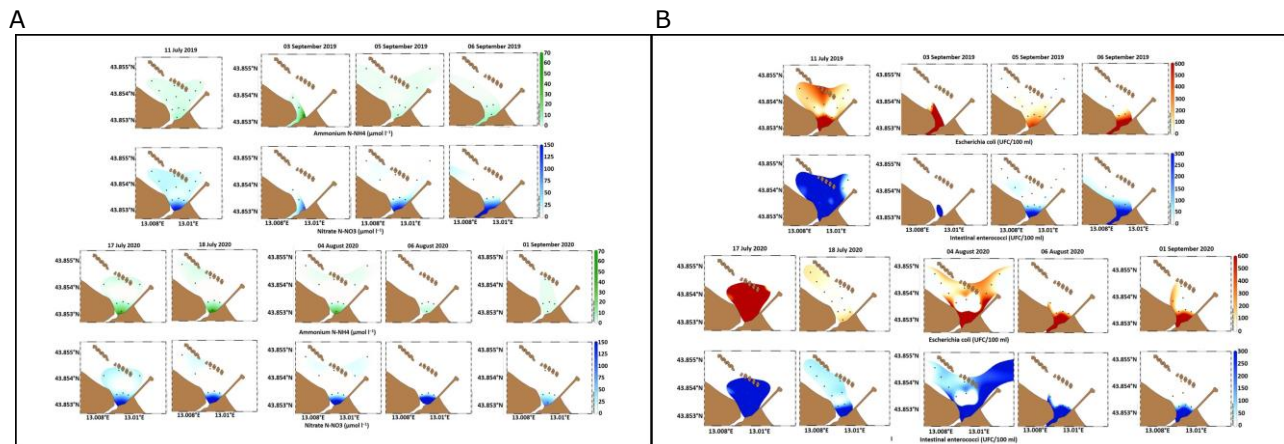


Fig. 2 – Ocean data view maps showing the spatial distribution of A) microbial faecal load and B) the spatial distribution of nutrient concentrations in seawater from sampling stations to off-shore along the three transects in front of Arzilla mouth during 2019 and 2020 rainy events. The graphs show the abundance in colony forming units (A) of *E. coli* (red) and enterococci (blue) as modified from Manini *et al.* (2022).

*Mappe di Ocean data view che mostrano la distribuzione spaziale A) del carico microbico fecale e B) della concentrazione dei nutrienti in mare dalle stazioni di campionamento lungo costa al largo lungo i tre transetti di fronte alla foce del fiume Arzilla, durante gli eventi di pioggia del 2019 e 2020. I grafici mostrano l'abbondanza in colonie formanti unità (A) di *E. coli* (rosso) e di enterococchi (blu) come modificato da Manini *et al.* (2022).*

References

- EC (2000) - Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, L. 327: 1-73.
- EC (2006) - Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. *Official Journal of the European Communities*, L. 64: 37-51.
- EC (2008) - Directive 2008/56/EC of the European Parliament and the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive). *Official Journal of the European Communities*, L. 164: 19-40.
- FERRARIN C., PENNA P., PENNA A., SPADA V., RICCI F., BILIĆ J., KRZELJ M., ORDULJ M., ŠIKORONJA M., ĐURAČIĆ I., IAGNEMMA L., BUČAN M., BALDRIGHI E., GRILLI F., MORO F., CASABIANCA S., BOLOGNINI L., MARINI M. (2021) - Modelling the quality of bathing waters in the Adriatic Sea. *Water*, **13** (11): 1525.
- GRAFANA LABS (2020) - The Analytics Platform for All Your Metrics. Accessed 14 March 2020. <https://grafana.com/grafana/>.
- LUNA G.M., MANINI E., TURK V., TINTA T., D'ERRICO G., BALDRIGHI E., BALJAK V., BUDA D., CABRINI M., CAMPANELLI A., CENOV A., DEL NEGRO P., DRAKULOVIĆ D., FABBRO C., GLAD M., GRILEC D., GRILLI F., JOKANOVIĆ S., JOZIĆ S., KAUZLARIĆ V., KRAUS R., MARINI M., MIKUŠ J., MILANDRI S., PEĆAREVIĆ M., PERINI L., QUERO G.M., ŠOLIĆ M., LUŠIĆ D.V., ZOFFOLI S. (2019) - Status of faecal pollution in ports: a basin-wide investigation in the Adriatic Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **147**: 219-228.
- MANINI E., BALDRIGHI E., RICCI F., GRILLI F., GIOVANNELLI D., INTOCCIA M., CASABIANCA S., CAPELLACCI S., MARINCHEL N., PENNA P., MORO F., CAMPANELLI A., CORDONE A., CORREGGIA M., BASTONI D., BOLOGNINI L., MARINI M., PENNA A. (2022) - Assessment of spatio-temporal variability of faecal pollution along coastal waters during and after rainfall events. *Water*, **14** (3): 502.
- OLIVER D.M., VAN NIEKERK M., KAY D., HEATHWAITE A.L., PORTER J., FLEMING L.E., KINZELMAN J.L., CONNOLLY E., CUMMINS A., McPHAIL C., RAHMAN A., THAIRS T., DE RODA HUSMAN A.M., HANLEY N.D., DUNHILL I., GLOBEVNIK L., HARWOOD V.J., HODGSON C.J., LEES D.N., NICHOLS G.L., NOCKER A., SCHETS C., QUILLIAM R.S. (2014) - Opportunities and limitations of molecular methods for quantifying microbial compliance parameters in EU bathing waters. *Environ. Int.*, **64**: 124-128.
- PENNA P., BALDRIGHI E., BETTI M., BOLOGNINI L., CAMPANELLI A., CAPELLACCI S., CASABIANCA S., FERRARIN C., GIULIANI G., GRILLI F., INTOCCIA M., MANINI E., MORO F., PENNA A., RICCI F., MARINI M. (2021) - Water quality integrated system: a strategic approach to improve bathing water management. *J. Environ. Manage.*, **295**: 113099.

V. FERRARI, R. SIMONINI, D. PREVEDELLI, S. RIGHI

Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia.
211869@studenti.unimore.it

**PRESENZA DI UN COMPOSTO INFIAMMATORIO
CORRELATO ALLA COMPLANINA NEL VERME DI FUOCO
HERMODICE CARUNCULATA (ANNELIDA)**

**PRESENCE OF AN INFLAMMATORY COMPOUND RELATED TO COMPLANINE
IN THE FIREWORM HERMODICE CARUNCULATA (ANNELIDA)**

Abstract - Despite several publications have dealt with natural products from specific marine invertebrate groups, such as nudibranchs, cnidarians and sponges, describing their structure and biological activity, some groups of organisms remain poorly studied, including marine annelids. Isolation and characterization of chemical substances from polychaetes have just started out. Furthermore, chemical and ecological investigations not always are brought forward together. In this study, the inflammatory compound complanine was detected in the fireworm *Hermodice carunculata* through spectrometric analyses. An analogue of this molecule was found both in the dorsal chaetae directly involved in defence against predators, in the digestive apparatus and in exposed palatable tissues. These findings support a synergy between the stinging and fragile notochaetae and complanine-related compounds, that needs to be injected through mechanical injury to display its effects.

Key-words: toxicity, chemical defence, Amphinomida, spectrometric techniques.

Introduzione - Gli anellidi marini costituiscono una componente funzionale dominante delle comunità macrobentoniche e presentano un'enorme varietà di stili di vita e adattamenti morfo-funzionali. Tuttavia, i composti chimici che ne caratterizzano le specie sono meno investigati rispetto ad altri invertebrati marini (Coutinho *et al.*, 2018). Ad oggi, infatti, sono pochi i metaboliti secondari identificati da questo gruppo di invertebrati. In particolare, sostanze chimiche sono state isolate principalmente nelle famiglie Terebellidae, Cirratulidae, Eunicidae, Glyceridae e Amphinomidae (Rodríguez *et al.*, 2014; Coutinho *et al.*, 2018; Calabro *et al.*, 2020). Gliceridi e anfinomidi sono decisamente quelli che attirano di più l'attenzione a causa della loro azione lesiva verso pescatori e bagnanti. Mentre sono state identificate le neurotossine rilasciate nel veleno dei gliceridi (von Reumont *et al.*, 2014), lo studio delle sostanze chimiche degli anfinomidi e del loro ruolo ecologico è tuttora in corso (Simonini *et al.*, 2021). Tra questi ultimi, *Hermodice carunculata* (Pallas, 1766), comunemente chiamato "verme di fuoco", possiede notopodi (parapodi dorsali) dotati di notochete (chete dorsali) aghiformi urticanti (Simonini *et al.*, 2021). Le notochete svolgono un'efficace funzione deterrente: esse vengono rizzate quando l'animale è disturbato e/o si sente minacciato, creando una barriera che si frappone tra il potenziale predatore e il suo corpo (Schulze *et al.*, 2017). Gli effetti delle punture sull'uomo (bruciore, eritema e parestesia nella zona di contatto), sugli anemoni di mare (ritrazione e paralisi dei tentacoli; Simonini *et al.*, 2021) e la perdita delle capacità deterrenti delle notochete dopo il trattamento con solventi organici (Simonini *et al.*, 2021), suggeriscono che *H. carunculata* sia in grado di innescare comportamenti di evitamento nei predatori e di danneggiare le sue prede grazie a metaboliti secondari contenuti nelle notochete. Finora, le uniche molecole estratte da altri anfinomidi sono le complanine, isolate da *Eurythoe complanata* (Pallas, 1766), una specie strettamente affine a *H. carunculata*. Tuttavia, in quali parti del corpo si localizzino queste sostanze e il loro ruolo ecologico non è noto (Nakamura *et al.*, 2008). Data l'attività infiammatoria di questa molecola, e vista la vicinanza filogenetica

tra *H. carunculata* ed *E. complanata*, è stato ipotizzato che composti analoghi alla complanina potessero essere responsabili delle capacità urticanti dei vermi di fuoco. In questo studio, molecole con caratteristiche coerenti con la complanina sono state ricercate in diverse parti del corpo di *H. carunculata*. Tecniche spettrometriche hanno permesso di confrontare estratti ottenuti dalle notochete, direttamente coinvolte nelle difese, con quelli di altri distretti corporei appetibili per eventuali consumatori (Simonini *et al.*, 2021).

Materiali e metodi - Esemplari di *H. carunculata* sono stati raccolti nei pressi di Porto Cesareo (LE), su fondali infralitorali caratterizzati da pareti sub-verticali rocciose e detritico costiere, con profondità compresa tra 0,5 e 18 m. Per il trasporto in laboratorio, gli animali sono stati posti in contenitori termici con acqua marina ossigenata da un aeratore a batteria. In laboratorio, gli esemplari raccolti sono stati mantenuti all'interno di un sistema di acquari a ricircolo in condizioni controllate (temperatura 24-25 °C; salinità 32-36; fotoperiodo: 16 h luce/8 h buio; volume totale: 600 L; Simonini *et al.*, 2018) e alimentati ogni due settimane con pesce decongelato (*Atherina boyeri* Risso, 1810). Tramite un'accurata dissezione degli animali preventivamente anestetizzati con una soluzione di MgCl₂ al 7% (Simonini *et al.*, 2021) sono stati ottenuti campioni di notochete, neurochete, tessuti esterni (branchie, parete del corpo dorsale) e interni (faringe, intestino). I campioni sono stati successivamente frullati separatamente, utilizzando un volume di acqua distillata equivalente al loro peso, fino ad ottenere una miscela omogenea. Gli omogenati sono stati liofilizzati per 48 ore per eliminare l'acqua contenuta al loro interno, pesati e sottoposti a tre successive estrazioni con acetone, mantenendo in agitazione le soluzioni con agitatore magnetico per almeno 2 ore. L'acetone è stato rimosso dai campioni mediante evaporazione a bassa pressione con un evaporatore rotante (Rotavapor Buchi R-210). Gli estratti secchi sono stati disciolti in acetonitrile, ottenendo soluzioni con diluizioni note. Infine, i campioni diluiti ottenuti da ciascun distretto corporeo di *H. carunculata* sono stati analizzati tramite cromatografia liquida con analizzatore di massa a trappola ionica quadrupolare (LCMSIT) in fase positiva [LC-MS(n) Ion Trap 6310A - Agilent Technologies]. La ricerca si è focalizzata su un composto con massa molecolare corrispondente alla complanina, 311,2693 Da, e formula bruta C₁₈H₃₅N₂O₂ (Nakamura *et al.*, 2008). Successivamente è stata svolta una seconda analisi su sistema LC-ESI/MS ad alta risoluzione Qexactive (UHPLC-HRMS QExactive - Thermo Fisher Scientific) dei campioni positivi per identificare le masse molecolari esatte dei singoli ioni componenti. Per la separazione cromatografica, i campioni iniettati nei sistemi LCMSIT e LCMSQE sono stati disciolti in due solventi di polarità opposta: acqua acidificata con lo 0,1% di acido formico e acetonitrile con 0,1% di acido formico (Simonini *et al.*, 2021). Il flusso dell'eluente all'interno della colonna cromatografica in fase inversa (3 µm, 5×0,21 cm, Teknochroma) è stato impostato a 300 µl/min.

Risultati - La presenza di un composto correlato alla complanina è stata evidenziata non solo nelle notochete, ma anche nelle neurochete e in tutti i tessuti di *H. carunculata* considerati. Per tutti i distretti corporei, i cromatogrammi ottenuti tramite LCMSIT in fase positiva mostravano un picco relativo ad uno ione con massa molecolare di 311,4 Da. Il range di variazione dei tempi di ritenzione è risultato inoltre particolarmente ridotto (6,9 min-7,6 min). Le ulteriori analisi su sistema LC-ESI/MS ad alta risoluzione Qexactive hanno permesso di identificare tale composto come analogo alla complanina per tutti i tessuti, in base alla massa esatta (311,2693 Da), alla formula bruta prevista

($C_{18}H_{35}N_2O_2$) e alla presenza di frammenti a $m/z=293,2578$ e $m/z=58,0659$, riconducibili rispettivamente alla perdita di una molecola d'acqua ($[m-H_2O]^+$) e del gruppo amminico terminale ($m-(N[CH_3]_3)^+$) della complanina in seguito a protonazione. Sebbene non sia stato possibile calcolare le concentrazioni assolute del composto nei vari distretti corporei vista l'impossibilità di reperire uno standard interno adeguato, il confronto delle aree sottese ai picchi dei cromatogrammi ottenuti in Single Ion Monitoring (Tab. 1) ha suggerito che la concentrazione relativa presente nell'intestino fosse molto maggiore rispetto a quella dei distretti più esposti all'ambiente (come branchie e parete del corpo dorsale). Questo trend è stato mantenuto anche dopo aver rapportato le aree sottese ai picchi al peso dei liofilizzati, per tenere conto del diverso peso iniziale dei vari distretti corporei. Rapportando invece le aree ai pesi degli estratti, le concentrazioni relative del composto analogo alla complanina risultavano dell'ordine di 10^6 per branchie e faringe, 10^7 per intestino, notochete e parete del corpo dorsale, 10^8 per neurochete (Tab. 1).

Tab. 1 - Aree sottese ai picchi dei cromatogrammi ottenuti in SIM (*mass range* impostato su 311,2693 Da): valori originali (Area picco) e normalizzati rispetto ai pesi del liofilizzato e dell'estratto ottenuti per i diversi distretti corporei.

Areas underlying the peaks of the chromatograms obtained in SIM (mass range set up at 311.2693 Da): original values (Peak area) and normalized values compared to the weights of the freeze-dried and the extract derived from the different body parts.

Distretti	Area picco	Area rapportata al peso	
		del liofilizzato	dell'estratto
Branchie	$2,2 \cdot 10^{08}$	$2,95 \cdot 10^{05}$	$4,58 \cdot 10^{06}$
Intestino	$1,9 \cdot 10^{11}$	$1,10 \cdot 10^{07}$	$5,05 \cdot 10^{07}$
Neurochete	$1,0 \cdot 10^{09}$	$2,60 \cdot 10^{05}$	$2,00 \cdot 10^{08}$
Notochete	$4,1 \cdot 10^{08}$	$6,98 \cdot 10^{04}$	$5,13 \cdot 10^{07}$
Parete del corpo dorsale	$1,5 \cdot 10^{09}$	$4,10 \cdot 10^{04}$	$1,61 \cdot 10^{07}$
Faringe	$1,5 \cdot 10^{09}$	$2,78 \cdot 10^{05}$	$6,47 \cdot 10^{06}$

Conclusioni - Un composto con caratteristiche chimiche (in termini di massa molecolare e formula bruta) analoghe alla complanina è stato identificato in tutti i distretti corporei. In base a conoscenze pregresse, che evidenziavano come le notochete rappresentino l'unica parte del corpo in grado di influenzare le risposte di potenziali predatori e prede al contatto con i vermi di fuoco, ci si attendeva che i composti analoghi alla complanina fossero particolarmente abbondanti a livello delle notochete piuttosto che negli altri distretti palatabili (Simonini *et al.*, 2021). I risultati ottenuti in questo studio delineano però uno scenario più complesso. La concentrazione relativamente elevata di questi composti nell'intestino, in termini di area sottesa al picco degli spettri di massa, potrebbe suggerire un ruolo importante di questo organo nel processo biosintetico di tali sostanze, che potrebbero essere sintetizzate principalmente in quella sede, a partire da materia organica ingerita, e in seguito distribuite nei vari tessuti. La presenza della molecola in distretti esposti all'ambiente, che sono consumati da prede e predatori generalisti, indica invece che non sia deterrente perché sgradevole. Tenendo conto che le neurochete e le notochete sono costituite principalmente da carbonato di calcio e chitina, esse contengono una quantità relativamente elevata di composti correlati alla complanina. Tali risultati sono coerenti con un'allocazione dei metaboliti secondari a scopo difensivo nelle parti del corpo maggiormente esposte a predazione. Le notochete rappresentano infatti la prima linea di difesa verso l'attacco al polichete

da parte di potenziali predatori. Durante le interazioni interspecifiche, questi animali contraggono la parete corporea, aprendo i ciuffi di chete e creando una barriera con funzione deterrente e difensiva che li rende scarsamente vulnerabili, permettendo così di proteggere gli organi importanti per la sopravvivenza dell'individuo ed evitare di essere gravemente danneggiati (Simonini *et al.*, 2018, 2021). Queste informazioni confermano ulteriormente che le notochete costituiscono un mezzo cruciale per l'efficacia dei composti velenosi. È probabile che l'azione difensiva e offensiva dei composti correlati alla complanina si esplichino solo quando è associata alle notochete, che agiscono come aghi appuntiti e fragili: la penetrazione meccanica nelle mucose di prede e predatori del verme di fuoco, con conseguente rottura delle loro estremità distali, permetterebbe di iniettare il composto tossico e di scatenare la risposta infiammatoria. Queste caratteristiche, insieme alla notevole capacità di adattamento, possono aver favorito il successo di *H. carunculata* nel colonizzare le zone costiere di mari temperati e tropicali (Schulze *et al.*, 2017). Ulteriori studi di spettroscopia di risonanza magnetica nucleare sono in corso per caratterizzare strutturalmente il composto identificato in *H. carunculata*. Inoltre, così come all'interno di *E. complanata* sono presenti una varietà di complanine, anche in *H. carunculata* potrebbe essere presente una miscela di analoghi molto più complessa di quella osservata ad una prima analisi, con un elevato potenziale di studio nell'ambito della bioprospezione.

Bibliografia

- CALABRO K., JENNINGS L.K., LASSERRE P., DOOHAN R., RODRIGUES D., REYES F., RAMOS C., THOMAS O.P. (2020) - Nebulosins: trisubstituted thiolane natural products from the northeastern Atlantic annelid *Eupolymnia nebulosa*. *J. Org. Chem.*, **85** (21): 14026-14041.
- COUTINHO M.C.L., TEIXEIRA V.L., SANTOS C.S.G. (2018) - A review of "Polychaeta" chemicals and their possible ecological role. *J. Chem. Ecol.*, **44** (1): 72-94.
- NAKAMURA K., TACHIKAWA Y., KITAMURA M., OHNO O., SUGANUMA M., UEMURA D. (2008) - Complanine, an inflammation-inducing substance isolated from the marine fireworm *Eurythoe complanata*. *Org. Biomol. Chem.*, **6** (12): 2058-2060.
- RODRÍGUEZ J., NIETO R.M., BLANCO M., VALERIO F.A., JIMÉNEZ C., CREWS P. (2014) - Thelepamide: an unprecedented ketide-amino acid from *Thelepus crispus*, a marine annelid worm. *Org. Lett.*, **16** (2): 464-467.
- SCHULZE A., GRIMES C.J., RUDEK T.E. (2017) - Tough, armed and omnivorous: *Hermodice carunculata* (Annelida: Amphinomididae) is prepared for ecological challenges. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **97** (5): 1075-1080.
- SIMONINI R., MAGGIONI F., ZANETTI F., FAI S., FORTI L., PREVEDELLI D., RIGHI S. (2021) - Synergy between mechanical injury and toxins triggers the urticating system of marine fireworms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **534**: 151487.
- SIMONINI R., MALETTI I., RIGHI S., FAI S., PREVEDELLI D. (2018) - Laboratory observations on predator-prey interactions between the bearded fireworm (*Hermodice carunculata*) and Mediterranean benthic invertebrates. *Mar. Freshw. Behav. Phy.*, **51** (3): 145-158.
- VON REUMONT B.M., CAMPBELL L.I., RICHTER S., HERING L., SYKES D., HETMANK J., JENNER R.A., BLEIDORN C. (2014) - A polychaete's powerful punch: venom gland transcriptomics of *Glycera* reveals a complex cocktail of toxin homologs. *Genome Biol. Evol.*, **6** (9): 2406-2423.

A. PROFETA¹, D. GIORDANO¹, A. PERDICHIZZI¹, E. ARMELI-MINICANTE¹, C. D'IGLIO²,
N. PORCINO¹, D. SALVATI¹, F. SORACI¹, P. RINELLI¹

¹Istituto per le Risorse Biologiche e le Biotecnologie Marine (CNR-IRBIM), Messina, Italia.

²Dip. di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali, Università di Messina, Italia.
paola.rinelli@cnr.it

MARINE LITTER NEL MAR TIRRENO CENTRALE E MERIDIONALE: MONITORAGGIO DEI DETRITI BENTONICI SUI FONDALI STRASCICABILI

MARINE LITTER IN THE CENTRAL AND SOUTHERN TYRRHENIAN SEA: MONITORING BENTHIC DEBRIS ON TRAWLABLE BOTTOMS

Abstract - Quantitative data on marine litter were collected during MEDITS surveys carried out in the Central and Southern Tyrrhenian Sea (FAO-GSA 10) from 2017 to 2019. A total of 210 hauls were sampled. All debris present in the catches were separated from fish catch, photographed, classified and weighted according to MEDITS (MEDiterranean International Trawl Survey) - Handbook of 2017. Of 210 hauls, only two were found without litter in the net, in 2019. Plastic was the most abundant category in all years, occurring in 94.76% of the hauls. Preliminary analysis of geographical distribution of litter in GSA 10 showed relatively even distribution of light plastic. A total of 1526 items were collected, in a depth range between 15 and 671 m, reaching a weight of 418,835 Kg. Our results highlight the importance of using experimental trawl surveys for the characterization, distribution and assessment of marine litter on the seafloor.

Key-words: marine litter, Mediterranean Sea, trawl surveys, plastic, seafloor.

Introduzione - I rifiuti marini sono definiti come qualsiasi materiale solido persistente, fabbricato o trasformato, smaltito o abbandonato nell'ambiente marino e costiero (Arcangeli *et al.*, 2018). Sono principalmente creati a seguito di attività di origine antropica e finiscono negli oceani a causa della loro cattiva gestione. I rifiuti possono essere trasportati attraverso fiumi, vento e acque reflue o possono essere gettati direttamente sulle spiagge e in mare. La maggior parte di questi oggetti di scarto si accumula sul fondale marino dove, soprattutto se composti di plastica, persistono per centinaia o addirittura migliaia di anni a seconda delle proprietà del polimero (Barnes *et al.*, 2009). Nel Mar Mediterraneo, l'inquinamento da plastica è stato oggetto di diversi studi scientifici che mirano a valutare l'impatto sulla superficie e sul fondo del mare (Galgani *et al.*, 2015). Negli ultimi anni i rifiuti marini sono diventati oggetto di interesse sia per i ricercatori che per i responsabili politici, a causa della necessità di ridurli in modo significativo. Tuttavia, a causa della mancanza di una valutazione sistematica e di diversi approcci metodologici, un confronto tra le diverse aree è difficile; in questo contesto, in Europa, la *Marine Strategy Framework Directive* (MSFD) ha invitato gli Stati membri ad adottare le misure necessarie per ridurre l'impatto delle attività sull'ambiente marino al fine di raggiungere o mantenere un buono stato ambientale. Poiché i *Bottom Trawl Surveys* si sono dimostrati tra i mezzi più adatti per la valutazione su larga scala e il monitoraggio dei detriti bentonici, nel 2017 il manuale delle campagne MEDITS (*MEDiterranean International Trawl Survey*) è stato modificato ed innovato proponendo un protocollo comune per la raccolta volontaria di dati sui rifiuti marini, in accordo con i requisiti del quadro direttivo sulla strategia marina (Fiorentino *et al.*, 2013). Il presente studio mira a valutare la tipologia, densità e distribuzione spaziale dei rifiuti marini raccolti durante tre *surveys* MEDITS condotti nel Mar Tirreno Centro-Meridionale (FAO-GSA 10) dal 2017 al 2019, cercando di individuare possibili fattori responsabili della loro presenza e, eventualmente, del loro accumulo.

Materiali e metodi - L'area di studio è compresa tra la foce del fiume Garigliano e San Vito Lo Capo. Lungo questo tratto di costa si trovano numerosi porti, cantieri navali, complessi industriali e grandi città come Napoli, Salerno, Messina e Palermo. Questa intensa presenza antropica determina un forte impatto sull'ecosistema marino e in effetti le acque mostrano caratteristiche idrografiche e biologiche che sono un chiaro riflesso di stress di origine antropica (Zingone *et al.*, 2010). L'intero tratto di costa è caratterizzato da una corrente costiera che va da ovest verso est. Le acque atlantiche, che entrano in Mediterraneo attraverso il Canale di Gibilterra, danno origine a due vortici anticiclonici nel Mare di Alboran e raggiungono la piattaforma algerina. Parte di questo flusso di corrente prosegue lungo le coste tunisine, mentre un'altra parte di esso raggiunge le coste settentrionali della Sicilia e prosegue verso nord costeggiando Calabria e Campania (Durrieu de Madron *et al.*, 2011). I dati relativi ai rifiuti sono stati raccolti in 210 cale, eseguite fra i 10 e gli 800 m di profondità, durante le campagne di pesca a strascico sperimentale MEDITS effettuate dall'Istituto per le Risorse Biologiche e le Biotecnologie Marine del CNR di Messina tra il 2017 e il 2019. Il protocollo di campionamento standardizzato (AA.VV., 2017) prevede la suddivisione dei rifiuti in 9 categorie create in base al tipo di materiale e 25 sub-categorie che aggiungono una informazione sulla sua sorgente. Tutti i detriti presenti nella cattura sono stati separati, fotografati, classificati, contati e pesati.

Risultati - Durante le tre campagne sperimentali sono stati raccolti un totale di 1526 pezzi di detrito di origine antropica, in un range batimetrico che va dai 15 ai 671 m, facendo registrare un peso totale di 418.835 kg. Tra le 210 cale effettuate solo 2 non presentavano rifiuti tra le catture. I valori di occorrenza delle frequenze hanno chiaramente dimostrato che la plastica (categoria L1) è il materiale di rifiuto più abbondante in assoluto in tutti e tre gli anni esaminati, essendo presente nel 94,76% delle cale (Fig. 1).

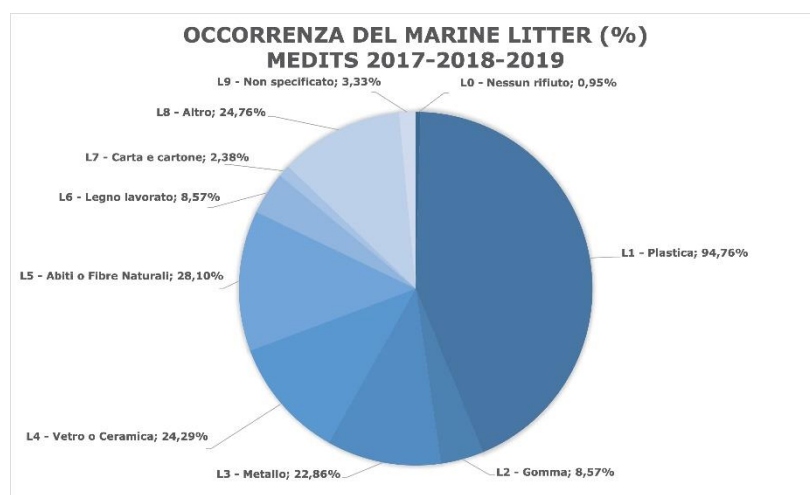


Fig. 1 - Percentuale di occorrenza delle diverse categorie di rifiuti marini calcolato sul totale delle cale effettuate nei tre anni esaminati (MEDITS 2017-2018-2019).

Percentage of occurrence by categories of marine litter calculated on all the hauls carried out in the three years examined (MEDITS 2017-2018-2019).

Le buste ($27,78 \text{ N/Km}^2 \pm 2,99 \text{ SD}$, 2017 - $13,33 \text{ N/Km}^2 \pm 1,74 \text{ SD}$, 2018 - $5,86 \text{ N/Km}^2 \pm 0,87 \text{ SD}$, 2019) e le bottiglie di plastica ($25,37 \text{ N/Km}^2 \pm 3,80 \text{ SD}$, 2017 - $14,18 \text{ N/Km}^2 \pm 2,34 \text{ SD}$, 2018 - $5,40 \text{ N/Km}^2 \pm 0,89 \text{ SD}$, 2019) sono state le sub categorie più

abbondanti raccolte. Una preliminare analisi geografica nella distribuzione dei rifiuti ha chiaramente mostrato una presenza, pressoché ubiquitaria, della plastica nell'intera area. Così come chiaramente evidenziato nelle *bubble maps* in Fig. 2, le abbondanze maggiori di rifiuti di plastica si ritrovano in prossimità dei porti e dei grandi centri abitati, entro i primi strati batimetrici.

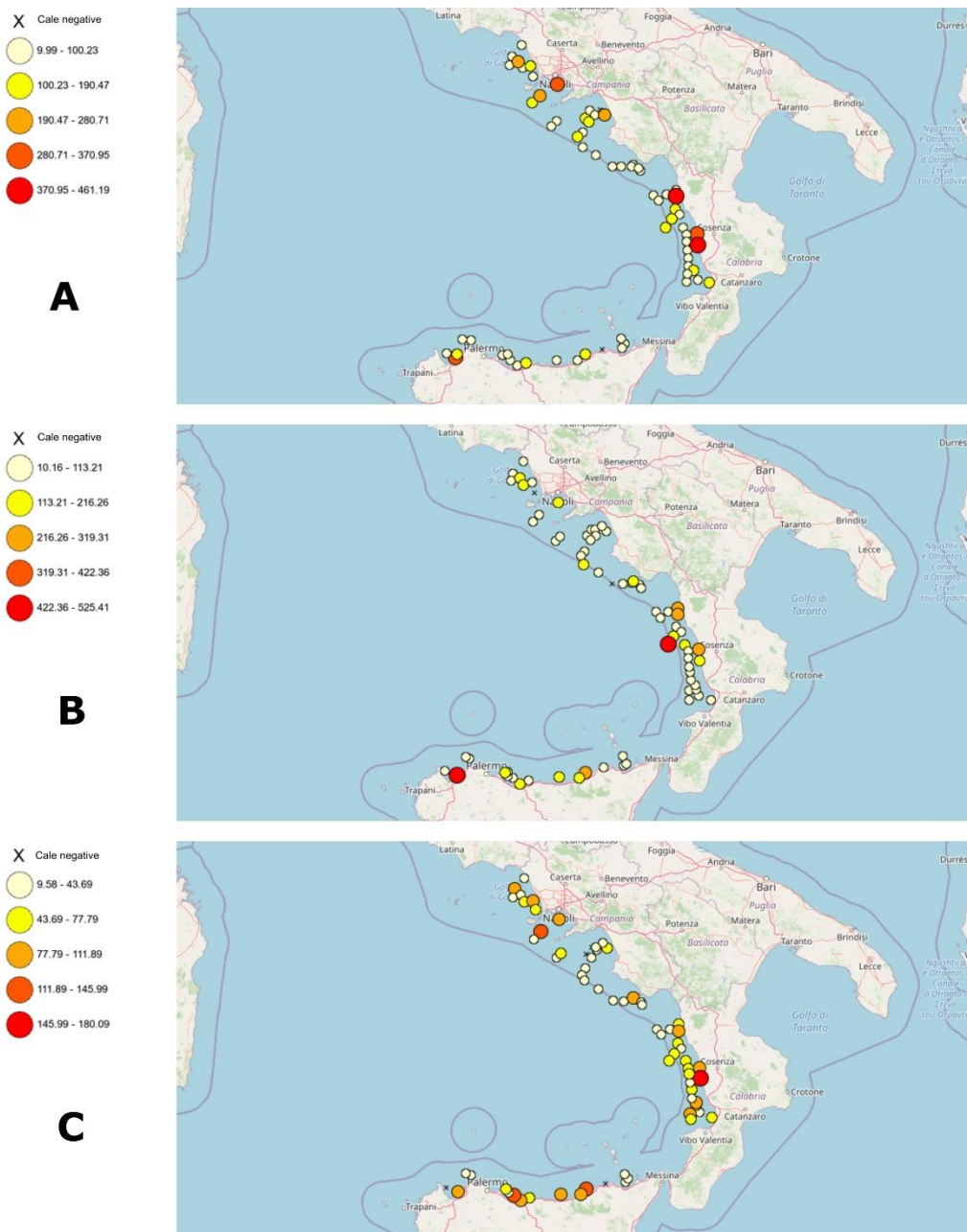


Fig. 2 - Mappa per bolle dell'Indice di Densità (N/km^2) degli oggetti di plastica per le campagne MEDITS 2017 (A) 2018 (B) e 2019 (C).

Bubble map of Density index (N/km^2) of plastic category items for MEDITS 2017 (A), 2018 (B) and 2019 (C).

Conclusioni - Il Mar Tirreno Centro-Meridionale è caratterizzato da una costa densamente abitata, dalla presenza di numerose foci di fiumi, golfi ampi al cui interno sono presenti grandi porti commerciali e turistici. Questo rende la GSA 10 un'area che risente moltissimo della pressione antropica. L'analisi dei dati relativi ai rifiuti registrati durante le campagne MEDITS ha evidenziato come la rete a strascico sia un ottimo

campionatore per i rifiuti antropici, che vengono, infatti, rinvenuti nella quasi totalità delle cale. In particolare, si evince come la maggior parte di questi rifiuti risulta concentrata nelle zone costiere prospicienti i grandi centri abitati o caratterizzate da un intenso traffico navale. Da una analisi preliminare dei dati ottenuti si rafforza la teoria riportata da alcuni autori (Liubartseva *et al.*, 2018) che la densità antropica è il fattore che maggiormente influisce sulla distribuzione spaziale dei rifiuti e sulla costituzione di *hot spot* in particolare se ci si riferisce a quelli di origine plastica. Questo lavoro si aggiunge alla letteratura a sostegno dell'utilizzo dei *trawl survey* sperimentali quali importanti strumenti per il monitoraggio, nel medio e lungo termine, del *marine litter* presente sui fondali marini del Mediterraneo.

Bibliografia

- AA.VV. (2017) - MEDITS-Handbook. Version n. 9. MEDITS Working Group: 106 pp.
- ARCANGELI A., CAMPANA I., ANGELETTI D., ATZORI F., AZZOLIN M., CAROSSO L., DI MICCOLI V., GIACOLETTI A., GREGORIETTI M., LUPERINI C., PARABOSCHI M., PELLEGRINO G., RAMAZIO M., SARÀ G., CROSTI R. (2018) - Amount, composition, and spatial distribution of floating macro litter along fixed trans-border transects in the Mediterranean basin. *Mar. Pollut. Bull.*, **129** (2): 545-554.
- BARNES D.K.A., GALGANI F., THOMPSON R.C., BARLAZ M. (2009) - Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **364** (1526): 1985-1998.
- DURRIEU DE MADRON X., GUIEU C., SEMPÉRÉ R., CONAN P., COSSA D., D'ORTENZIO F., ESTOURNEL C., GAZEAU F., RABOUILLE C., STEMMANN L., BONNET S., DIAZ F., KOUUBI P., RADAKOVITCH O., BABIN M., BAKLOUTI M., BANCON-MONTIGNY C., BELVISO S., BENSOUSSAN N., BONSANG B., BOULOUBASSI I., BRUNET C., CADIOU J.-F., CARLOTTI F., CHAMI M., CHARMASSON S., CHARRIÈRE B., DACHS J., DOXARAN D., DUTAY J.-C., ELBAZ-POULICHET F., ELÉAUME M., EYROLLES F., FERNANDEZ C., FOWLER S., FRANCOUR P., GAERTNER J.C., GALZIN R., GASPARINI S., GHIGLIONE J.-F., GONZALEZ J.-L., GOYET C., GUIDI L., GUIZIEN K., HEIMBÜRGER L.-E., JACQUET S.H.M., JEFFREY W.H., JOUX F., LE HIR P., LEBLANC K., LEFÈVRE D., LEJEUSNE C., LEMÉ R., LOÏE-PILOT M.-D., MALLET M., MÉJANELLE L., MÉLIN F., MELLON C., MÉRIGOT B., MERLE P.-L., MIGON C., MILLER W.L., MORTIER L., MOSTAJIR B., MOUSSEAU L., MOUTIN T., PARA J., PÉREZ T., PETRENKO A., POGGIALE J.-C., PRIEUR L., PUJO-PAY M., PULIDO-VILLENA E., RAIMBAULT P., REES A.P., RIDAME C., RONTANI J.-F., RUIZ PINO D., SICRE M.A., TAILLANDIER V., TAMBURINI C., TANAKA T., TAUPIER-LETAGE I., TEDETTI M., TESTOR P., THÉBAULT H., THOUVENIN B., TOURATIER F., TRONCZYNSKI J., ULSES C., VAN WAMBEKE F., VANTREPOTTE V., VAZ S., VERNEY R. (2011) - Marine ecosystems' responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean. *Prog. Oceanogr.*, **91** (2): 97-166.
- FIorentino F., LEFKADITOU E., JADAUD A., CARBONARA P., LEMBO G., GALGANI F. (2013) - Protocol for litter data collection during the MEDITS trawl surveys. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.*, **40**: 305.
- GALGANI F., HANKE G., MAES T. (2015) - Global distribution, composition and abundance of marine litter. In: Bergmann M., Gutow L., Klages M. (eds), *Marine anthropogenic litter*. Springer, Cham: 29-56.
- LIUBARTSEVA S., COPPINI G., LECCI R., CLEMENTI E. (2018) - Tracking plastics in the Mediterranean: 2D Lagrangian model. *Mar. Pollut. Bull.*, **129** (1): 151-162.
- ZINGONE A., PHILIPS E.J., HARRISON P.J. (2010) - Multiscale variability of twenty-two coastal phytoplankton time series: a global scale comparison. *Estuar. Coast.*, **33**: 224-229.

Questo lavoro è stato svolto utilizzando i dati provenienti dal *Data Collection Regulation Framework*, finanziato dalla Commissione Europea DG-MARE e il Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali.

J. ALESSI¹, A. DI GANGI², A. MANDICH¹, A. VANACORE¹, M. PASSONI³, G. VISCONTI²

¹MeRiS - Mediterraneo Ricerca e Sviluppo (a.p.s.), Favara (AG), Italy.

²Marine Protected Area of Pelagie Islands, Lampedusa (AG), Italy.

³Friend of the Sea, Milan, Italy.

alessijessica@gmail.com

THE INVOLVEMENT OF ARTISANAL FISHERMEN IN CETACEAN MONITORING IN THE MARINE PROTECTED AREA OF THE PELAGIE ISLANDS

IL COINVOLGIMENTO DEI PESCATORI ARTIGIANALI PER IL MONITORAGGIO DEI CETACEI NELL'AREA MARINA PROTETTA DELLE ISOLE PELAGIE

Abstract - Marine protected areas aim to protect vulnerable species and habitats through a sustainable management of the environment and to develop local community resilience. In 2019, 15 local artisanal fishermen were trained on cetacean monitoring using a protocol for sustainable whale watching. In 2020, a cetacean monitoring campaign was led through the support of the 10 fishermen who had passed the training course. A total of 39 surveys were realized, during which 1153 km were traveled and 42 sightings were made: 35 of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and 7 of common dolphin (*Delphinus delphis*) were recorded. The main concentration of dolphin sightings is in the southeastern portion of Lampedusa Island from the shoreline to the waters at 50 m depth. The strengthening in co-management between MPA and fishermen and their direct involvement in activities led to a good quality and high resolution monitoring in an extended area.

Key-words: *Tursiops truncatus*, *Delphinus delphis*, Marine Protected Area, monitoring, fishermen.

Introduction - Marine Protected Areas (MPAs) play a crucial role in monitoring and preserving marine biodiversity at the local level and in supporting the community towards a sustainable adaptive economy. They develop local monitoring plans for vulnerable habitats and species to protect the marine environment and its biodiversity. Despite this, MPAs often do not have sufficient capacity to carry out all monitoring activities, especially for large and dynamic species that require very high costs and time-consuming monitoring. Thus, the involvement of stakeholders through specific engagement or awareness projects could be a valuable method to collect data on marine biodiversity, overall on vulnerable and charismatic species as dolphins and whales. During last decade, citizen science projects have been widely used as a beneficial approach to increase the monitoring effort, allowing the collection of data on a large space-time scale. Involving citizens increases the level of public awareness of ecological issues (Goffredo *et al.*, 2010); however, to make sure that the scientific community accepts and utilizes the data collected by citizen scientists, it is necessary to ensure the quality and validity of these initiatives through the compliance of a rigorous scientific methodology (Boudreau and Yan, 2004; Alessi *et al.*, 2019). In 2019, a pilot project was developed in the MPA of the Pelagie Islands to train artisanal fishermen to recognize and monitor cetaceans and other marine species and to evaluate the possibility of involving the trained fishermen in the monitoring of cetaceans. The relationship between fishermen and dolphins has always been conflicting. Fishing can impact the conservation of cetaceans by causing specimens' accidental or voluntary mortality or the exhaustion of food resources available for cetaceans. But then cetaceans can affect fishing activities, damaging gear, reducing the quantity and value of the catch, as well as the size and quality of the catch, thus causing loss of time, money or equipment on the part of fishermen. For these reasons, an ecological competition, real or perceived,

may rise between fishermen and cetaceans. This project demonstrates the feasibility of monitoring cetaceans through the fishermen's involvement. Furthermore, it intends to provide a cetacean monitoring tool useful to respond to descriptor 1 of the Marine Strategy Framework Directive(2008/56/EC).

Materials and methods - Artisanal fishermen have been trained to monitor cetaceans in the Pelagie islands waters by attending a course in Lampedusa Island. The MPA offered and coordinated the course with the support of *Friend of the Sea* and of MeRiS, an NGO of cetacean research and protection (www.merisresearch.com), which took care of the methodological aspects of the monitoring activities and data analysis. The international organization *Friend of the Sea* (<https://friendofthesea.org>) released the certification on "Sustainable Dolphin and Whale Watching". The training course lasted 20 hours over five days; classes were structured into three theoretical modules and three practical activities, including field activities. The theoretical activity was aimed at: (i) the recognition of the different species of Mediterranean cetaceans and basic notions of cetacean biology, (ii) the rules of conduct of the boat during the sighting, and (iii) the protocol for scientific data collection. Moreover, identification cards (Fig. 1) for cetacean species of the Mediterranean Sea were distributed to aid scientific data collection and to facilitate and maintain the skills acquired during the course. The notions acquired were verified through field activities.

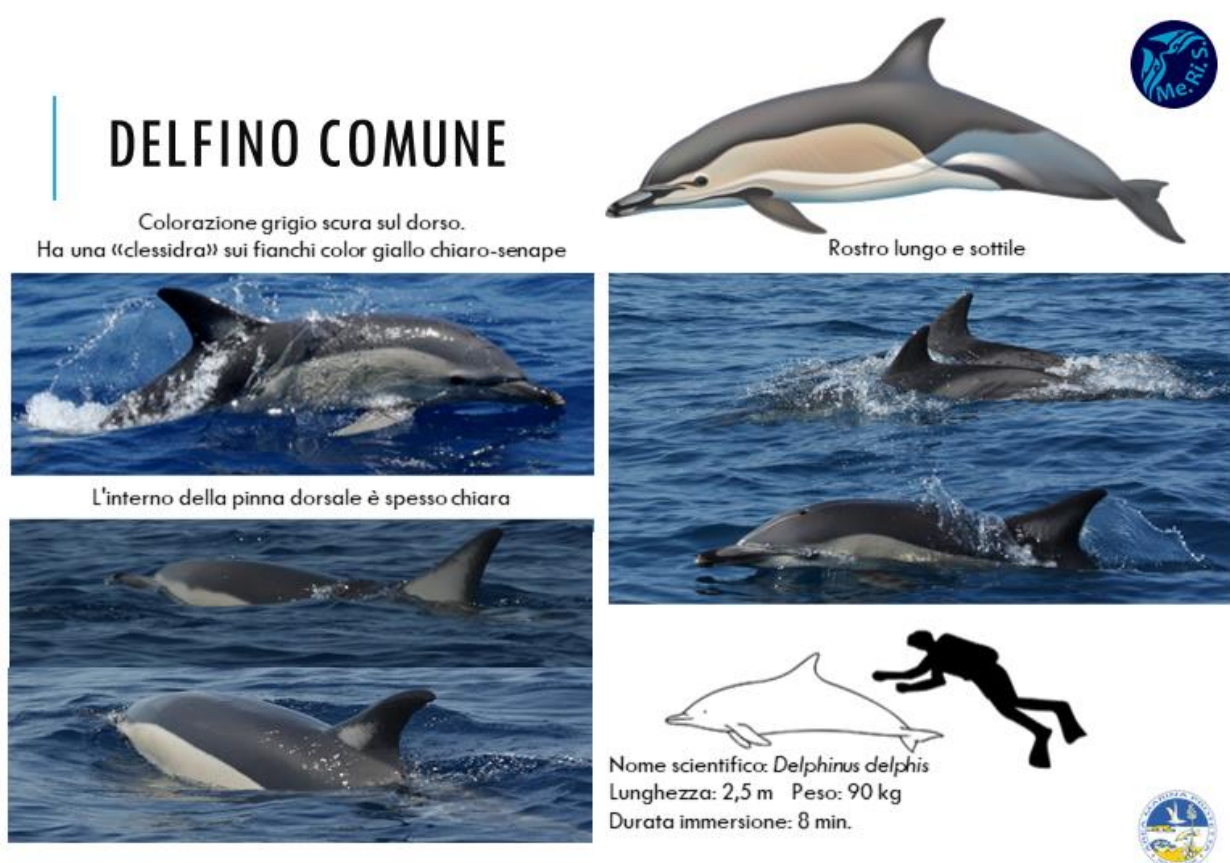


Fig. 1 - Example of species identification card.

Esempio di scheda per l'identificazione della specie.

Fishermen were tested on the eco-sustainable conduct of the boat and on their ability to spot cetaceans visually, recognize the species and collect scientific data, to obtain the certificate. Those who passed the training course were certified as a "Sustainable

dolphins and whale watching” company. The equipment used by the fishermen to collect data at sea consisted of portable GPS, marine binoculars and a specific logbook for the monitoring campaign. The GPS was active during the entire survey, in order to record the track taken. The following data were collected: the starting and ending date and time of each daily monitoring; the time and geographical location of sighted cetaceans; the size of the pod and the species sighted. The data collected and the GPSs were delivered to the managing body of the MPA of Pelagie Islands after the survey season to allow the data analysis. Geographical data were managed through QGIS 3.2 (QGIS.org, 2021) in order to map tracks and cetaceans sighted.

Results - Two training courses have been organized, for 2019 and 2020. Fifteen artisanal fishermen attended the courses, ten of whom passed it positively and obtained the certificate of “Sustainable dolphin and whale watching” company. The certified fishermen have been engaged and involved in the monitoring of cetaceans in the MPA of Pelagie Islands. The cetaceans monitoring campaign was planned and conducted from June to October 2020 and was approved in MPA’s planning resources by the Minister to implement measures of the SACs ITA040014. The monitoring effort resulted in 39 surveys, during which 1153 km were traveled, and 42 sightings were recorded (Fig. 2). Out of the 42 recorded sightings, 35 were of the common bottlenose dolphin [*Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)], and 7 of the endangered common dolphin (*Delphinus delphis* Linnaeus, 1758). Dolphins sightings (Fig. 2) were mostly concentrated in the southeastern part of Lampedusa island, the archipelago’s main island, from the shoreline to the waters 50 m depth, outside the MPA boundaries.

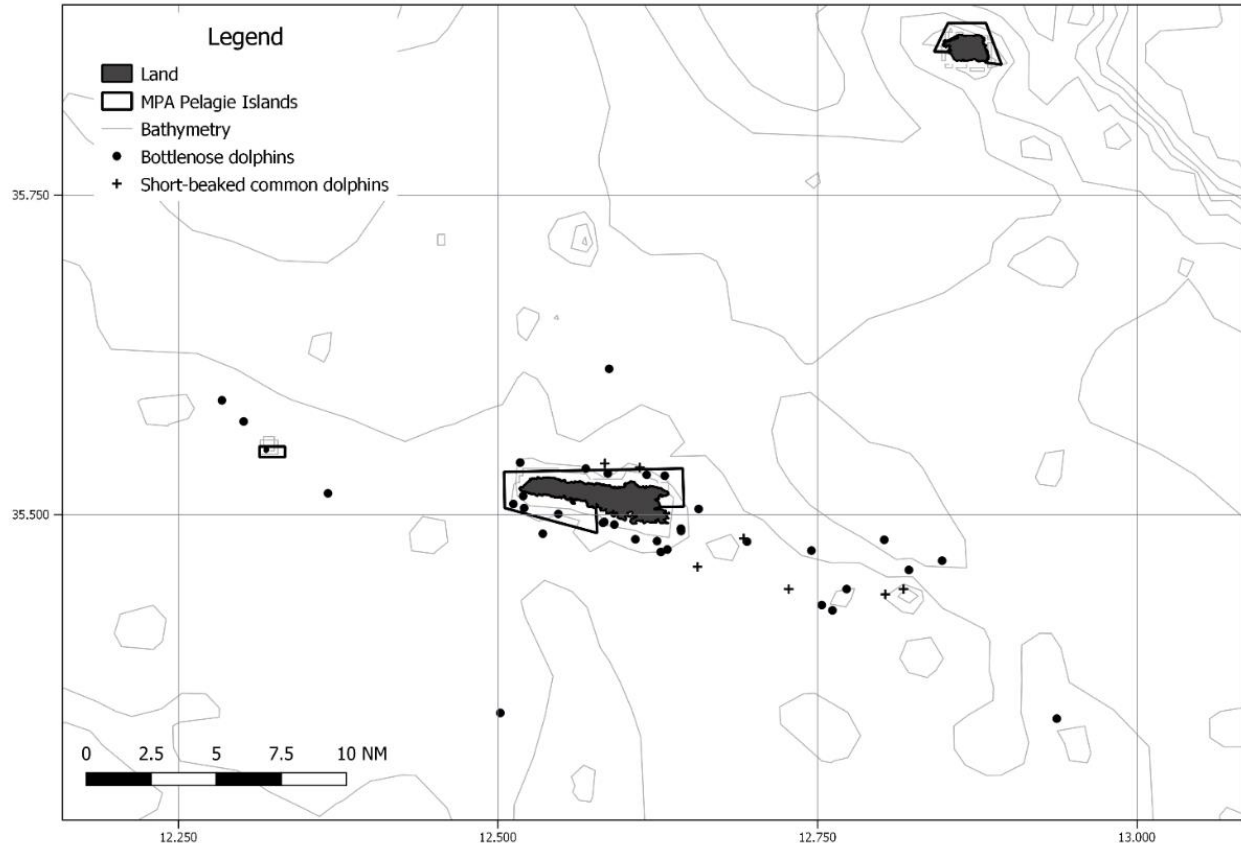


Fig. 2 - Distribution of the sightings of bottlenose dolphins (points) and short-beaked common dolphin (crosses).
Distribuzione degli avvistamenti di tursiope (punti) e di delfino comune (croci).

Conclusions - The pilot project conducted in the Pelagie Islands MPA, showed that involving and engaging local fishermen in monitoring dolphins is an efficient methodology to improve knowledge of vulnerable species and to reinforce a co-management of MPA. It allowed the enhancement of the management plan for marine species and habitats through the participation of the local community. The ten local artisanal fishermen, that passed the training course and have been engaged in the project, collected an amount of data that allowed preliminary knowledge about dolphin distribution along the island. It reveals that the actual MPA zonation is potentially inadequate to protect the area where the sightings of bottlenose dolphins are mainly concentrated; fortunately, these waters are inside the Special Protection Zone (ITA040013), extended to 12 miles around the islands. The support of citizens, fishermen particularly, is a valuable method for strengthening marine mammal monitoring in the MPA. Thus it could help the management authorities to respond to environmental policies such as the Marine Strategy Framework Directive. However, this methodology is adequate to collect only basic data; therefore, it cannot replace but can support the monitoring by scientists to analyze and validate data set. Furthermore, the project is easily transferable to others MPAs and vulnerable marine organisms. In conclusion, reinforcement of co-management between MPA and stakeholders as artisanal fishermen is recommended as the best practice to achieve sustainable adaptive management of the marine ecosystem in front of biodiversity strategy conservation.

References

- ALESSI J., BRUCCOLERI F., CAFARO V. (2019) - How citizens can encourage scientific research: the case study of bottlenose dolphins monitoring. *Ocean Coast. Manage.*, **167**: 9-19.
- BOUDREAU S.A., YAN N.D. (2004) - Auditing the accuracy of a volunteer-based surveillance program for an aquatic invader *Bythotrephes*. *Environ. Monit. Assess.*, **91** (1-3): 17-26.
- GOFFREDO S., PENSA F., NERI P., ORLANDI A., SCOLA GAGLIARDI M., VELARDI A., PICCINETTI C., ZACCANTI F. (2010) - Unite research with what citizens do for fun: "recreational monitoring" of marine biodiversity. *Ecol. Appl.*, **20** (8): 2170-2187.

G. GNONE^{1,2}, M. BELLINGERI², F. BOCCHI³, S. MARTINETTO³,
A. VERGA⁴, P. VASSALLO³

¹Acquario di Genova, Italia.

²Fondazione Acquario di Genova, Italia.

³DISTAV, Università di Genova, Italia.

⁴Golfo Paradiso WhaleWatching, Camogli (GE), Italia.

ggnone@costaedutainment.it

DISTRIBUZIONE DI ZIFIO E CAPODOGLIO NELLE ACQUE DEL PELAGOS GENOVESE

DISTRIBUTION OF CUVIER'S BEAKED WHALE AND SPERM WHALE IN THE PELAGOS WATERS OFF GENOA

Abstract - The sperm whale (*Physeter microcephalus*) and the Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) are deep diving odontocetes, feeding mostly on cephalopods. They both inhabit the waters of the Pelagos Sanctuary (NW Mediterranean Sea). We analysed the distribution of these two deep divers in relation with the submarine canyons furrowing the continental slope in front of Genoa. The results show that the Cuvier's beaked whale was more often sighted over the canyon midline, while the sperm whale seems to prefer the marginal portion of the canyons. This subdivision of the water space could be the results of a feeding specialisation or a direct competition between the two species.

Key-words: cetology, ecology, *Ziphius cavirostris*, *Physeter macrocephalus*, Ligurian Sea.

Introduzione - Il capodoglio (*Physeter macrocephalus* Linnaeus, 1758) e lo zifio (*Ziphius cavirostris* G. Cuvier, 1823) sono due odontoceti teutofagi, specializzati nella cattura di cefalopodi a grandi profondità; entrambe le specie risultano regolarmente presenti nelle acque del Santuario Pelagos (Notarbartolo di Sciara *et al.*, 2008). Il presente studio esamina la distribuzione di capodoglio e zifio nel Pelagos genovese, un'area che include, nella porzione centrale, due profondi canyon sottomarini, che solcano la scarpata continentale in continuità con i torrenti Bisagno e Polcevera.

Materiali e metodi - La raccolta dei dati è stata effettuata tra il 2007 e il 2021 a bordo dei battelli del Consorzio Liguria Via Mare e della società Whalewatch Genova - Golfo Paradiso, che effettuano attività di whalewatching nelle acque del Pelagos genovese. Nel corso dei rilevamenti sono stati raccolti i dati relativi allo sforzo di campionamento (il tracciato percorso dalle imbarcazioni durante l'attività di ricerca) e i dati di incontro con le due specie target. In fase di analisi l'area di studio è stata suddivisa in celle di 2×2 km di lato e per ogni cella è stato calcolato l'indice di incontro (*Encounter Rate*, ER=avvistamenti/km). È stato inoltre calcolato lo ER (*Encounter Rate*) annuale dello zifio, alla ricerca di eventuali trend temporali (i dati per il capodoglio sono stati ritenuti insufficienti per questo tipo di analisi).

Risultati - Lo sforzo di campionamento analizzato risulta disomogeneo all'interno del periodo di studio. Nel primo quinquennio (2007-2011) sono stati percorsi 17.032 km, distribuiti nelle acque del Pelagos genovese e del ponente ligure; nel secondo quinquennio (2012-2016) sono stati percorsi 21.044 km, distribuiti principalmente nel Pelagos genovese; nel terzo quinquennio (2017-2021) sono stati percorsi 6.083 km, concentrati nella zona dei canyon del Polcevera e del Bisagno (Fig. 1). Lo zifio e il capodoglio sono stati avvistati rispettivamente 166 e 46 volte (Fig. 2). Nello zifio la distribuzione degli avvistamenti e l'analisi dello ER per cella di campionamento (Figg. 2, 3) sembrano indicare una preferenza per le acque profonde dei canyon, mentre il

capodoglio appare distribuito in una zona più ampia, che include le acque pelagiche dell'intera area di studio (Figg. 2, 3). L'analisi della profondità media dei punti di avvistamento sembra confermare questa diversa scelta di habitat: lo zifio è stato avvistato su una profondità media di -1.251 m (± 21 ES), mentre il capodoglio di -918 m (± 53 ES). Tale differenza risulta statisticamente significativa (test t, p -value $< 0,01$). L'analisi dello ER annuale dello zifio, eseguita su tutti i dati disponibili e sull'intera area di studio, rivela un trend positivo significativo (test di correlazione per ranghi di Spearman, p -value $< 0,01$). Tuttavia, quando la stessa analisi viene eseguita solo sui dati raccolti nell'area dei canyon genovesi (vedi riquadro rosso in Fig. 3), escludendo gli anni con sforzo insufficiente (< 1.000 km/anno), non si rileva alcun trend significativo (vedi Figg. 4, 5).

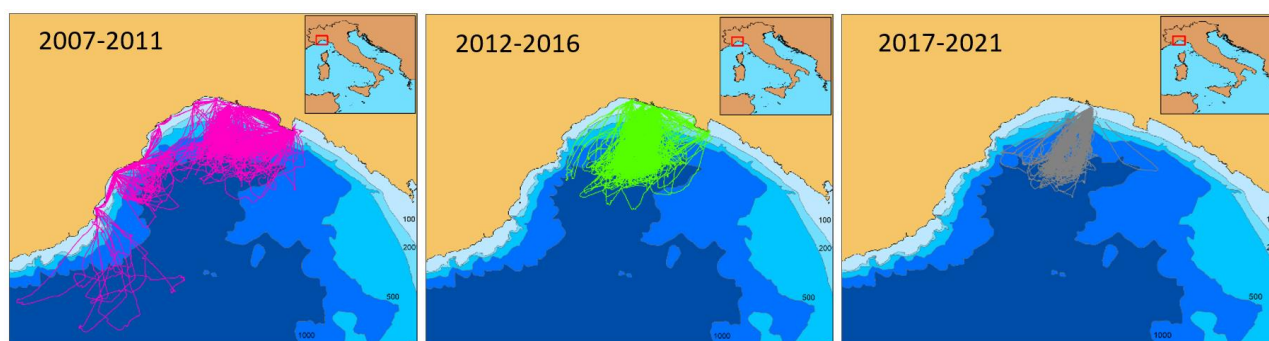


Fig. 1 - Lo sforzo di campionamento è stato disomogeneo nel periodo di studio esaminato e si è progressivamente concentrato nell'area dei canyon genovesi (2007-2011: 17.032 km; 2012-2016; 21.044 km; 2017-2021: 6.083 km).

The sampling effort was uneven in the study period examined and was progressively concentrated in the area of the Genoese canyons (2007-2011: 17,032 km; 2012-2016; 21,044 km; 2017-2021: 6,083 km).

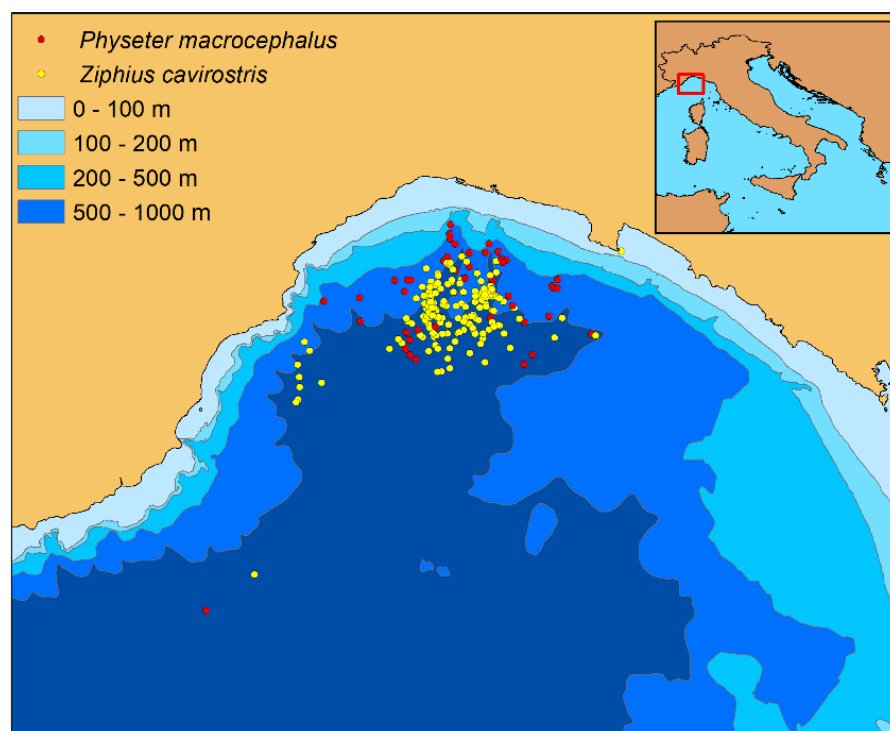


Fig. 2 - Distribuzione dei punti di avvistamento del capodoglio (in rosso) e dello zifio (in giallo). *Distribution of the sighting points of the sperm whale (in red) and of the Cuvier's beaked whale (in yellow).*

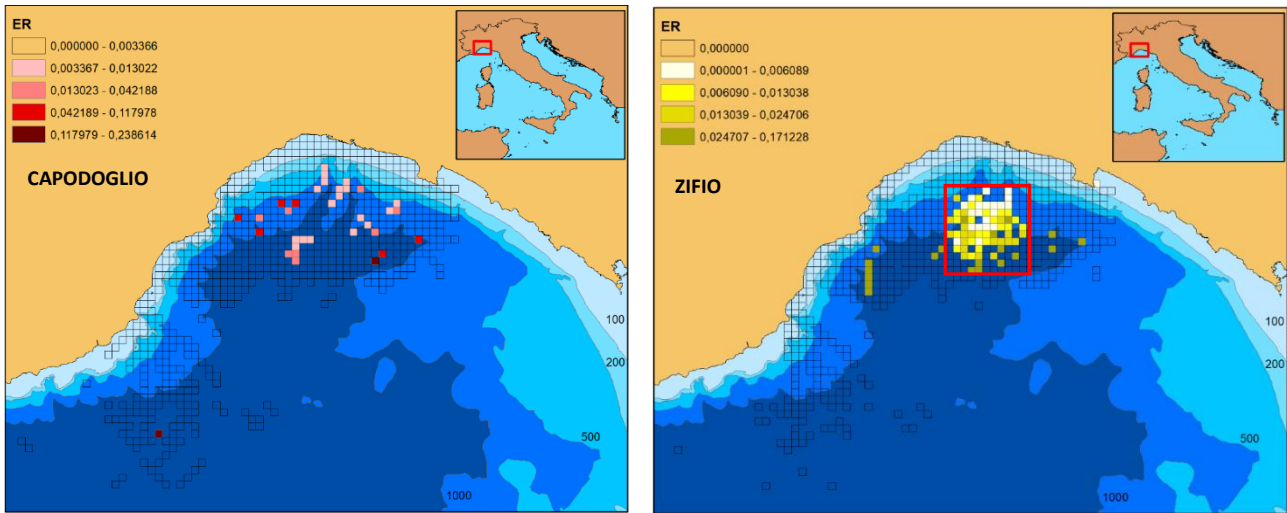


Fig. 3 - *Encounter Rate* (avvistamenti/km) per cella di campionamento del capodoglio (a sinistra) e dello zifio (a destra).
Encounter Rate (sightings/km) per sampling cell of the sperm whale (left) and Cuvier's beaked whale (right).

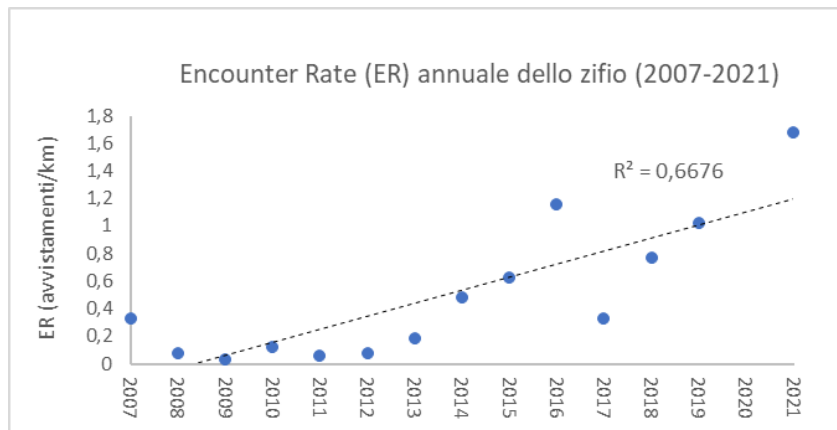


Fig. 4 - *Encounter Rate* annuale dello zifio calcolato su tutti i dati disponibili e nell'intera area di studio (2007-2021).
Annual Encounter Rate of the Cuvier's beaked whale calculated on all available data and in the entire study area (2007-2021).

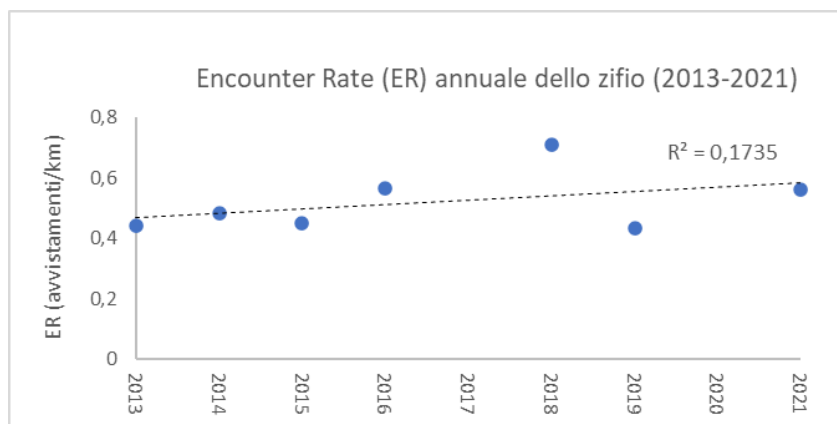


Fig. 5 - *Encounter Rate* annuale dello zifio calcolato nella sola zona dei canyon genovesi ed escludendo gli anni con sforzo di campionamento insufficiente (<1.000 km).
Annual Encounter Rate of the Cuvier's beaked whale calculated only in the Genoese canyons and excluding the years with insufficient sampling effort (<1,000 km).

Conclusioni - Il capodoglio e lo zifio condividono lo spazio di mare del Pelagos genovese, in apparente sovrapposizione. Tuttavia, un'analisi più accurata mostra che le due specie prediligono diverse porzioni dell'area di studio: lo zifio sembra preferire l'asse centrale dei canyon, con massima profondità, mentre il capodoglio viene avvistato con maggiore frequenza nella porzione marginale dei canyon, a profondità significativamente inferiori. I risultati di questa ricerca sono coerenti con quelli ottenuti da Fossa *et al.* (2015), utilizzando una diversa metodologia di indagine, e in parte con quelli di Tepsich *et al.* (2014); entrambi questi studi rilevano infatti una differenza nell'habitat preferenziale delle due specie. Tale differenza potrebbe essere il risultato di una specializzazione o di una competizione diretta tra questi due odontoceti di profondità. Per quanto riguarda lo *Encounter Rate* annuale dello zifio, la prima analisi, effettuata su tutti i dati a disposizione, mostra un trend positivo statisticamente significativo, che sembrerebbe indicare un aumento della presenza della specie nel tempo (Fig. 4). Tuttavia, quando la stessa analisi viene limitata all'area dei canyon (Fig. 5), ovvero l'area preferita dallo zifio (vedi sopra), non risulta alcun trend. Tale contraddizione è quasi certamente dovuta allo sforzo di campionamento disomogeneo. Nel corso del tempo, i tracciati di rilevamento tendono infatti a concentrarsi nell'area dei canyon, probabilmente proprio per ottimizzare il successo di avvistamento dello zifio (Fig. 1). Questa progressiva correzione dello sforzo introduce un bias nell'analisi temporale dello *Encounter Rate* e il risultato che ne scaturisce può essere mal interpretato. Il successo di avvistamento dello zifio è effettivamente aumentato nel corso del tempo, ma questo è probabilmente dovuto a un più efficiente sforzo di ricerca piuttosto che a un aumento della sua presenza nell'area esaminata. Lo studio sottolinea l'importanza di un approccio critico nell'analisi dei dati e nell'interpretazione dei risultati ottenuti, per evitare di giungere a conclusioni errate o affrettate: i dati esaminati non mostrano alcuna evidenza di un aumento dello zifio nel Pelagos genovese all'interno del periodo esaminato. Ulteriori ricerche e analisi di approfondimento potranno fornire maggiori informazioni sulle interazioni ecologiche di questi due apneisti di profondità.

Ringraziamenti: Si ringrazia Liguria Via Mare e Whalewatch Genova-Golfo Paradiso per il supporto fornito alle attività di ricerca.

Bibliografia

- FOSSA F., BELLINGERI M., MARINI C., VASSALLO P., TRUCCHI R., GNONE G. (2015) - Analisi dell'indice di incontro delle specie di Cetacei nei canyon sottomarini di Genova. *Biol. Mar. Mediterr.*, **22** (1): 273-274.
- NOTARBARTOLO DI SCIARA G., AGARDY T., HYRENBACH D., SCOVAZZI T., VAN KLAVEREN P. (2008) - The Pelagos Sanctuary for Mediterranean marine mammals. *Aquat. Conserv.*, **18** (4): 367-391.
- TEPSICH P., ROSSO M., HALPIN P.N., MOULINS A. (2014) - Habitat preferences of two deep-diving cetacean species in the northern Ligurian Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **508**: 247-260.

C. GRATTAROLA¹, V. MATTIODA¹, G. GAROFOLO², F. DE MASSIS², A. PETRELLA³,
G. LUCIFORA⁴, G. DI FRANCESCO⁵, G. DI GUARDO⁶, A. PAUTASSO⁷,
B. IULINI¹, K. VARELLO¹, F. GIORDA¹, F. GARIBALDI⁸, M. GORIA¹, A. DONDO¹,
S. ZOPPI¹, C.E. DI FRANCESCO⁵, S. GIGLIO⁸, F. FERRINGO³, L. SERRECCHIA³,
M.A.R. FERRANTINO³, A. JANOWICZ², M. TITTARELLI², W. MIGNONE¹, C. CASALONE¹

¹C.Re.Di.Ma., Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italia.

²Laboratorio di Referenza Nazionale e WOAH per le Brucellosi, IZS dell'Abruzzo e del Molise, Teramo, Italia.

³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italia.

⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Vibo Valentia, Italia.

⁵Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Teramo, Italia.

⁶Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo, Italia.

⁷ASL 1 Imperiese, Imperia, Italia.

⁸Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università di Genova, Italia.

⁸Associazione M.A.R.E. Calabria, Montepaone (CZ), Italia.

carla.grattarola@izsto.it

INFEZIONE DA *BRUCELLA CETI* (BACTERIA) NEI CETACEI IN ITALIA

BRUCELLA CETI (BACTERIA) INFECTION IN CETACEANS IN ITALY

Abstract - Despite the increasingly frequent reporting of infections with *Brucella ceti* in cetaceans in the Atlantic and Pacific Ocean, the data available to date on the characterization of bacterial isolates of Mediterranean origin and brucellosis in cetaceans in Italy are very limited. In this regard, the pathogenic role of *B. ceti* was analyzed in 8 cases of infection in specimens of *Stenella coeruleoalba* stranded along the Italian coasts from 2012 to 2018. Lesions related to infection were detected in the central nervous system of the 7 animals of which it was possible to perform histological examination, thus confirming the role of *B. ceti* as a neurotropic pathogen for *Stenella coeruleoalba* in Italy. Moreover, the data obtained from the use of MLST and WGS SNP analysis techniques on strains isolated in Italy, showed their belonging to the sequence type 26 (ST-26) and an interesting relationship between phylogenetic characteristics and geographical distribution of the strains, worthy of further study.

Key-words: *Brucella ceti*, marine mammals, neuropathology, cetaceans, Italy.

Introduzione - I batteri appartenenti al genere *Brucella* sono in grado di infettare molti vertebrati terrestri e acquatici e sono all'origine della brucellosi, una zoonosi ad elevato impatto economico, causa di importanti problemi di salute pubblica in diverse aree del mondo. Le prime infezioni da *Brucella* spp. in pinnipedi e cetacei sono state descritte nei primi anni '90 del secolo scorso in California e Scozia e, da allora, sono stati riscontrati casi d'infezione in diverse specie di mammiferi marini in tutto il mondo. Nel 2007, gli isolati di *Brucella* spp. ottenuti da mammiferi marini, sulla base di indagini molecolari, differenze metaboliche e interazioni ospite-patogeno, sono stati classificati ulteriormente in due specie, *B. ceti* e *B. pinnipedialis*. Nei cetacei l'infezione da *Brucella ceti* è stata associata a diversi quadri patologici quali endometriti, placentiti, aborti, orchiti, mastiti, polmoniti, miocarditi, pericarditi, osteoartriti, discospondiliti, ascessi sottocutanei, necrosi epatica, necrosi linfoidi e meningoencefalomieliti (González-Barrientos *et al.*, 2010). Una suscettibilità specifica all'infezione per la specie *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1883) (Hernández-Mora *et al.*, 2008) è stata rilevata dai numerosi rilievi di meningite e/o meningoencefalite, sovrapponibili ai quadri di "neurobrucellosi umana". Le dinamiche dell'infezione e l'interazione ospite-patogeno nei cetacei sono tuttavia ancora largamente sconosciute. Nonostante siano stati descritti diversi casi d'infezione da *B. ceti* in cetacei provenienti dall'Oceano Atlantico e Pacifico, le informazioni sugli isolati nell'area mediterranea ad oggi sono limitate, e pochi sono i dati disponibili sulla diffusione in Italia. L'isolamento

di *B. ceti* nel Mar Mediterraneo è avvenuto infatti per la prima volta nel 2009, in una stenella spiaggiata in Spagna lungo la costa catalana (Isidoro-Ayza *et al.*, 2014). Successivamente, nel 2012 l'infezione è stata documentata in altri tre cetacei spiaggiati in Italia, lungo le coste tirreniche e adriatiche. Questo studio ha preso in considerazione otto casi di infezione da *B. ceti* in stenelle spiaggiate lungo le coste italiane dal 2012 al 2018, analizzando il ruolo patogenetico e la costituzione genetica dei ceppi coinvolti tramite analisi genomica comparativa, al fine di determinare il rapporto degli isolati italiani con quelli precedentemente descritti nelle acque europee e mediterranee.

Materiali e metodi - Il Centro di Referenza Nazionale per le indagini Diagnostiche sui Mammiferi marini spiaggiati (C.Re.Di.Ma. - Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italia) ha preso in considerazione 8 casi di spiaggiamento, relativi ad esemplari di *Stenella coeruleoalba* spiaggiati dal 2012 al 2018 lungo le coste pugliesi (N=6), liguri (N=1) e calabresi (N=1) e risultati positivi all'isolamento di *Brucella ceti*, da uno o più tessuti, nell'ambito delle indagini diagnostiche effettuate dal network degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS). Tenendo conto dei protocolli standard, è stato eseguito un esame *post-mortem* dettagliato (Geraci e Lounsbury, 2005), sono stati raccolti i dati individuali degli animali, tra cui data e luogo di spiaggiamento, sesso, classe di età, codice di conservazione e stato di nutrizione. Successivamente, in base allo stato di conservazione delle carcasse, sono stati effettuati campionamenti per indagini istologiche, batteriologiche, virologiche, parassitologiche e sierologiche. Infine, sono stati registrati i rilievi macroscopici e microscopici di tutti i casi, ad eccezione del caso 3. Complessivamente, sono state eseguite indagini *post-mortem* e istopatologiche su sette degli otto animali risultati positivi per *B. ceti* (casi 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8). La presenza di agenti patogeni rilevanti come *Dolphin Morbillivirus* (DMV) e *Toxoplasma gondii* è stata indagata con metodiche PCR, indagini di tipo immunoistochimico (IHC) (caso 5) e indagini sierologiche (casi 5, 6). Per la diagnosi di infezione brucellare, sono stati effettuati accertamenti microbiologici, biomolecolari e sierologici su tessuti e/o fluidi target disponibili. L'isolamento è stato effettuato da campioni di SNC di tutti gli animali e da altri tessuti disponibili per i casi 1, 5, 6, 7 e 8. Le colture per *B. ceti* sono state eseguite seguendo le indicazioni del Manuale OIE (2019), con utilizzo di terreni solidi selettivi e non selettivi e brodi di arricchimento per aumentare le possibilità di isolamento. Presso il Centro di Referenza Nazionale per le Brucellosi (Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Teramo, Italia), tutti i ceppi isolati sono stati identificati come *B. ceti* attraverso la metodica PCR-RFLP (Clockaert *et al.*, 1995) e successivamente sottoposti ad analisi genomica. Indagini biomolecolari sono state effettuate sui tessuti dei casi 5, 6 e 7 mediante *hemi-nested PCR*. I casi 5, 6 e 8 sono stati inoltre testati mediante test di agglutinazione rapida Rosa Bengala test (RBT) per rilevare la presenza di anticorpi anti *Brucella* spp. Presso il Centro di Referenza Nazionale per le Brucellosi è stato effettuato il sequenziamento del DNA totale degli 8 ceppi tramite piattaforma Illumina NextSeq 500, con assemblamento dei genomi tramite la versione 3.11.1 di SPAdes e identificazione del Sequence type (ST) di appartenenza con tecnica *Multi Locus Sequence Type* (MLST) (<https://github.com/tseemann/mlst>). Per l'analisi dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) è stata utilizzata la versione 0.16.10-3 di In Silico Genotyper (ISG), e le varianti SNPs uniche concatenate sono state utilizzate per generare un albero filogenetico di tipo *Maximum likelihood* con IQ-TREE, versione 1.6.9. Infine, la

struttura della popolazione è stata assegnata utilizzando un approccio Bayesiano attraverso il software BAPS 6.0 con il modulo *hierarchical BAPS* (hierBAPS), che esamina l'esistenza di sottogruppi all'interno di una popolazione e predice la collocazione di singole sequenze in *cluster* specifici (Cheng *et al.*, 2013).

Risultati - Le principali lesioni macroscopiche rilevate sono state moderata infestazione parassitaria da *Phyllobothrium delphini* e/o *Monorygma grimaldi* (5/7; 71,4%), linfadenomegalia (3/7; 42,8%), broncopolmonite parassitaria (3/7; 42,8%) e, unica lesione macroscopica correlata a infezione brucellare, iperemia meningea (3/7; 42,8%) (casi 1,4,8). Microscopicamente, sono stati evidenziati quadri di: meningoencefalite non suppurativa (5/7; 71,4%); meningite/leptomeningite non suppurativa (2/7; 28,5%); iperplasia linfoide reattiva multicentrica (2/7; 28,5%); polmonite broncointerstiziale (2/7; 28,5%); degenerazione vacuolare degli epatociti (2/7; 28,5%); gastrite parassitaria (2/7; 28,5%). I quadri di meningite non suppurativa e/o meningoencefalite, con infiltrato di tipo mononucleato, osservati nei casi 1, 2, 4, 6, 7, 8 (Fig. 1) insieme alla necrosi linfoide e all'epatite necrotizzante del caso 5, sono state considerate le principali lesioni istologiche ascrivibili ad infezione brucellare. *B. ceti* è stata isolata dal SNC di tutti i casi oggetto di studio; solo nei casi 1 e 5 è risultata positiva anche la milza e, nel caso 5, anche il polmone. Il test RBT non ha rilevato anticorpi anti-*Brucella* nei casi 5 e 6, mentre è risultato positivo il siero del caso 8. Per quanto riguarda i casi 6, 7 e 8, è stata rilevata una coinfezione da *B. ceti* e DMV, mentre per il caso 5 una coinfezione da *B. ceti*, DMV e *T. gondii*. La genotipizzazione di *B. ceti* mediante analisi MLST ha classificato gli 8 ceppi come appartenenti al *Sequence type 26* (ST-26). L'analisi SNP sull'intero genoma batterico ha mostrato una suddivisione dei ceppi isolati in Italia in due *clades* geneticamente distinti (*data not shown*), il primo comprendente gli isolati del Mar Ionio e Adriatico e il secondo gli isolati del Mar Ligure e della Costa Catalana, suggerendo una possibile connessione tra la filogenesi dei ceppi e la loro distribuzione topografica.

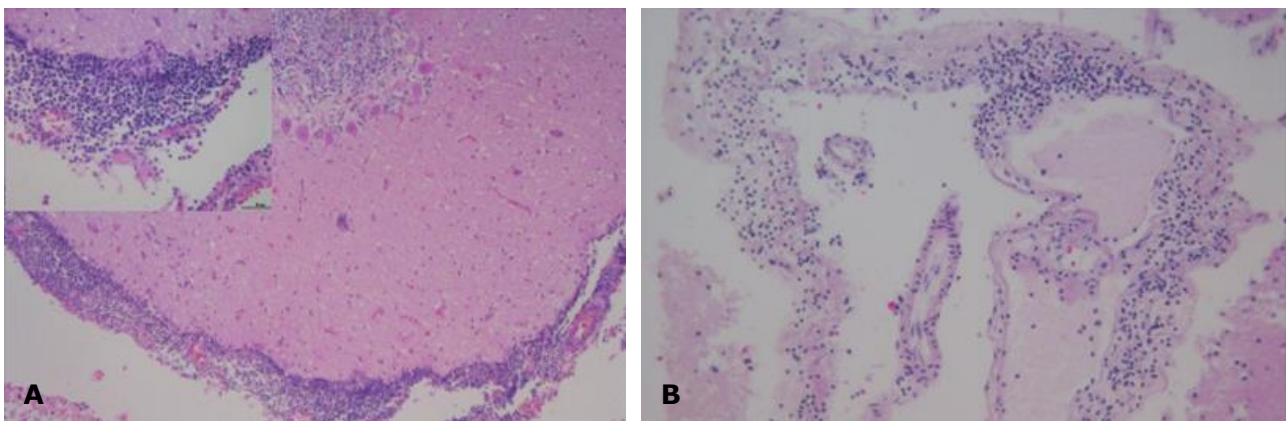


Fig. 1- A) Severa meningite non suppurativa; infiltrato di tipo mononucleato nelle meningi del cervelletto (caso 2). 10×. H&E. Riquadro superiore sinistro: dettaglio dell'infiltrato infiammatorio linfomonocitario. 40×. H&E. B) Meningite non-suppurativa (caso 8). Meningi della corteccia parietale con infiltrato di tipo mononucleato. 20×. H&E.

A) Severe non-suppurative meningitis; cerebellar meninges are infiltrated by mononuclear cells (case 2). 10×. H&E. Left upper inset: detail of the lympho-monocytic inflammatory infiltrate. 40×. H&E. B) Non-suppurative meningitis (case 8). Meninges at the level of parietal cortex are infiltrated by mononuclear cells. 20×. H&E.

Conclusioni - Questo studio rappresenta la prima indagine estensiva sull'infezione da *B. ceti* nelle stenelle che popolano le acque italiane e la prima caratterizzazione completa dei ceppi circolanti. In tutti i casi sottoposti ad indagine istologica (7/8) è stata osservata una correlazione tra infezione e lesioni microscopiche a livello cerebrale, rappresentate da meningiti e/o meningoencefaliti non suppurative, confermando così, anche per le stenelle circolanti nel Mar Mediterraneo, la particolare suscettibilità a sviluppare lesioni sovrapponibili alla neurobrucellosi umana e il ruolo di *B. ceti* come patogeno primario neurotropo (González-Barrientos *et al.*, 2010). Sono stati rilevati inoltre gravi quadri di coinfezione con DMV nella metà degli animali esaminati (casi 5, 6, 7, 8), e con *T. gondii* nel caso 5. La circolazione di *B. ceti* in Italia è stata rilevata in particolare lungo le coste ioniche, anche se da aggiornamenti recenti sembrano ormai essere coinvolti quasi tutti i settori marini. L'analisi genomica effettuata in questo studio ha permesso d'identificare per tutti i ceppi il *Sequence type* ST-26, in accordo con studi precedenti (Maquart *et al.*, 2009). I dati ottenuti dall'analisi SNP dell'intero genoma hanno suggerito inoltre un'interessante relazione tra filogenesi e distribuzione geografica dei ceppi in Italia, fornendo così nuove informazioni sulla struttura filogenetica di *B. ceti* nel Mediterraneo e fornendo un indizio di "separazione geografica" delle stenelle circolanti. Ulteriori indagini sono tuttavia necessarie al fine di poter chiarire l'evoluzione molecolare di *B. ceti* e la sua effettiva distribuzione all'interno dell'area mediterranea, e per individuare i meccanismi coinvolti nel passaggio della barriera emato-encefalica e i fattori ospite-patogeno che determinano l'invasione e la persistenza di *B. ceti* nel SNC.

Bibliografia

- CHENG L., CONNOR T.R., SIRÉN J., AANENSEN D.M., CORANDER J. (2013) - Hierarchical and spatially explicit clustering of DNA sequences with BAPS software. *Mol. Biol. Evol.*, **30** (5): 1224-1228.
- CLOECKAERT A., VERGER J.-M., GRAYON M., GRÉPINET O. (1995) - Restriction site polymorphism of the genes encoding the major 25 kDa and 36 kDa outer-membrane proteins of *Brucella*. *Microbiology*, **141** (9): 2111-2121.
- GERACI J.R., LOUNSBURY V.J. (2005) - *Marine mammals ashore: a field guide for strandings*. Second Edition. National Aquarium in Baltimore, Baltimore, MD: 371 pp.
- GONZÁLEZ-BARRIENTOS R., MORALES J.-A., HERNÁNDEZ-MORA G., BARQUERO-CALVO E., GUZMÁN-VERRI C., CHAVES-OLARTE E., MORENO E. (2010) - Pathology of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) infected with *Brucella ceti*. *J. Comp. Pathol.*, **142** (4): 347-352.
- HERNÁNDEZ-MORA G., GONZÁLEZ-BARRIENTOS R., MORALES J.-A., CHAVES-OLARTE E., GUZMÁN-VERRI C., BARQUERO-CALVO E., DE-MIGUEL M.-J., MARÍN C.-M., BLASCO J.M., MORENO E. (2008) - Neurobrucellosis in stranded dolphins, Costa Rica. *Emerg. Infect. Dis.*, **14** (9): 1430-1433.
- ISIDORO-AYZA M., RUIZ-VILLALOBOS N., PÉREZ L., GUZMÁN-VERRI C., MUÑOZ P.M., ALEGRE F., BARBERÁN M., CHACÓN-DÍAZ C., CHAVES-OLARTE E., GONZÁLEZ-BARRIENTOS R., MORENO E., BLASCO J.M., DOMINGO M. (2014) - *Brucella ceti* infection in dolphins from the Western Mediterranean Sea. *BMC Vet. Res.*, **10**: 206.
- MAQUART M., LE FLÈCHE P., FOSTER G., TRYLAND M., RAMISSE F., DJØNNE B., AL DAHOUK S., JACQUES I., NEUBAUER H., WALRAVENS K., GODFROID J., CLOECKAERT A., VERGNAUD G. (2009) - MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. *BMC Microbiol.*, **9**: 145.
- OIE (2019) - *Terrestrial Manual. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for terrestrial animals. Part 3. Chapter 3.1.4. Brucellosis (infection with *Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*)*. Online version.

Questo lavoro è stato supportato dal Ministero della Salute (RC IZSPLV 09/18 e IZSAM 02/17).

E. MELIADÒ¹, G. BAVESTRELLO², G. GNONE³, R. CATTANEO-VIETTI², G. CIPRIANO¹,
P. RICCI¹, M. INGROSSO¹, R. CARLUCCI¹

¹Department of Biology, University of Bari, Italy.

²DiSTAV, University of Genova, Italy.

³Acquario di Genova, Italy.

eleonora.meliado@libero.it

DOLPHIN HUNTING IN ITALIAN SEAS FROM 1868 TO 1937

LA CACCIA AI DELFINI NEI MARI ITALIANI TRA IL 1868 E IL 1937

Abstract - Dolphins were formally considered as "fishery's enemy" in Mediterranean Sea in the late 19th century. Italian law enacted by the fascist regime (1919-1943), allowed the fishers to hunt of 7,200 dolphins in only ten years (1927-1937) in 14 Italian Maritime Compartments. Grey literature from historical sources have allowed quantifying as in the period 1927-37, over 7,200 dolphins were killed along the Italian coasts and rewards for a total amount of 400,000 Italian Liras, equivalent now to 397,000 EUR (40-50 EUR for each dolphin), were distributed to fishers.

Key-words: direct capture, dolphins, historical data, management procedures, Mediterranean Sea.

Introduction - The interaction between dolphins and fishermen has been perceived as a positive omen from the time of Pliny the Elder (Busnel, 1973). However, in the late 19th century, dolphins were considered as "enemy of the national fishing heritage" (Maggioli, 1941) due to damages caused to trammel nets and gillnets during foraging of "convenient" preys. For this reason, in the period 1927-42, the Italian government incentive the killing of dolphins with aggressive propaganda articles and monetary rewards allowing the use of harpoon guns (Maggioli, 1941). This practice was stopped and prohibited by CITES Convention in 1979. This study is a historical review of the grey literature and official data on the dolphin hunting quotas established in Italy from 1868 to 1942, resulting in a baseline contribution for comparisons.

Materials and methods - The grey literature investigated consists in reports of the Italian Ministry of Agriculture, Industry and Commerce (1903, 1905) and studies written between 1883 and 1948 recovered at the University Libraries of Bari, Genova and Fano and the Biblioteca Nazionale of Florence. Official data of dolphin catches and their economic value for the 14 Italian Maritime Compartments (Genoa, Leghorn, Latium, Naples, Reggio Calabria, Catania, Palermo, Cagliari, Bari, Ancona, Venice, Trieste, and Kvarner) in the decade 1927-37 were recovered by the official books of the Italian Ministry of the National Economy and the Central Institute of Statistics.

Results - In Italy from the end of the 19th century until the middle of 1900's, the resentment of fishermen towards dolphins was widespread, as emerges from the review of over 50 historical studies accompanied by new information taken from some propaganda magazines, published during the fascist regime (e.g. the magazine *La Pesca Italiana*), and bulletins of national fisheries assembles that included the complaints by fisher's organizations. In Italy, the first money reward for the killing of dolphins was offered by the mayor of Portofino (Ligurian Region) in 1868 and it consisted in 10 Italian Liras (≈48 EUR in today's money) per individual. In 1889, the Government's Fisheries Consultative Commission approved financial support to fishing organizations for the

killing of each dolphin. Successively this practice became a law called "Provvedimenti in favore della pesca e dei pescatori" (Provisions in favor of fishing and fishermen) (n. 378, 11 July 1904). The methods authorized around Europe to kill dolphins were dynamite, torpedoes, spear-harpoons, other armed throwing weapons and forced stranding techniques (Issel, 1903; Levi-Morenos, 1905). During the era of the National Fascist Party in Italy (1922-1943), animosity towards dolphins increased by a series of propaganda articles which describing them as an enemy of the national fishing heritage (Maggioli, 1941) and financed culling campaigns for 40,000 Italian Liras (\approx 39,000 EUR in today's money). Moreover, in the period 1927-37, the Ministry of the National Economy rewarded any Italian citizen who killed a dolphin with 50 Liras (100 if a pregnant female) (\approx 45-90 EUR in today's money) but only after delivery confirmation of caudal fin by the local maritime authorities (Fig. 1).

La lotta contro i delfini.

Anche nell'anno 1930 il Ministero ha continuato la distribuzione di premi in denaro a favore di coloro che catturino ed uccidano delfini. I premi, di L. 50 per ogni delfino maschio o femmina non pregna, e di L. 100 per ogni femmina pregna, ammontarono, fino al 31 dicembre 1930, complessivamente a L. 26.300; i delfini uccisi furono 504.

Direzione marittima	Delfini uccisi	Importo premi
Genova	34 (1 femmina era pregna)	L. 1.750
Livorno	22 (2 femmine erano pregne)	» 1.200
Lazio	18 (1 femmina era pregna)	» 950
Napoli	6 (1 » » »)	» 350
Reggio Calabria	12 (5 femmine erano pregne)	» 850
Bari	16 (3 » » »)	» 950
Ancona	106 (2 » » »)	» 5.400
Venezia	41 (2 » » »)	» 2.150
Trieste	12	» 600
Carnaro	56 (1 femmina era pregna)	» 2.850
Cagliari	58 (2 femmine erano pregne)	» 3.000
Catania	87 (2 » » »)	» 4.450
Palermo	36	» 1.800

Totale	504 (22 femmine erano pregne)	L. 26.300

810364 P

Fig. 1 - Original page of "Journal of the Italian Ministry of the National Economy and the Central Institute of Statistics" of 1930. Between 1927 and 1937 the fascism regime ruled the issuance and renewal of money reward for the killing of dolphin in Italy.

Pagina originale del "Giornale del Ministero dell'Economia e Istituto Centrale di Statistica" del 1930. Tra il 1927 e il 1937 il regime fascista regolò l'emissione e il rilascio dei premi in denaro per l'uccisione dei delfini in Italia.

This practice ceased in 1942 in all Compartments (Cirillo, 1942) other than the Kvarner Compartments in the northeastern Adriatic, which stayed active until after the Second World War (Crnkovic, 1958). In the same period, official data reported a total of 7,629 of killed dolphins in ten years with an increasing average annual value from 23.8 individuals (SD 18.6) in 1927 to 66.1 dolphins (SD 51.0) in 1937. Among the 14

Maritime Compartments analyzed, the higher values of total catches were reported for Ancona in the Adriatic Sea (with 1,275 individuals, of which 55 fetuses) and Palermo in the Tyrrhenian Sea (1,137 individuals of which 78 fetuses) (Fig. 2).



Fig. 2 - Number of landed specimens and total rewards in Euro and Lire for Italian Maritime Compartment in the decade 1927-1937.

Numero di esemplari sbarcati e premi totali in Euro e in Lire per Compartimento Marittimo italiano nel decennio 1927-1937.

Conclusions - Data presented represent a historical contribution to increase the current knowledge about the sensitive interaction between cetacean and fisheries in the Mediterranean Sea. Until the late 19th century, dolphins were formally considered as “fishery’s enemy” because it was assumed that they frequently damaged fishing gears. The denounced economic damage allowed to the fishers’ organizations the use of weapons and the attainment of rewards by the Italian Government, especially under the fascist regime (1922-1943). Indeed, in the period 1927-37, over 7,200 dolphins were killed along the Italian coasts and rewards for a total amount of 400,000 Italian Liras, equivalent now to 397,000 EUR (40-50 EUR for each dolphin), were distributed to fishers. From the second half of the past century, the perception of the role of

dolphins is progressively changed and today they are considered important bioindicator of the health status of marine ecosystems due to their role in the marine trophic web.

References

- BUSNEL R.-G. (1973) - Symbiotic relationship between man and dolphins. *T. New York Acad. Sci.*, **35** (2): 112-131.
- CIRILLO S. (1942) - La caccia ai delfini. *La Pesca Italiana*, **3** (4). Edizioni Olimpia.
- CRNKOVIC D. (1958) - The dolphin problem. *Morsko Ribarstvo*, **10**: 12-14.
- ISSEL A. (1903) - Uso della dinamite contro orate e delfini. Atti della Commissione Consultiva per la Pesca. Sessione dicembre 1899. Annali dell'Industria e del Commercio. Tip. Nazionale, Roma.
- LEVI-MORENOS D. (1905) - Mezzi per la difesa dei delfini. Atti della Commissione Consultiva per la Pesca. Sessione dicembre 1904. Annali dell'Industria e del Commercio. Tip. Nazionale, Roma.
- MAGGIOLI U. (1941) - Il delfino è un nemico del patrimonio ittico nazionale. *La Pesca italiana*, **2** (5). Edizioni Olimpia.

B. MUSSI¹, A.G. IACONO¹, A. STAFFELLI¹, G.F. RUSSO², P. LUCIDI³

¹Oceanomare Delphis Onlus, Rimini, Italy.

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie, Università di Napoli Parthenope, Italy.

³Facoltà di Bioscienze e tecnologie agro-alimentari e ambientali, Università di Teramo, Italy.
barbara@oceanomaredelphis.org

FISHING ACTIVITIES OVERLAP WITH BOTTLENOSE DOLPHIN CORE HABITATS OF ISCHIA AND PROCIDA ISLANDS

SOVRAPPOSIZIONE TRA LE ATTIVITÀ DI PESCA E GLI HABITAT PRINCIPALI DI TURGIOPE NELLE ACQUE DI ISCHIA E PROCIDA

Abstract - Species conservation requires a clear understanding of habitat use. The bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) is a coastal species subjected to various anthropogenic threats. We combined behavioral observations and GIS analysis to study bottlenose dolphins' habitat exploitation around the Islands of Ischia and Procida. The study area lies partially within the boundaries of the "Regno di Nettuno" Marine Protected Area (MPA), which is organized into five zones with different levels of protection; one of these, the D-zone, is dedicated to marine mammals. Results show a vital region for feeding, resting, social cohesion, and mating, i.e. essential habitat for bottlenose dolphins. Unfortunately, these core habitats are only partially protected by the zonation of the MPA, and they overlap with fishing activities. Thus, the results suggest that effective management measures should take into account the human-animal conflict that can arise in these critical areas.

Key-words: bottlenose dolphin, critical habitat, fishery interactions, conservation, management.

Introduction - *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), the common bottlenose dolphin, is a species of conservation interest, listed in Annex II and IV of the Habitat Directive (92/43/CEE) that requires strict protection and the creation of specially protected areas for conservation, managed according to the ecological requirements of the species, within the "Nature 2000" network. Therefore, investigating habitat use by bottlenose dolphins is crucial for conserving this protected species. A local population of bottlenose dolphins has been monitored for over fifteen years in the waters around Ischia and Procida Islands in the frame of the Ischia Dolphin Project, an ongoing long-term research program on Tyrrhenian cetaceans. The surveys took place mainly within the Marine Protected Area (MPA) "Regno di Nettuno" which is organized into five zones with different levels of protection; one of these, the D-zone, is dedicated to marine mammals. The IUCN also includes the area into two Important Marine Mammal Areas (IMMAs), where pods of cetacean key species such as common dolphin, *Delphinus delphis* Linnaeus, 1758, bottlenose dolphin, fin whale, *Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758), and sperm whale, *Physeter macrocephalus* Linnaeus, 1758, live.

Materials and methods - The study area is situated in the central Tyrrhenian Sea (Italy). It embraces the Gulf of Naples and the waters around the Islands of Ischia, Procida, Ventotene, Ponza, and Capri (Fig. 1). The marine region is characterized by volcanic activity and complex geological structures including submarine canyons, sea mountains, erosional channels, and banks. The waters north-west Ischia include the submarine canyon of Cuma (Pennetta *et al.*, 1998), which is well known as a hotspot of pelagic fish, sea birds, and cetaceans (Mussi *et al.*, 2014). Observations of cetaceans are conducted from Jean Gab, a 17.70 m long oceanic cutter powered by a 140 hp engine. Survey trips are only

conducted in sea states of 3 (Beaufort) or less with good light conditions, at a vessel speed comprised between 2 and 4 knots. At least three experienced observers collect data scanning for cetaceans with the naked eye, and with 8-10× binoculars, from a 3 m height of eye. Survey tracks are laid out to provide roughly even coverage of the study area but might be adapted to prevailing weather conditions and other factors. We regularly record the following temporal and environmental variables during surveys: date, time, latitude and longitude, presence of and any association with other species (cetaceans, fish, and sea birds), vessels within 100 m from the whales, cloud cover, Beaufort state, and visibility; distance offshore, depth and slope are later extracted from existing data. During all surveys, we utilized the data logging software “Logger 2000” (developed by IFAW; <http://www.ifaw.org>) on a PC connected to the GPS. Visual and acoustic detections of cetaceans, numbers of cetaceans regularly vocalizing and cetaceans visually present, as well as notes on their behavior were entered manually in Logger during all encounters. Searches for cetaceans were also done by continuously listening for their vocalizations using a towed stereo hydrophone array incorporating two hydrophones with preamps (100 Hz - 22 kHz bandwidth, ENEA UT-APRAD Radiation Sources Laboratory) spaced 5 m apart and towed on a 100 m cable. Differences in the time of arrival of dolphin whistles on the two hydrophones were used to determine the bearing to the dolphins using Whistle Detector software (developed by IFAW; www.ifaw.org).

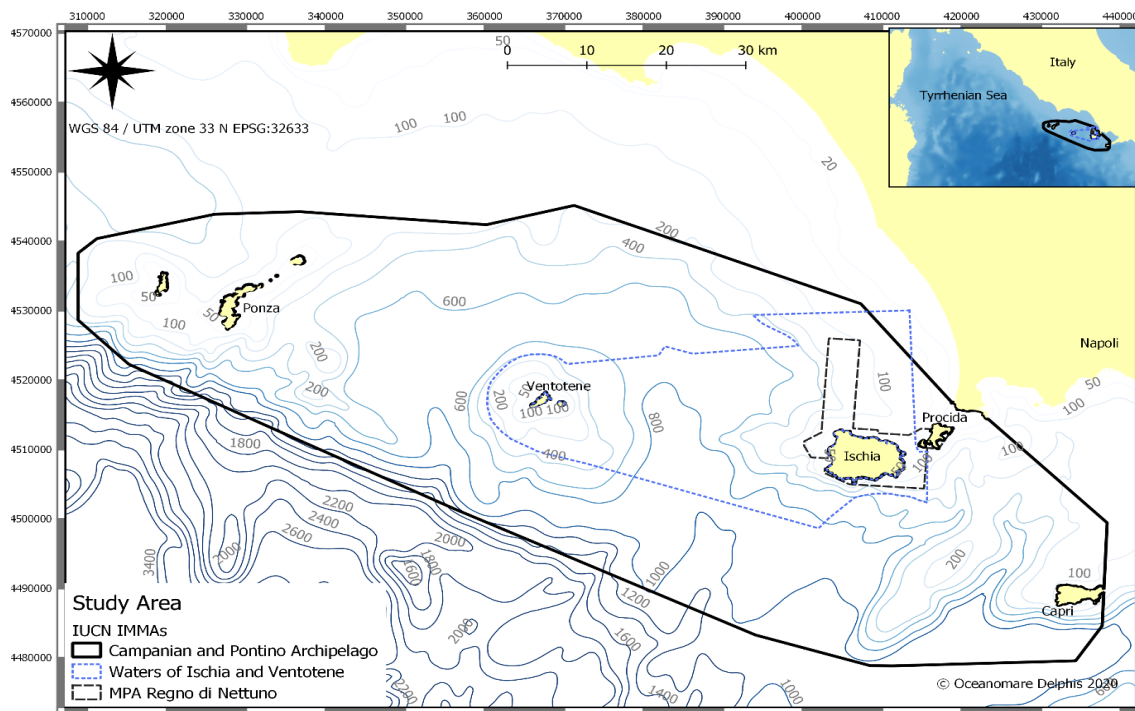


Fig. 1 - The study area.
Area di studio.

To evaluate the use of the habitat, GPS coordinates were taken every three minutes during the sightings and then analyzed using QGIS Kernel Density Estimation, and Hotspot analysis. For the definition of behavioral states of bottlenose dolphin groups, see Shane (1990). The behavioral hotspot maps (5 km radius) were created from the analysis of 91 behavioral sequences >40 min, with a mean duration of 121 min (range 41-417).

Interactions with trawling were recorded, when bottlenose dolphins were seen following fishing vessels for feeding. Interactions with bottom gillnets were also recorded, when the animals were seen swimming in the proximity of fishing gears for more than 20 min and performing prolonged apneas (more than 4 min). The routes traveled by dolphins during the interactions were analyzed using QGIS Kernel Density Estimation and Hotspot analysis (1.5 km radius).

Results - Between 2004 and 2018, we conducted 1186 boat-based surveys during which 58332 km were covered (Fig. 2a). During these, we encountered 91 bottlenose dolphin groups and spent 156 hours (877 km) in direct observations (Fig. 2b). Group size ranged between 1 and 130 animals (mean 37; $SD \pm 33.23$). 79% of observed groups included immature individuals (calves and/or juveniles $n=72$), with most of these including calves (59%, $n=54$). With few exceptions, dolphins were mainly distributed in coastal waters (range 9.63-855.78 m; average 139.75; $SD \pm 187.42$), concentrating on NW Ischia Island.

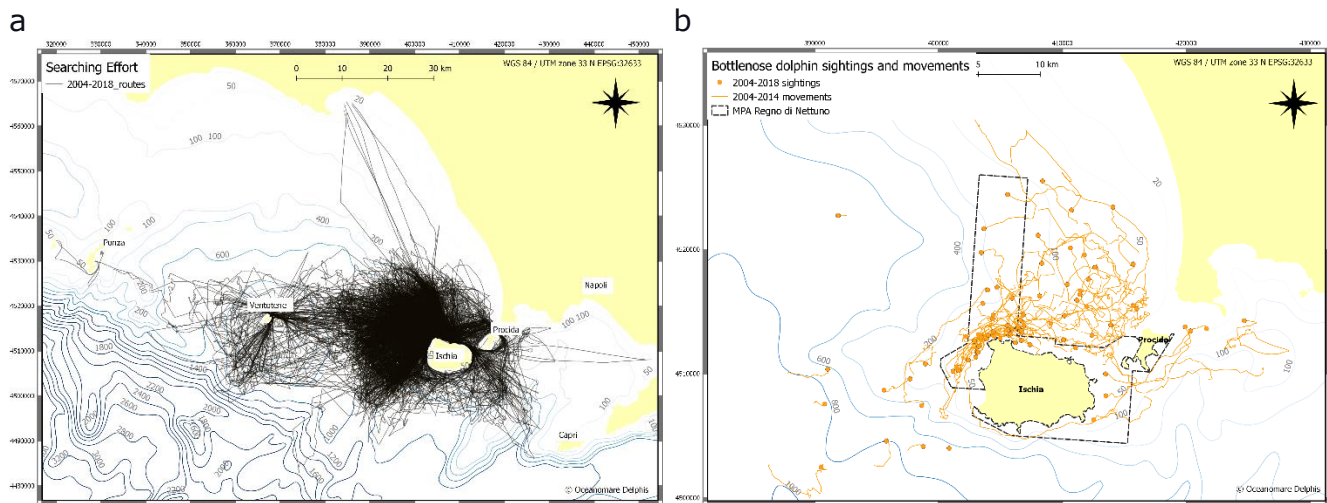


Fig. 2 - a) 2004-2018 searching effort; b) 2004-2018 bottlenose dolphin sightings and movements.

a) 2004-2018 sforzo di ricerca; b) 2004-2018 avvistamenti e rotte di tursiope.

Feeding was recorded in 66% of sightings while socializing/mating in 21%, and then milling/resting in 13%. Interactions with fishery were observed in 22 sightings (25.18%), 55% of which involved gillnets used by artisanal fisheries and 27% bottom trawlers of the industrial fleet. On four occasions, interactions with both fishing gears have been recorded. Hotspot analysis allowed for delineating fine-scale areas with a higher concentration of bottlenose dolphins' critical activities and interactions with fisheries (Fig. 3). Feeding hotspots were identified N, NW of Ischia, and NW of Procida. The overlap with the fishery regards the area NW Ischia where interactions with gillnets were recorded (Fig. 3a). Socializing and mating hotspots partially intersect with the feeding ones and overlap NW Ischia with gillnet fishery and N Procida with bottom trawlers activities (Fig. 3b). The resting hotspot was located NW of Procida and mainly overlap with the trawler's fishery (Fig. 3c). Preliminary interviews were carried out, almost entirely (93%) with artisanal fishermen, who mainly used fixed gillnet (87%). All the interviewed fishermen described cases of depredation, 65% reported several interactions per week. The main damages to the fishermen include the stealing of fish from nets (41%) and the breaking of nets (44%).

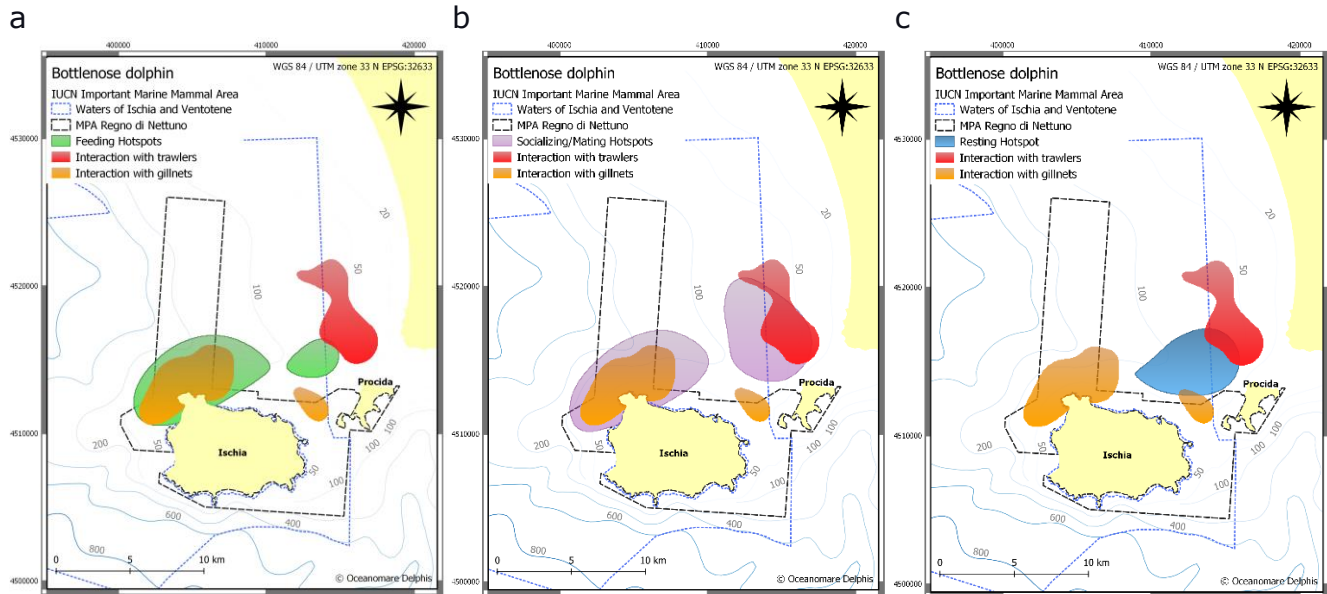


Fig. 3 - a) Overlap between feeding hotspots and interactions with fisheries; b) overlap between socializing/mating hotspots and interactions with fisheries; c) overlap between the resting hotspot and interactions with fisheries.

a) Sovrapposizione tra aree di alimentazione e interazioni con la pesca; b) sovrapposizione tra aree di socializzazione/accoppiamento e interazioni con la pesca; c) sovrapposizione tra area di riposo e interazioni con la pesca.

Conclusions - Results show a vital region for feeding, resting, social cohesion, and mating: an essential habitat for bottlenose dolphins. Unfortunately, these critical areas are only partially protected by the zonation of the MPA, and they overlap with fishing activities. Conservation policies can take advantage of this spatial information to increase the safeguard of this protected species. In particular, the MPA should use them to revise and enlarge the boundaries of the D-zone dedicated to marine mammals. Although the influence of fisheries on dolphins' behavior and movements needs further investigation, the results suggest that effective management measures should take into account the human-animal conflicts that can arise in these critical areas. Replacing gillnets with traps, and establishing new no-take zones may represent practical solutions in response to the economic loss and the gear/catches damages reported by the small-scale artisanal fishery.

References

- MUSSI B., MIRAGLIUOLO A., ZUCCHINI A., PACE D.S. (2014) - Occurrence and spatio-temporal distribution of sperm whale (*Physeter macrocephalus*) in the submarine canyon of Cuma (Tyrrhenian Sea, Italy). *Aquat. Conserv.*, **24** (S1): 59-70.
- PENNETTA M., VALENTE A., ABATE D., BOUDILLON G., DE PIPPO T., LEONE M., TERLIZZI F. (1998) - Influenza della morfologia costiera sulla circolazione e sedimentazione sulla piattaforma continentale campano-laziale tra Gaeta e Cuma (Italia Meridionale). *Boll. Soc. Geol. It.*, **117**: 281-295.
- SHANE S.H. (1990) - Comparison of bottlenose dolphin behavior in Texas and Florida, with a critique of methods for studying dolphin behavior. In: Leatherwood S., Reeves R.R. (eds), *The bottlenose dolphin*. Academic Press, San Diego, CA: 541-558.

F.C. SANTACESARIA¹, C. FANIZZA¹, S. BELLOMO¹, R. CRUGLIANO¹, V. POLLAZZON¹,
G. CIPRIANO², P. RICCI², R. CARLUCCI²

¹Jonian Dolphin Conservation, Taranto Italy.

²Department of Biology, University of Bari, Italy.
lia@joniandolphin.it

**EVIDENCE OF SHARK ATTACK ON A BOTTLENOSE DOLPHIN
IN THE GULF OF TARANTO
(NORTHERN IONIAN SEA, CENTRAL-EASTERN MEDITERRANEAN SEA)**

**EVIDENZE DI UN ATTACCO DI SQUALO SU UN INDIVIDUO DI TURSIOPE
NEL GOLFO DI TARANTO
(MAR IONIO SETTENTRIONALE, MEDITERRANEO CENTRO ORIENTALE)**

Abstract - Among ecological factors, the predation risk had a profound influence on cetacean distribution, habitat use and social organization. In spring-summer 2019, evidence of a shark attack on a living photo-identified female of bottlenose dolphin occurring in the Gulf of Taranto (Northern Ionian Sea, Central-Eastern Mediterranean Sea) were provided and the healing process was followed and documented.

Key-words: shark attack, predation risk, *Tursiops truncatus*, cetaceans, Mediterranean Sea.

Introduction - The predation risk plays a key role in the social organization of dolphins, influencing their group size, habitat use and behaviour such as changes in reproductive patterns (Heithaus, 2001; Heithaus and Dill, 2006; Fearnbach *et al.*, 2012). The understanding of predation risk, despite its importance for investigating population dynamics, results particularly challenging. Indeed, few studies report direct observations of predation (*e.g.*, Mann and Barnett, 1999), whereas many others are based on shark stomach content (*e.g.*, Cockcroft *et al.*, 1989) or on photographic documentation of injuries and scars attributed to sharks on free ranging dolphins (*e.g.*, Heithaus, 2001; Melillo-Sweeting *et al.*, 2022). However, estimating the predation risk through these methods could provide important informations and inferences about predation pressure on dolphins. In that regard, on twenty species of large predatory sharks recorded in the Mediterranean Sea, seven were the most common species observed in the Northern Ionian Sea: the blue shark (*Prionace glauca* Linnaeus, 1758), the bluntnose sixgill shark (*Hexanchus griseus* Bonnaterre, 1788), the great white shark (*Carcharodon carcharias* Linnaeus, 1758), the shortfin mako shark (*Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810), the smooth hammerhead shark (*Sphyrna zygaena* Linnaeus, 1758), the common thresher shark (*Alopias vulpinus* Bonnaterre, 1788) and the basking shark (*Cetorhinus maximus* Gunnerus, 1765) (Sperone *et al.*, 2012). Among these species, the great white shark, the sixgill shark and the mako shark are known to prey on small cetaceans (Heithaus, 2001). In the Northern Ionian Sea, along the Calabria coasts, fatal white shark attacks were reported, indicating a potential predation risk on the common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus* Montagu, 1821) and the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba* Meyen, 1833) (Sperone *et al.*, 2012). This study reports evidence of a shark attack in the Gulf of Taranto (Northern Ionian Sea, Central-Eastern Mediterranean Sea) on a living photo-identified female of bottlenose dolphin, bearing a shark bite on its dorsal region, and the following healing process.

Materials and methods - Observations of the attacked bottlenose dolphin were recorded in spring-summer season 2019 during standardized vessel-based surveys,

carried out on board of 12 m catamaran, aimed at monitoring dolphins and whales in a study area of about 960 km² in the Gulf of Taranto. During the sightings GPS coordinates, depth (m), group size (number of individuals) as well as the predominant behaviour of the encountered group were recorded. In addition, a collection of photographs useful to the photo-identification process was taken using a Nikon D3300 camera with Nikon AF-P 70-300 mm, f 4.5-6.3G ED lens. The protocol for the photo-identification, based on the presence of natural marks on the dorsal fin, was carried out according to Santacesaria *et al.* (2019). The healing states were defined according to Smith *et al.* (2018) as: open wound (broken skin, visible muscle or blood); partially healed (clearly visible, white scarring); healed (faint evidence of scarring) (Fig. 1).



Fig. 1 - Evidence and evolution of healing process of shark bite on an individual of *T. truncatus* in the Gulf of Taranto in spring-summer 2019.

Evidenze ed evoluzione del processo di guarigione di un morso di squalo su un individuo di T. truncatus nel Golfo di Taranto nella primavera-estate 2019.

Results - During the spring-summer season 2019, five sightings of the attacked bottlenose dolphin occurred in a depth range from 36 to 198 m within the study area. On June 10th 2019, during the sighting of a group of 20 bottlenose dolphins observed in travelling, a female accompanied by its calf, both previously photo-identified on May 1st and named respectively Tt117 and Tt118, was observed with an open wound on the left side of its dorsal region. The wound, typically jagged and characterized by a wide parabolic shape, was evidently due to a shark attack (Fig. 2). It consisted of eight regular tooth marks in the bottom part of the wound, apparently due to more than one row of teeth, and in a broken skin area on the upper part with visible blubber tissue. On June 23rd the wound resulted partially healed and on August 2nd completely healed. During the attack Tt117 was nursing a young dolphins (Tt118). The calf remained

healthy, apparently growing normally, and was spotted side-by-side with the mother in all sightings. The behaviour and social habits of Tt117 seem to remain the same also after the shark attack. In all the sightings, Tt117 was found in groups of dolphins composed by adults, juveniles and calves, that ranged from 7 to 20 individuals (mean value 15, SD=5). She swam close to the other dolphins, interacting with them and with the boat on several occasions.



Fig. 2 - Detail of the open wound observed on the left side of Tt117 dorsal region on June 11th, 2019.
Dettaglio della ferita aperta osservata sul dorso sinistro di Tt117 l'11 giugno 2019.

Conclusions - This study provides evidence of a shark attack on an adult female bottlenose dolphin. In the study area, there are three possible sharks that prey on small cetaceans: the great white shark, the sixgill shark and the mako shark. Without a direct observation of a shark attack on a dolphin, it is difficult to determine which species of shark is responsible for inflicting the wound. However, an accurate analysis of the dental morphology (shape, size and condition of bite) could lead to identify the shark species involved (Long and Jones, 1996). Even though some of the main features of Tt117's bite could help to identify the shark species, the lack of photogrammetry data did not allow the authors to support any hypothesis and to clearly assess the shark species that attacked Tt117. As already mentioned, shark predation could affect the behaviour of dolphins. From the analysis of our data, the only evidence of the attack came from the presence of shark-inflicted wound and no differences in the sociability of Tt117 were recorded. Although evidence of shark attacks on dolphins in the study area were scarce during the research period, monitoring of these events can be used as a measure of the predatory risk, which is a relevant knowledge also for management and conservation purposes.

References

- COCKCROFT V.G., CLIFF G., ROSS G.J.B. (1989) - Shark predation on Indian Ocean bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* off Natal, South Africa. *S. Afr. J. Zool.*, **24** (4): 305-310.
- FEARNBACH H., DURBAN J., PARSONS K., CLARIDGE D. (2012) - Seasonality of calving and predation risk in bottlenose dolphins on Little Bahama Bank. *Mar. Mamm. Sci.*, **28** (2): 402-411.

- HEITHAUS M.R. (2001) - Shark attacks on bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) in Shark Bay, Western Australia: attack rate, bite scar frequencies, and attack seasonality. *Mar. Mamm. Sci.*, **17** (3): 526-539.
- HEITHAUS M.R., DILL L.M. (2006) - Does tiger shark predation risk influence foraging habitat use by bottlenose dolphins at multiple spatial scales? *Oikos*, **114** (2): 257-264.
- LONG D.J., JONES R.E. (1996) - White shark predation and scavenging on cetaceans in the eastern North Pacific Ocean. In: Klimley A.P., Ainley D.G. (eds), *Great white sharks: the biology of Carcharodon carcharias*. Academic Press, San Diego: 293-307.
- MANN J., BARNETT H. (1999) - Lethal tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) attack on bottlenose dolphin (*Tursiops* sp.) calf: defense and reactions by the mother. *Mar. Mamm. Sci.*, **15** (2): 568-575.
- MELILLO-SWEETING K., MAUST-MOHL M., SMUKALL M.J. (2022) - Examining shark bite scars on dolphins off Bimini, The Bahamas: comparisons between bottlenose and Atlantic spotted dolphins. *Mar. Mamm. Sci.*, **38** (1): 18-28.
- SANTACESARIA F.C., BELLOMO S., FANIZZA C., MAGLIETTA R., RENÒ V., CIPRIANO G., CARLUCCI R. (2019) - Long-term residency of *Tursiops truncatus* in the Gulf of Taranto (Northern Ionian Sea, Central-eastern Mediterranean Sea). Proceedings IMEKO TC-19 International Workshop on Metrology for the Sea. Genoa, Italy, 3-5 October 2019: 28-32
- SMITH F., ALLEN S.J., BEJDER L., BROWN A.M. (2018) - Shark bite injuries on three inshore dolphin species in tropical northwestern Australia. *Mar. Mamm. Sci.*, **34** (1): 87-99.
- SPERONE E., PARISE G., LEONE A., MILAZZO C., CIRCOSTA V., SANTORO G., PAOLILLO G., MICARELLI P., TRIPEPI S. (2012) - Spatiotemporal patterns of distribution of large predatory sharks in Calabria (central Mediterranean, southern Italy). *Acta Adriat.*, **53** (1): 13-24.

C. CAROPPO¹, F. AZZARO², A. BERGAMASCO³, G. CARUSO², F. DECEMBRINI²

¹Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque (CNR-IRSA), Taranto, Italia.

²CNR-ISP, Messina, Italia.

³CNR-ISMAR, Venezia, Italia.

carmela.caroppo@irsa.cnr.it

EFFETTI DEL MIXING SULLA DIVERSITÀ ED ATTIVITÀ FITOPLANCTONICA NELL'AREA DELLO STRETTO DI MESSINA

MIXING EFFECTS ON THE PHYTOPLANKTON DIVERSITY AND ACTIVITY IN THE STRAITS OF MESSINA AREA

Abstract - The Straits of Messina represents an "exchange" area between two basins, the Tyrrhenian and the Ionian, characterized by different hydrographic conditions. In the late winter period, a multidisciplinary survey was carried out in the Straits area to study phytoplankton abundance and diversity, primary production and enzymatic activities in relation to the water masses (Surface Tyrrhenian, Intermediate Ionian and Messina Mixed Waters). The results highlighted the prevalence of the smallest phytoplankton fractions (<20 μm) in the entire study area. The Tyrrhenian waters displayed higher values in terms of abundances and enzymatic activities compared to the Ionian waters where higher productivity and diversity, expressed in terms of phylogenetic distance, were observed. Finally, the Messina Mixed Waters showed intermediate characteristics between the Surface Tyrrhenian and Intermediate Ionian Waters, suggesting that in this period of the year the Straits acted as a "collector" of phytoplankton species from two very different ecosystems.

Key-words: phytoplankton, taxonomic diversity, mixing, Straits of Messina, Mediterranean Sea.

Introduzione - Il fitoplancton svolge un ruolo fondamentale negli ecosistemi marini e la sua attività è responsabile del 10–50% della produzione primaria totale e, attraverso le interazioni con le comunità microbiche, condiziona il flusso di energia nella rete alimentare. Inoltre, il fitoplancton è caratterizzato da un'elevata diversità ed è rappresentato da microrganismi molto distanti tra loro dal punto di vista evolutivo. La struttura delle comunità influenza il funzionamento di tutti gli ecosistemi acquatici, comprese le aree di risalita (*upwelling*), sebbene su questi ultimi le informazioni disponibili siano piuttosto limitate (Otero *et al.*, 2020). La caratteristica più rilevante del fitoplancton è la sua distribuzione spaziale irregolare determinata da fattori biotici (e.g. crescita e predazione) nonché dalla capacità di galleggiamento degli organismi influenzate dai processi di advezione turbolenta come il rimescolamento (*mixing*) delle acque. Quest'ultimo influisce sulla distribuzione dei nutrienti e dei microrganismi e, insieme alla radiazione solare, crea le condizioni idonee a sostegno della produzione primaria e della diversità (Margalef, 1997). Nelle regioni di risalita ricche di nutrienti, la produttività è generalmente molto elevata. In questi ambienti il fitoplancton è soggetto a effetti contrastanti: l'incremento dei nutrienti provenienti dagli strati più profondi e la riduzione della luce determinati dal rimescolamento verticale (Largier, 2020). Situato al centro del Mar Mediterraneo, lo Stretto di Messina rappresenta un'area "di transizione" fra due bacini, Tirrenico e Ionico, caratterizzati da diverse condizioni idrografiche. Numerose ricerche sono state condotte sui fenomeni di *upwelling* e turbolenza delle acque nello Stretto nonché sui loro effetti sui processi di produzione primaria, ma è tuttora scarsa la conoscenza della loro influenza sulla struttura e diversità delle comunità fitoplanctoniche. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'importanza del rimescolamento delle acque sulla distribuzione spaziale, abbondanza, composizione specifica e diversità del fitoplancton, nonché sui processi di produzione primaria ed attività enzimatiche nell'area dello Stretto di Messina.

Materiali e metodi - Nell'ambito della campagna oceanografica SAMCA IV (Systems Approach to Mediterranean Coastal Areas) condotta dal 15 al 23 febbraio 2004 sulla R/V Urania, sono state realizzate indagini nell'area compresa tra il Mar Tirreno Meridionale, il Mar Ionio Settentrionale e lo Stretto di Messina (37°-39° N e 14,0°-16° E). Per caratterizzare le masse d'acqua presenti nell'area di studio sono stati eseguiti ottantuno profili con la sonda multiparametrica SeaBird 911plus CTD-O-FI per il rilevamento di temperatura (T), salinità (S), ossigeno disciolto e fluorescenza. I dati CTD rilevati sono stati successivamente elaborati con il software Ocean Data View (ODV) (<https://odv.awi.de/software/download/>) per ottenere il diagramma T/S che ha permesso di individuare tre masse d'acqua diverse: Acque Tirreniche Superficiali, TSW; Acque Mescolate dello Stretto, MMW; Acque Intermedie Ioniche, IIW. I campionamenti sono stati condotti in venticinque stazioni a profondità scelte sulla base dei profili termoclinici e di fluorescenza, e sono stati raccolti 73 campioni d'acqua mediante bottiglie NISKIN montate su rosette equipaggiate con la sonda CTD. L'analisi della frazione picoplanctonica (0,2-2 μm) fototrofa (PPA) è stata condotta utilizzando un microscopio a epifluorescenza Zeiss Standard Axioplan dotato di una lampada a vapori di mercurio HBO da 100 W. L'identificazione e il conteggio degli autotrofi di maggiori dimensioni (nano- 2-20 μm e micro-fitoplancton 20-200 μm) sono stati effettuati utilizzando un microscopio invertito (Labovert FS Leitz) dotato di contrasto di fase. La produzione primaria totale è stata stimata utilizzando la tecnica standard del ^{14}C . Le attività enzimatiche relative a leucina aminopeptidasi (LAP), fosfatasi alcalina (AP) e β -glucosidasi (GLU), attivi nella decomposizione di proteine, mucopolisaccaridi e fosfati organici, sono state determinate utilizzando un fluorimetro Turner TD 700, dotato di filtri di eccitazione ed emissione con lunghezze d'onda di 380-440 e 365-445 nm. In laboratorio tutte le indagini sono state condotte seguendo il manuale delle "Metodologie di studio del plancton marino" (Socal *et al.*, 2010). Per ciò che riguarda la diversità fitoplanctonica, sono state calcolate la diversità tassonomica media (Δ) e la distinzione tassonomica media (Δ^*) utilizzando il software PRIMER v.7 (Primer-E) (Clarke *et al.*, 2014). L'analisi della varianza ad una via (ANOVA) è stata applicata per testare le differenze tra ed all'interno di gruppi di dati utilizzando il programma di statistica R (<https://www.r-project.org/>).

Risultati - Nell'area dello Stretto, le abbondanze del picofitoplancton sono variate nel range compreso tra 0,9 e 171,0 cellule $\times 10^6$ L $^{-1}$ con valori significativamente più elevati nelle TSW rispetto alle MMW e IIW (ANOVA, $p < 0,01$) (Fig. 1a). Dal punto di vista qualitativo, forme coccali e bastoncellari ascrivibili a *Synechococcus/Cyanobium type* hanno rappresentato il 99% delle abbondanze totali mentre la presenza di *Prochlorococcus* spp. e/o PPA eucariotico è stata trascurabile. Le abbondanze del nano- e microfitoplancton sono variate in un range compreso tra 18,2 e 171,0 cellule $\times 10^3$ L $^{-1}$ ed anche in questo caso valori significativamente più elevati sono stati riscontrati nelle TSW (ANOVA, $p < 0,005$) (Fig. 1b). Per ciò che riguarda la composizione della comunità fitoplanctonica di maggiori dimensioni, i risultati ottenuti hanno evidenziato la prevalenza delle frazioni nanoplanctoniche nell'intera area di studio. Le "altre fitoflagellate" hanno rappresentato in media il 78,1 \pm 9,8% delle abbondanze totali; esse sono state rappresentate prevalentemente da cloroficee (40,3%), prasinoficee (11,8%), criptoficee (7,8%), crisoficee (4,8%), euglenoficee (3,9%) e piccole forme (<10 μm) di incerta identificazione tassonomica (9,5%). Diatomee, coccolitine e dinoflagellate hanno rappresentato rispettivamente il 9,6 \pm 7,0%, il 6,9 \pm 5,2% ed il 5,4 \pm 3,7% delle abbondanze totali.

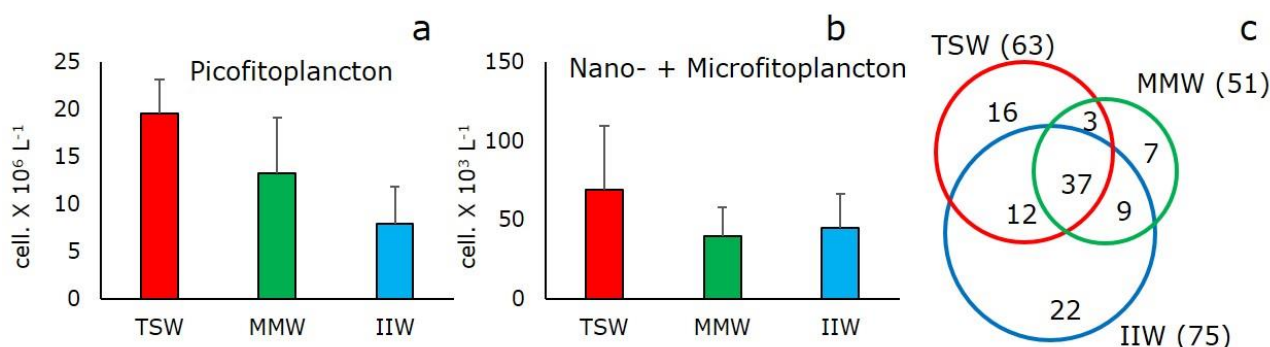


Fig. 1 - a) Abbondanze del picofitoplancton; b) abbondanze del nano- e microfitoplancton; c) distribuzione dei taxa fitoplanctonici nelle masse d'acqua identificate nello Stretto di Messina. I numeri all'interno dei cerchi indicano le specie comuni e quelle esclusive mentre i numeri tra parentesi rappresentano il numero totale di taxa riscontrati in ciascuna massa d'acqua (TSW, rosso; MMW, verde e IIW azzurro).

a) *Pico-size phytoplankton abundances*; b) *nano- and micro-size phytoplankton abundances*; c) *distribution of the phytoplankton taxa in the water masses identified in the Strait of Messina. The numbers inside the circles indicate the common and exclusive species while the numbers in brackets represent the total number of taxa found in each water mass (TSW, red; MMW, green and IIW, blue).*

Sono stati identificati 106 taxa di cui 57 diatomee, 43 dinoflagellate, 2 coccolitine, 3 specie appartenenti al gruppo "altre fitoflagellate" ed 1 cianobatterio. In tutta l'area indagata la comunità è stata dominata da organismi pico- (*Synechococcus/Cyanobium* type) e nanofitoplanctonici [cloroficee e la coccolitina *Emiliania huxleyi* (Lohmann) W.W. Hay & H. Mohler]. Inoltre, anche se con abbondanze inferiori, i taxa comuni sono stati rappresentati principalmente da diatomee (25 su 37) (Fig. 1c) tra cui *Thalassionema bacillare* (Heiden) Kolbe, *Asterionellopsis glacialis* (Castrac.) Round, *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann & J.C. Lewin, *Proboscia alata* (Brightw.) Sundström, *Pseudo-nitzschia* sp., *Rhizosolenia styliformis* Brightw., *Tenuicylindrus belgicus* (Meunier) D. Nanjappa & Zingone, *Thalassiosira* spp. Inoltre, in tutte le masse d'acqua sono state identificate diverse dinoflagellate [*Diplopsalis* spp., *Gymnodinium marinum* Kent, *Gymnodinium* spp., *Gyrodinium fusiforme* Kof. & Swezy, *Prorocentrum cordatum* (Ostenf.) J.D. Dodge] e la silicoflagellata *Dictyocha fibula* Ehrenb. Nelle TSW, le specie "esclusive" sono state 7 diatomee e 9 dinoflagellate mentre nelle IIW sono risultate più numerose le dinoflagellate (13 vs 9) (Fig. 1c). L'analisi degli indici di diversità fitoplanctonica ha mostrato differenze significative ($p < 0,05$) fra le masse d'acqua presenti nello Stretto. Infatti, nelle TSW gli indici basati sulle relazioni filogenetiche tra specie sono risultati significativamente maggiori nelle IIW ($p < 0,05$). In queste acque, l'indice di diversità tassonomica è risultato pari a $62,16 \pm 1,88$ (TSW: $60,54 \pm 2,67$) mentre quello di "distinctness" pari a $69,59 \pm 4,49$ (TSW: $66,18 \pm 5,65$). I tassi di produzione primaria sono variati tra 0,125 e $1,543 \mu gC L^{-1} h^{-1}$ con valori significativamente più elevati nelle IIW rispetto a quelli riscontrati nelle TSW (ANOVA, $p < 0,05$). Per ciò che riguarda la LAP essa è variata tra 0,71 e $2,76 nmol L^{-1} h^{-1}$, la AP tra 52,03 e $378,99 nmol L^{-1} h^{-1}$ e la GLU tra 4,51 e $14,76 nmol L^{-1} h^{-1}$. L'attività enzimatica è risultata generalmente più elevata nelle TSW rispetto alle altre masse d'acqua. In generale, nelle MMW si sono rilevate caratteristiche intermedie tra le TSW e le IIW sia in termini di composizione di specie e diversità fitoplanctonica sia dal punto di vista funzionale.

Conclusioni - I risultati ottenuti durante questo studio hanno dimostrato che le caratteristiche idrografiche dello Stretto di Messina influiscono sulla diversità tassonomica e funzionale fitoplanctonica. In generale, la composizione specifica osservata nell'intera area di studio è quella tipica degli ambienti oligotrofici mediterranei, caratterizzata dalla dominanza delle frazioni di minori dimensioni già descritta sia nel Mar Tirreno (Decembrini *et al.*, 2009) sia nel Mar Ionio (Varkitzi *et al.*, 2020). Tuttavia, notevoli differenze sono emerse dal confronto delle comunità dei due bacini (Tirreno e Ionio) collegati dallo Stretto considerando i valori di abbondanza cellulare, produzione primaria ed attività enzimatica. La diversità fitoplanctonica attraverso l'analisi della diversità e della distinzione tassonomica ha permesso di differenziare ulteriormente le TSW dalle IIW. I risultati della nostra indagine hanno dimostrato che tali indici, ancora poco utilizzati per le comunità fitoplanctoniche, potrebbero rappresentare uno strumento utile per il confronto tra masse d'acqua idrograficamente diverse, ma solo se integrati con dati di attività planctonica. Nell'area dello Stretto di Messina, le TSW sono state caratterizzate da una comunità metabolicamente "attiva" in cui la presenza di numerose specie fitoplanctoniche (soprattutto diatomee) sembra preludere alla imminente fioritura primaverile (febbraio-marzo), come gli studi a lungo termine condotti nel Mar Tirreno meridionale hanno dimostrato (Zingone *et al.*, 2019). Nelle IIW, l'elevato contenuto di nutrienti associato ad una ridotta disponibilità luminosa potrebbe aver favorito la diversificazione delle nicchie ecologiche favorendo taxa piuttosto distanti tra di loro dal punto di vista filogenetico, comprese le specie rare, che hanno adattato la propria strategia di sviluppo a condizioni ambientali più complesse. I livelli intermedi di diversità e metabolismo riscontrati nelle MMW descrivono queste acque come una zona di scambio in cui la comunità non è significativamente diversa da quella osservata nei bacini adiacenti. Lo Stretto di Messina svolge quindi un ruolo cruciale come *hotspot* di diversità fitoplanctonica agendo da collettore attraverso il turnover tra le acque ioniche e tirreniche.

Bibliografia

- CLARKE K.R., GORLEY R.N., SOMERFIELD P.J., WARWICK R.M. (2014) - *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 3rd edition*. PRIMER-E Ltd, Plymouth (UK): 262 pp.
- DECEMBRINI F., CAROPPO C., AZZARO M. (2009) - Size structure and production of phytoplankton community and carbon pathways channelling in the southern Tyrrhenian Sea (Western Mediterranean). *Deep-Sea Res. Pt. II*, **56** (11-12): 687-699.
- LARGIER J.L. (2020) - Upwelling bays: how coastal upwelling controls circulation, habitat, and productivity in bays. *Ann. Rev. Mar. Sci.*, **12**: 415-447.
- MARGALEF R. (1997) - Turbulence and marine life. In: Marrasé C., Saiz E., Redondo J.M. (eds), *Lectures on plankton and turbulence*. *Sci. Mar.*, **61** (Suppl. 1): 109-123.
- OTERO J., ÁLVAREZ-SALGADO X.A., BODE A. (2020) - Phytoplankton diversity effect on ecosystem functioning in a coastal upwelling system. *Front. Mar. Sci.*, **7**: 592255.
- SOCAL G., BUTTINO I., CABRINI M., MANGONI O., PENNA A., TOTTI C. (EDS) (2010) - Metodologie di studio del plancton marino. *Manuali e Linee Guida*, **56**. ISPRA, Roma: 623 pp.
- VARKITZI I., PSARRA S., ASSIMAKOPOULOU G., PAVLIDOU A., KRASAKOPOULOU E., VELAORAS D., PAPATHANASSIOU E., PAGOU K. (2020) - Phytoplankton dynamics and bloom formation in the oligotrophic Eastern Mediterranean: field studies in the Aegean, Levantine and Ionian seas. *Deep-Sea Res. Pt. II*, **171**: 104662.
- ZINGONE A., D'ALELIO D., MAZZOCCHI M.G., MONTRESOR M., SARNO D., LTER-MC TEAM. (2019) - Time series and beyond: multifaceted plankton research at a marine Mediterranean LTER site. *Nat. Conserv.*, **34**: 273-310.

C. FACCA, S. REDOLFI BRISTOL, L. SCAPIN, P. FRANZOI

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica, Università Ca' Foscari di Venezia, Italia.
facca@unive.it

POPOLAMENTI MICROALGALI IN HABITAT A BARENE E LORO CONTRIBUTO ALLA DIETA DEL NECTON

MICROALGAE DISTRIBUTION IN SALTMARSH ECOSYSTEMS AND THEIR CONTRIBUTE TO FISH DIET

Abstract - *Microalgae small-scale distribution was investigated to quantify their trophic role in the complexity of the saltmarsh habitats. Sampling surveys were carried out in 2019 in Venice lagoon (Italy), in three areas, inside the saltmarsh tidal creek (ghebo) and outside it. The nekton community was estimated by seine net and water and surface sediment samples were collected to determine microalgae taxonomic composition and biomass. Mean phytoplankton biomass increased from the more to the less confined area and it was more abundant during summer and outside the ghebo. Microphytobenthos biomass, on the contrary, did not follow the confinement gradient and was more abundant in spring and inside the ghebo. Fish biomass had major density outside the ghebo. However, the juvenile belonging to the genus *Chelon* (30% of nekton community biomass) was found to be more abundant inside the ghebo than outside and their stomachs contained numerous diatoms.*

Key-words: *phytoplankton, microphytobenthos, nekton, saltmarsh, Venice lagoon.*

Introduzione - In aree costiere di bassofondale, la presenza di microalghe non è limitata solamente alle forme fitoplanctoniche, ma possono essere molto abbondanti anche le forme bentoniche (Facca *et al.*, 2002a), il cui ruolo è riconosciuto essere fondamentale per numerosi aspetti. È stato infatti stimato che, in aree costiere prive di copertura vegetale superiore, il microfitobenthos possa essere responsabile di quasi un quarto della produzione primaria (MacIntyre *et al.*, 1996); inoltre, il microfitobenthos ha la capacità di regolare la coesione del sedimento (de Brouwer *et al.*, 2000) ed è il primo colonizzatore di nuovi substrati. La sua fioritura tardo invernale anticipa le successive proliferazioni fitoplanctoniche e delle macrofite (Facca *et al.*, 2002a,b; Tolomio, 2016), rappresentando un importante elemento strutturante per l'habitat e una essenziale risorsa trofica nella catena alimentare. Molti giovanili di specie ittiche che si riproducono in mare, entrano in laguna per sfruttare le risorse e accrescersi durante il periodo che va da fine inverno-inizio primavera all'autunno (Kara e Quignard, 2018). Il presente lavoro descrive la distribuzione spazio-temporale di fitoplancton e microfitobenthos mettendola in relazione con la biomassa di alcune specie del genere *Chelon* Artedi, 1793, nei cui stomaci è stata osservata la presenza di diatomee, con l'obiettivo di evidenziare il ruolo di habitat lagunari peculiari come quelli di barena.

Materiali e metodi - I campionamenti sono stati effettuati con cadenza mensile da marzo a novembre 2019 nel bacino settentrionale della laguna di Venezia, in 3 aree di barena (Fig. 1). In ciascuna area, sono stati raccolti campioni di acqua e sedimento per lo studio delle comunità fitoplanctonica e microfitobentonica lungo il bordo barena e all'interno di un canale tidale (ghebo), per un totale di 6 stazioni. Nelle stesse stazioni, la comunità nectonica è stata campionata con una sciabica da spiaggia a maglia fitta (internodo 2 mm) lunga 10 m e alta 2 m nel sacco centrale. Nel complesso, per ciascun parametro sono stati raccolti e analizzati 54 campioni. Per verificare la distribuzione a piccola scala spaziale del microfitobenthos, in ogni stazione sono state raccolte tre repliche. Nei risultati vengono riportati i dati medi, in quanto la variabilità delle repliche

non è risultata significativa. Un'aliquota di circa 200 ml d'acqua è stata fissata con Lugol (concentrazione finale 1%) per l'analisi della composizione tassonomica e dell'abbondanza cellulare del fitoplancton. Per lo studio della comunità microfitorbentonica sono state prelevate quantità note (circa 2,5 ml) di sedimento superficiale (spessore di circa 1 cm) e sono state diluite in 40 ml di acqua salata artificiale e fissati con Lugol. Per entrambe le comunità, i campioni sono stati analizzati in accordo con il metodo di Utermöhl (1958) al microscopio invertito in contrasto di fase con ingrandimento finale di almeno 400×. Al fine di confrontare le biomasse di fitoplancton e microfitorbenthos con quelle di *Chelon* spp., tutti i valori sono presentati in g/100 m². Per le microalghe la biomassa è stata calcolata come contenuto di carbonio a partire dal biovolume e sulla base delle formule di Edler (1979). Sono stati analizzati i contenuti stomacali di 6 specie ittiche per un totale di circa 500 individui. Di seguito vengono descritti solo i risultati riferiti alle specie *Chelon auratus* Risso, 1810 (n=56 individui), *Chelon ramada* Risso, 1827 (n=214 individui) e *Chelon saliens* Risso, 1810 (n=61 individui), nei cui stomaci erano presenti diatomee. L'elaborazione statistica dei dati è stata fatta usando il software Primer 7 Version 7.0.21 con pacchetto Permanova+1. Tutti i dati sono stati trasformati logaritmicamente e sono state calcolate le matrici di similarità usando la formula di Bray-Curtis al fine di verificare come i popolamenti microalgali caratterizzassero le aree di studio. A tal fine i dati sono stati testati utilizzando la Permutational MANOVA (PERMANOVA) i cui risultati sono stati considerati significativi per $p < 0,05$.

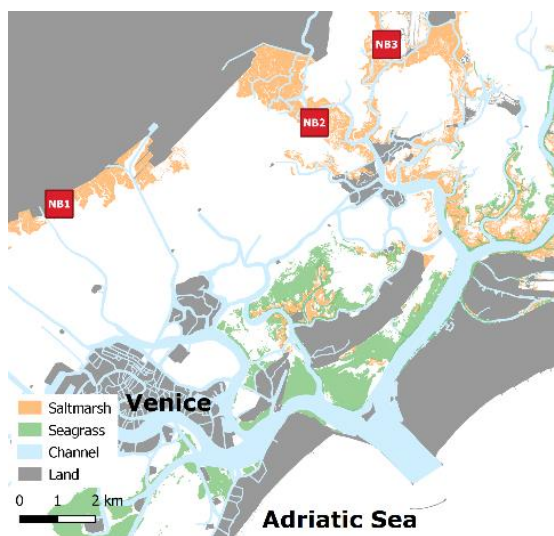


Fig. 1 - Area di studio. NB1=Campalto; NB2=Dese; NB3=Silone.

Study area. NB1=Campalto; NB2=Dese; NB3=Silone.

Risultati - Le biomasse maggiori di fitoplancton sono state osservate nell'area di Campalto, e in particolare nella stazione all'esterno del ghebo (Fig. 2), dove mediamente, nel periodo osservato, i valori hanno superato 150 g/100 m². Nonostante a Campalto si siano registrati i valori maggiori di biomassa, le differenze tra le aree e tra l'esterno e l'interno del ghebo non sono risultate significative (PERMANOVA $p > 0,05$). L'andamento stagionale ha mostrato due picchi, uno alla fine dell'inverno e uno in estate. Dal punto di vista della composizione tassonomica, un importante contributo alla comunità fitoplanctonica è stato dato da diatomee, nanoflagellate e Cryptophyceae. Nella stazione di Campalto sono risultati più abbondanti i taxa tipicamente planctonici, mentre nelle altre stazioni è stato maggiore il contributo delle diatomee, in particolare di quelle bentoniche. La biomassa del microfitorbenthos è stata mediamente più alta all'interno dei ghebi in tutte le barene (Fig. 2), con valori medi sempre maggiori di 400 g/100 m². In questo caso, differenze significative sono state osservate sia tra le aree

che tra le stazioni (PERMANOVA $p < 0,05$). L'andamento stagionale ha mostrato valori di microfitobenthos maggiori alla fine dell'inverno e una costante decrescita durante i mesi successivi. Per quanto riguarda la composizione tassonomica, nei sedimenti sono state rinvenute quasi esclusivamente diatomee, con qualche sporadico contributo di nanoflagellate e dinoflagellate. Le biomasse delle tre specie di *Chelon*, nei cui stomaci è stata osservata la presenza di diatomee, sono risultate maggiori nei ghebi, in particolare nelle aree di Campalto e Silone (Fig. 2). Tuttavia, tali differenze non sono state statisticamente significative (PERMANOVA $p > 0,05$). Diatomee sono state trovate in 169 dei 331 stomaci di *Chelon* spp. analizzati; in dettaglio possedevano diatomee il 23% degli individui di *C. auratus*, il 67% di *C. ramada* ed il 20% di *C. saliens*. Le diatomee presenti erano quasi esclusivamente bentoniche, es. *Gyrosigma* Hassall, *Nitzschia* Hassall, *Navicula* Bory, *Psammodictyon* D.G. Mann, con qualche contributo di epifite, es. *Cocconeis* Ehrenb.

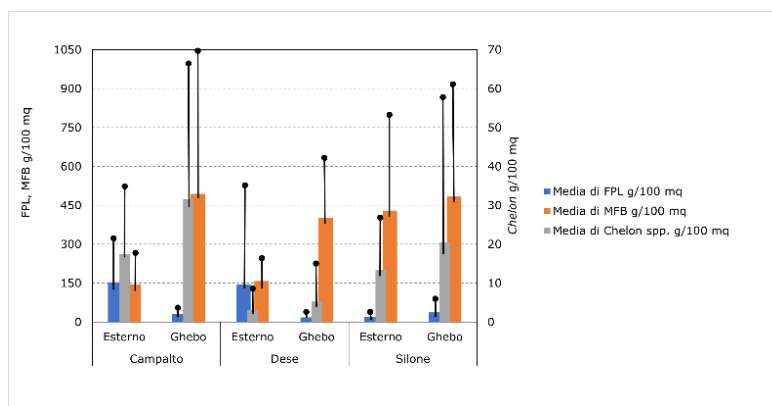


Fig. 2 - Valori medi della biomassa di fitoplancton (FPL), microfitobenthos (MFB) e *Chelon* spp. I dati sono stati mediati per stazione per evidenziare le differenze tra esterno e interno (ghebo) delle barene. Le barre nere rappresentano la deviazione standard.

Mean values of phytoplankton (FPL), microphytobenthos (MFB) and *Chelon* spp. biomass. Data are grouped by station, highlighting the differences between outside and inside (ghebo) of each saltmarsh area. Black bars indicate standard deviation.

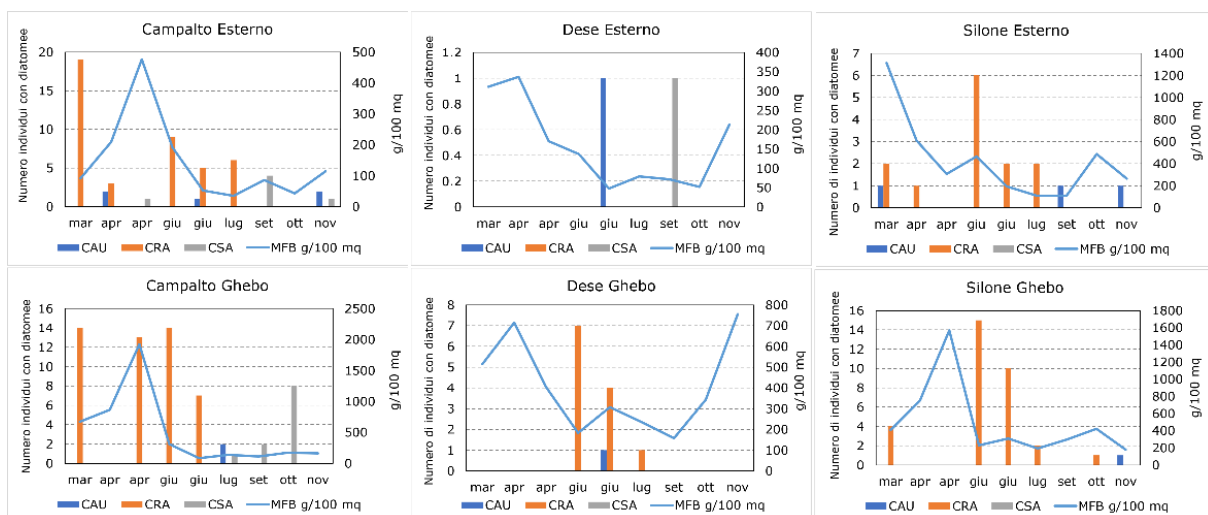


Fig. 3 - Andamento stagionale della biomassa del microfitobenthos (MFB) (linea blu) a confronto con il numero di individui di *Chelon* (istogramma) nei cui stomaci sono state trovate diatomee. CAU=*C. auratus*; CRA=*C. ramada*; CSA=*C. saliens*.

Seasonal trends of microphytobenthos (MFB) biomass (blue line) compared to the number of *Chelon*'s individual (histograms) with diatom containing stomach. CAU=*C. auratus*; CRA=*C. ramada*; CSA=*C. saliens*.

In quasi tutte le stazioni, il picco di biomassa microfitobentonica ha anticipato la presenza di individui di *Chelon* nei cui stomaci erano presenti diatomee (Fig. 3). Questo è stato particolarmente evidente a Dese e Silone, ma il numero di individui è stato maggiore a Campalto. Durante la presenza dei giovanili, nelle stazioni studiate la biomassa di microfitobenthos ha mantenuto i valori più bassi.

Conclusioni - Il microfitobenthos si è confermato essere una risorsa fondamentale per la catena trofica dei bassifondali. La sua biomassa, a pari unità di misura, è stata spesso maggiore rispetto a quella del fitoplancton, soprattutto all'interno delle barene. Sebbene la composizione tassonomica del fitoplancton sia notevolmente influenzata dalla presenza delle forme bentoniche in risospensione, è stato possibile osservare come gli andamenti stagionali e la distribuzione spaziale mantengano differenze peculiari. Confrontando le distribuzioni e gli andamenti di microfitobenthos e fitoplancton con la biomassa di *Chelon* spp., sembra che la loro dieta includa soprattutto le forme microalgali bentoniche. Tali relazioni sembrano confermarsi anche a seguito dello studio della composizione tassonomica dei contenuti stomacali, nei quali sono stati frequenti i ritrovamenti di specie di maggiori dimensioni, come quelle appartenenti al genere *Gyrosigma*, rare nella colonna d'acqua. Inoltre, lo studio del microfitobenthos e della fauna nectonica ha permesso di osservare relazioni tipiche tra «preda» e *grazer*: al picco di biomassa microalgale è seguito quello dei cefali, i quali hanno poi probabilmente esercitato una pressione su tale biomassa per tutto il periodo del reclutamento in laguna. Nonostante le tre aree studiate siano tutte di barena naturale, sono state rilevate differenze significative. In particolare, l'area di Dese ha evidenziato minori biomasse sia per la componente microalgale che nectonica, al contrario di Campalto, in cui probabilmente la fase di reclutamento dei cefali era iniziata anche prima dell'inizio dei campionamenti, come si può osservare dalla presenza di numerosi individui di *C. ramada* già a marzo.

Bibliografia

- DE BROUWER J.F.C., BJELIC S., DE DECKERE E.M.G.T., STAL L.J. (2000) - Interplay between biology and sedimentology in a mudflat (Biezelingse Ham, Westerschelde, The Netherlands). *Cont. Shelf Res.*, **20** (10-11): 1159-1177.
- EDLER L. (1979) - Recommendations on methods for marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and chlorophyll. *Balt. Mar. Biolog. Publ.*, **5**: 1-38.
- FACCA C., SFRISO A., SOCIAL G. (2002a) - Changes in abundance and composition of phytoplankton and microphytobenthos due to increased sediment fluxes in the Venice lagoon, Italy. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **54** (5): 773-792.
- FACCA C., SFRISO A., SOCIAL G. (2002b) - Temporal and spatial distribution of diatoms in the surface sediments of the Venice lagoon. *Bot. Mar.*, **45** (2): 170-183.
- KARA M.H., QUIGNARD J.-P. (2018) - *Fishes in lagoons and estuaries in the Mediterranean 1. Diversity, bioecology and exploitation*. ISTE Ltd, London: 265 pp.
- MACINTYRE H.L., GEIDER R.J., MILLER D.C. (1996) - Microphytobenthos: the ecological role of the "secret garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats. I. Distribution, abundance and primary production. *Estuaries*, **19**: 186-201.
- TOLOMIO C. (2016) - Diatomee epilitiche nella Laguna di Venezia. *Lavori Soc. Ven. Sc. Nat.*, **41**: 51-65.
- UTERMÖHL H. (1958) - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.*, **9** (1): 1-38.

Attività scientifica effettuata con il contributo del Provveditorato Interregionale Opere Pubbliche per il Veneto, Trentino-Alto Adige e Friuli-Venezia Giulia erogato attraverso il Concessionario Consorzio Venezia Nuova e coordinata dal CORILA.

F. NERI¹, T. ROMAGNOLI¹, S. ACCORONI^{1,2}, A. GARZIA¹, M. UBALDI¹, A. PIZZUTI⁴,
A. CAMPANELLI³, F. GRILLI³, M. MARINI^{2,3}, C. TOTTI¹

¹Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.

²FMC, Fano, Italy.

³CNR-IRBIM, Ancona, Italy.

⁴DII, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.

c.totti@univpm.it

PHYTOPLANKTON COMPOSITION AND LONG-TERM VARIATIONS IN TWO COASTAL AND OFFSHORE MARINE SITES (NORTHERN ADRIATIC SEA)

COMPOSIZIONE E VARIAZIONI A LUNGO TERMINE DEL FITOPLANCTON IN UNA STAZIONE COSTIERA E UNA AL LARGO (ADRIATICO SETTENTRIONALE)

Abstract - Two long term (1988-2019) data sets collected at a coastal and offshore stations located in the LTER Senigallia-Susak Transect were compared. The multivariate statistical analysis highlighted the role of the oceanographic conditions in discriminating the study areas. Environmental parameters at the coastal station were more variable and with a marked seasonality due to direct riverine inputs. Different mean annual cycles of physico-chemical parameters and of phytoplankton abundances were found, together with a different community composition. Higher mean abundances values and lower diversity were found at the coastal station, although the two stations were more similar in summer, due to the spreading southeastwards of riverine waters in stratified conditions. Graph network analysis highlighted that species not relevant following the IndVal were able to influence the overall community in both sites. The offshore community showed higher number of strong interactions among species than the coastal one.

Key-words: phytoplankton, LTER, graph-network analysis, diversity, ecosystem comparison.

Introduction - Phytoplankton community dynamics and patterns can highlight changes in the marine ecosystems, as they are directly related to environmental conditions. Therefore, given the high temporal coverage, Long-Term Ecological Research (LTER) marine areas are of crucial importance to detect changes and trends of biogeochemical descriptors in relation to meteorological drivers (Cerino *et al.*, 2019; Totti *et al.*, 2019; Neri *et al.*, 2022). In the Northern Adriatic Sea (NAS), which is one of the most productive areas of the Mediterranean Sea, four LTER marine areas are present. Among these, the Senigallia-Susak Transect (SST) is located in the lower part of the NAS. Since 1988 to 2019, data of phytoplankton (abundances and biomasses) and abiotic parameters were collected in the SST during oceanographic cruises and at a fixed-point observatory, with a ca. monthly frequency. To study the multidimensionality of phytoplankton diversity and changes, a combination of factors should be addressed, combining abundances, biomass, community diversity indices but also functional diversity, which takes into account the role of the organisms in the ecosystems (Lyashevskaya and Farnsworth, 2012; Francé *et al.*, 2021). In this regard, graph-network analysis based on interactions, regardless the type, can give insights into the properties and dynamics of communities (Delmas *et al.*, 2019). In this study we compared environmental conditions and phytoplankton community structure between two stations (one coastal and one offshore), combining the use of different methods, in order to (i) highlight the main forcings affecting the phytoplankton community dynamics, (ii) compare the phytoplankton group abundances, diversity and community structure and (iii) highlight the phytoplankton intra- and interannual variability at the two stations.

Materials and methods - The sampling stations were located along the SST, one coastal (SG01, bottom depth 12 m) and one offshore (SG05, bottom depth 55 m), located at 1.2 and 15 nautical miles from the western NAS coast, respectively. At both stations, environmental parameters (temperature, salinity, dissolved inorganic nitrogen, orthophosphate, silicate) and phytoplankton community composition, abundances and biomass (not presented in this study) were collected from 1988 to 2019 on board of several oceanographic vessels. Although several depths were sampled, only the surface data (0.5 m) of both stations were considered. Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Clustering on Principal Components (HCPC) were performed on environmental parameters and on the main phytoplankton group abundances. Data were scaled to allow comparability. In the offshore station, the interannual trends of physico-chemical parameters and phytoplankton group abundances were investigated through linear regression and analysis of variance (ANOVA), due to a sampling interruption between 2003 and 2012 (on ranked transformed data), respectively. Phytoplankton groups abundances were analysed through Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS), performed on the different seasons. To test for significant differences among the groups, a PERMANOVA was performed and the potential significant dispersion was checked. Shannon diversity index, Pielou's evenness and rarefied richness were used to compare the biodiversity of the two stations and two-samples Wilcoxon test to check statistically significant differences. The phytoplankton community was tested through the IndVal analysis, to identify phytoplankton key species on a seasonal basis. Furthermore, the graph-network analysis was used to investigate the interactions within the phytoplankton community at each station. Pearson correlations were calculated on log transformed species abundance data. Only significant ($p \leq 0.05$) and positive correlations were taken into account. The closeness centrality measure was considered for the analysis. All the data analysis were performed using the R (<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, <https://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>, <https://igraph.org/r/>) and STATISTICA 12 softwares.

Results - At both stations, the mean annual cycle of physico-chemical parameters showed a seasonal behaviour, although with different periods of minima and maxima. Salinity showed a different behaviour, as the minimum was found in December and June in the coastal and offshore stations, respectively. At the coastal station, the nutrients showed the maxima in spring and summer and the minima in December. Instead, offshore the maximum of DIN (Dissolved Inorganic Nitrogen), PO_4 and $Si(OH)_4$ were found in November, June and January, respectively. A peak of DIN was observed in summer. These peaks and maxima of DIN and PO_4 at the offshore stations are related to the spreading of riverine waters in stratified conditions. The mean annual cycle of phytoplankton differed between the two stations (Fig. 1). At the coastal station, the maxima were observed in winter, followed by other peaks in spring and autumn, while the minimum in summer. Offshore, diatoms, dinoflagellates and phytoflagellates showed the annual maximum in June, in concomitance with high values of DIN and PO_4 , while the coccolithophores in April. Important interannual trends (increases in temperature, DIN, PO_4 and decreases of coccolithophores) were also found at both stations. The PCA performed on physico-chemical parameters highlighted that the discrimination between coastal and offshore stations was primarily driven by DIN, followed by Salinity, $Si(OH)_4$ and DIN/PO_4 and that the coastal station was more variable than the offshore one. This was also confirmed by the HCPC, as SG01 clustered in three

groups, while SG05 only in one. A pattern similar to that of physical and chemical parameters was also observed with the PCA and HCPC performed on the main phytoplankton group abundances. The NMDS analysis found a higher difference, in terms of phytoplankton group abundances, in winter and autumn, although the PERMANOVA showed a significant difference in all the seasons ($p < 0.001$). Significant dispersion values were found in winter and autumn ($p < 0.001$), as a high variability of coastal samples can be observed (as highlighted also by HCPC analysis). Considering the mean abundances of the main phytoplankton group for each season, higher values were found at the coastal station than at the offshore, with the exception of coccolithophores that in winter showed significantly higher values at offshore than at the coastal station. The diversity was higher offshore than at the coastal station. All the three indices were found to be significantly higher in SG05 than in SG01 ($p < 0.001$), while no difference was observed in summer. In spring, Evenness and Rarefied Richness were significantly higher offshore than in the coastal station ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively). The IndVal analysis revealed some similarities in terms of significant seasonal species (e.g. *Skeletonema marinoi* Sarno & Zingone in the winter communities of both stations) and differences (e.g. *Guinardia striata* (Stolterf.) Hasle in the offshore autumn community, not present as an indicator in the coastal station). The Graph-Network analysis showed that the taxa that are not considered as indicator following the IndVal, were the ones characterized by high values of closeness in both sites. The offshore networks showed a higher percentage of strong interactions, than the coastal ones.

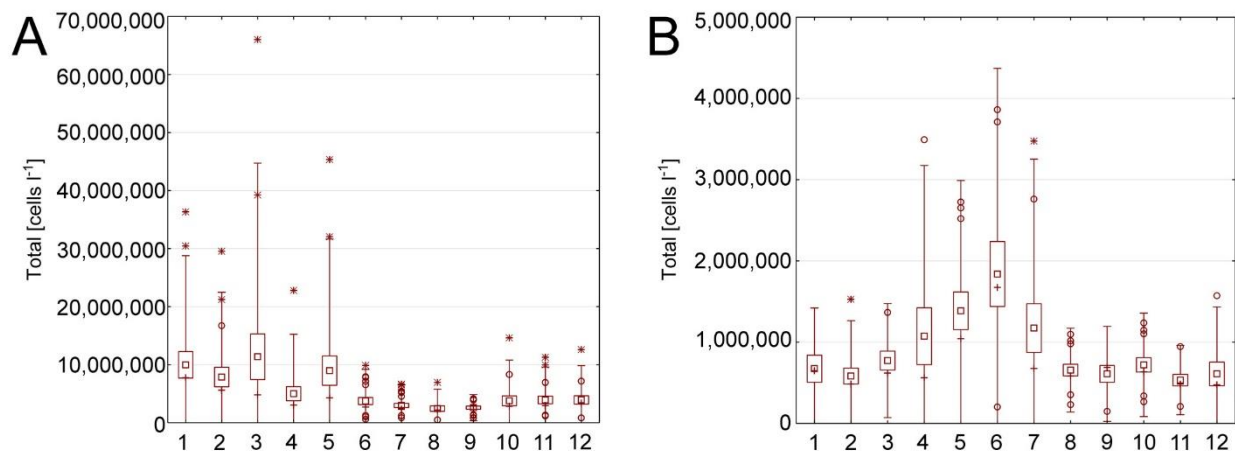


Fig. 1 - Mean annual cycle, on a monthly basis, of total phytoplankton abundances at the coastal (A) and offshore (B) stations.

Ciclo annuale medio su base mensile delle abbondanze del fitoplancton totale alla stazione costiera (A) e al largo (B).

Conclusions - In this study we showed the role of the riverine inputs and of the spreading of fresher and nutrient-rich waters during stratified conditions in discriminating the two stations of the transect and in affecting the phytoplankton community. The statistical analysis highlighted that the offshore station was more stable than the coastal one, as revealed by the HCPC, and that the two stations were more similar in summer, as showed by the NMDS and the diversity indices. Indeed, the coastal area was affected by the riverine waters from the Northern Adriatic, which are conveyed by the Western Adriatic Current (WAC), reducing salinity and increasing nitrate and silicate concentrations (Artegiani *et al.*, 1997), those factors discriminating the coastal

sampling points in the PCA. On the contrary, the offshore station, located beyond the WAC, was affected by riverine inputs only in stratified conditions (Neri *et al.*, 2022) and was more stable throughout the year. As the effect of the riverine input rivers was more evident along the coast than offshore, higher phytoplankton abundances were found always in the coastal site (with the exception of winter coccolithophores, that were higher in SG05), while diversity values were higher in SG05, as already found in other oligotrophic areas (Varkitzi *et al.*, 2020; Francé *et al.*, 2021). The effect of the different environmental conditions and oceanographic circulation along the SS transect was reflected in a different mean annual cycle of nutrients and phytoplankton and in differences in the community composition, as highlighted by the IndVal. Graph network analysis highlighted that taxa not indicator of a certain season (following the IndVal) were the ones with high values of closeness, and thus able to influence the overall community (in both sites) as they were more homogeneously distributed throughout the year. On the contrary, the indicator taxa were more or less strictly related to the specific environmental conditions of a certain period. In the offshore network, where stronger relationships were observed due to the lower seasonal behaviour and higher stability, the lowest percentage of strong correlations was found in summer, underlying again the role of water stratification in affecting phytoplankton community. Important interannual trends have been highlighted at both stations, underlying the importance of long term observational studies.

References

- ARTEGIANI A., BREGANT D., PASCHINI E., PINARDI N., RAICICH F., RUSSO A. (1997) - The Adriatic Sea general circulation. Part II: baroclinic circulation structure. *J. Phys. Oceanogr.*, **27** (8): 1515-1532.
- CERINO F., FORNASARO D., KRALJ M., GIANI M., CABRINI, M. (2019) - Phytoplankton temporal dynamics in the coastal waters of the north-eastern Adriatic Sea (Mediterranean Sea) from 2010 to 2017. *Nat. Conserv.*, **34**: 343-372.
- DELMAS E., BESSON M., BRICE M.-H., BURKLE L.A., DALLA RIVA G.V., FORTIN M.-J., GRAVEL D., GUIMARÃES P.R. JR., HEMBRY D.H., NEWMAN E.A., OLESEN J.M., PIRES M.M., YEAKEL J.D., POISOT T. (2019) - Analysing ecological networks of species interactions. *Biol. Rev.*, **94** (1): 16-36.
- FRANCÉ J., VARKITZI I., STANCA E., COZZOLI F., SKEJIĆ S., UNGARO N., VASCOTTO I., MOZETIČ P., NINČEVIĆ GLADAN Ž., ASSIMAKOPOULOU G., PAVLIDOU A., ZERVOUDAKI S., PAGOU K., BASSET A. (2021) - Large-scale testing of phytoplankton diversity indices for environmental assessment in Mediterranean sub-regions (Adriatic, Ionian and Aegean seas). *Ecol. Indic.*, **126**: 107630.
- LYASHEVSKA O., FARNSWORTH K.D. (2012) - How many dimensions of biodiversity do we need? *Ecol. Indic.*, **18**: 485-492.
- NERI F., ROMAGNOLI T., ACCORONI S., CAMPANELLI A., MARINI M., GRILLI F., TOTTI C. (2022) - Phytoplankton and environmental drivers at a long-term offshore station in the northern Adriatic Sea (1988-2018). *Cont. Shelf Res.*, **242**: 104746.
- TOTTI C., ROMAGNOLI T., ACCORONI S., COLUCELLI A., PELLEGRINI M., CAMPANELLI A., GRILLI F., MARINI M. (2019) - Phytoplankton communities in the northwestern Adriatic Sea: interdecadal variability over a 30-years period (1988-2016) and relationships with meteorological drivers. *J. Mar. Syst.*, **193**: 137-153.
- VARKITZI I., PSARRA S., ASSIMAKOPOULOU G., PAVLIDOU A., KRASAKOPOULOU E., VELAORAS D., PAPANATHASSIOU E., PAGOU K. (2020) - Phytoplankton dynamics and bloom formation in the oligotrophic Eastern Mediterranean: field studies in the Aegean, Levantine and Ionian seas. *Deep-Sea Res. Pt. II*, **171**: 104662.

INDICI

INDICE GENERALE

"Forme emergenti di inquinamento ambientale in mare"

ANDRENACCI M., OCCHIPINTI AMBROGI A., CANESSA E., FAIMALI M. - La biologia marina come nuova disciplina forense	1
ASNICAR D., MARISA I., MATOZZO V., MARIN M.G. - Stress ossidativo in <i>Ruditapes philippinarum</i> dopo esposizione a nanoparticelle.....	5
CASABIANCA S., BELLINGERI A., CAPELLACCI S., FALERI C., PACCAGNINI E., LUPETTI P., KOELMANS A., PENNA A., CORSI I. - Impact of polystyrene nanoparticles on diatom <i>Skeletonema marinoi</i> chain assemblages and consequences on their ecological role in marine ecosystems	9
CASCIARO L., ZUPA W., BITETTO I., IKICA Z., ĐUROVIĆ M., PALLUQI A., KULE M., CARBONARA P., MILONE N., LEMBO G., SPEDICATO M.T. - Marine macro-litter characterization in the South Adriatic Sea using MEDITS data.....	13
COLELLA S., GIROLAMETTI F., PANFILI M., ANNIBALDI A., ILLUMINATI S., MARINI M., SANTOJANNI A., TRUZZI C., FRAPICINI E. - Somatic indices in relation to pollutants in European hake (<i>Merluccius merluccius</i>) from the Adriatic Sea: preliminary results	17
DENTI G., FANELLI G., TISCAR P.G., PAOLETTI B., HATTAB J., MASTROTOTARO F., CARELLA F., VILLARI G., MONTESANTO F., CHIMIENTI G., RUBINO F. - Mass mortality of <i>Pinna nobilis</i> Linnaeus, 1758 (Mollusca, Bivalvia) in the Taranto and Tremiti Islands populations: citizen science to help scientists.....	21
GRAZIOLI E., BARONE L., MORUZZI L., GRANATA T., MASSARA F., RENZI M. - Segnalazione di <i>marine litter</i> durante le campagne di rilievo effettuate nel Golfo di Napoli (Mar Tirreno, Mar Mediterraneo Orientale)	25
MANFRIN C., CIRIACO S., SEGARICH M., FIORAVANTI M., TEDESCO P., FLORIO D., CARELLA F., GIULIANINI P.G., TERLIZZI A., PALLAVICINI A., SPOTO M. - First	

detection of <i>Haplosporidium pinnae</i> (Haplosporida) in <i>Pinna nobilis</i> inhabiting the Gulf of Trieste	29
PACINI M., BONIFAZI A., GIAMPAOLETTI J., CASOLI E., MANCINI G., VALENTE T., VENTURA D. - Preliminary data concerning microplastic contamination among juvenile fish of sparid species: evidence from gut contents analysis	33
PICCARDO M., PITTURA L., GORBI S., TERLIZZI A., SORDINO P., LAUDET V. - Plasticnemo: first ecotoxicological assessment of nanoplastics in the clownfish <i>Amphiprion ocellaris</i> (Cuvier, 1830)	37
SANNA G., SANNA F., PIGA C., CULURGIONI J., DICIOTTI R., FOIS N., FLORIS R. - Fillet metal content of wild mullets from a Mediterranean coastal lagoon (Santa Giusta, Western Sardinia) along different seasons	41
SUSMEL S., DANISO E., COCCHI M., TULLI F. - Immunoassay optimisation for okadaic acid detection in mussels	45
VIT M., BEN AISSA S., TULLI F., SUSMEL S. - Okadaic acid (OA) detection: optimisation of an electrochemical aptasensor	49

"Cambiamenti climatici e acidificazione degli oceani"

ALIENDE M., BUSSELO A., NARÉ M., SAHUQUILLO M.A., IACONO G., IACONO C., MICCIO A., GAMBI M.C. – Abundance and size structure of <i>Patella</i> spp. (Mollusca, Gastropoda) under ocean acidification conditions at CO ₂ vents (Ischia Island, Italy).....	53
AZZOLA A., BIANCHI C.N., MANGRAVITI S., REDOANO C., VARENNE A., MORRI C., OPRANDI A., MONTEFALCONE M. - A novel driver of change for benthic communities: the mucilaginous event of summer 2018 at Portofino (Ligurian Sea).....	57
CANESSA M., BAVESTRELLO G., TRAINITO E., NAVONE A., CATTANEO-VIETTI R. – Stabilità del substrato e struttura delle comunità bentoniche in microambienti confinati	61
CHIMIENTI G., LISCO A., BOTTALICO A., MASTROTOTARO F. - Effects of massive macroalgal	

epibiosis on the red gorgonian <i>Paramuricea clavata</i> (Cnidaria, Anthozoa).....	65
DENTICO C., GIANI M., URBINI L., KRALJ M., RELITTI F., BAZZARO M., FABBRO C., DE VITTOR C. - Cambiamenti climatici e acidificazione nelle acque costiere del Golfo di Trieste (Mar Adriatico)	69
GUASTELLA R., MARCHINI A., EVANS J., CARUSO A., LANGONE L., LECCI R., MANCIN N. - L'invasione di <i>Amphistegina lobifera</i> (Foraminifera) "sull'onda" del riscaldamento del Mar Mediterraneo	73
MONTEFALCONE M., AZZOLA A., FRUSTI C., INCANI M., MORRI C., OPRANDI A., BIANCHI C.N. - Changes in the benthic community of the marine cave "Grotta Azzurra" of Capo Palinuro (Salerno, Italy) after 26 years.....	77
MONTEFALCONE M., OPRANDI A., AZZOLA A., MORRI C., BIANCHI C.N. - The tale of the Maldivian coral reefs after repeated coral bleaching	81
NICOLETTI L., ZUCCHETTA M., PROIETTI R., DASTOLI S., SINAPI L., BOSCOLO R., FEOLA A., PONIS E., BONOMETTO A., BRATUS A., BEZZI A., BONALDO D. - Temporal evolution of the distribution of seagrass meadows in the Banco della Mula di Muggia (Adriatic Sea) to build a habitat suitability model within the CHANGE WE CARE project	85
ZUNINO S., LIBRALATO S., CANU D., PRATO G., SOLIDORO C. - Food web analysis to assess the ecosystem responses driven by ocean acidification	89

"Conservazione e ripristino di habitat marini"

ACUNTO S., LEONE L.M., PIAZZI L. - Ripristino delle praterie di <i>Posidonia oceanica</i> tramite tecniche di ingegneria naturalistica e l'uso di materiali biodegradabili.....	93
AGNETTA D., LIBRALATO S. - Valutazione di <i>trade-offs</i> e resilienza degli ecosistemi marini: un approccio ecosistemico	97
BACCI T., SCARDI M., CALVO S., TOMASELLO A., BADALAMENTI F., VALIANTE L.M., DI NUZZO F., RAIMONDI V., ASSENZO M., PIAZZI L., CECCHI E., ZENONE A., PENNA M., TOMASSETTI P., BERTASI F., LA	

PORTA B. - <i>Posidonia oceanica</i> shoot micro-distribution patterns in a 13 year old transplant site.....	101
BEVILACQUA S. - Incongruenza dei pattern di β -diversità compositiva e funzionale: implicazioni per le strategie di conservazione dell'ambiente marino	105
BONIFAZI A., ARGENTI L., CHIOTA D., AGUZZI L., VIAGGIU E. - Monitoraggio dei rifiuti marini negli habitat a coralligeno e nei fondali a rodoliti, secondo la Direttiva europea Strategia Marina (2008/56/CE), lungo le coste laziali (Italia)	109
CARONNI S., CECCHERELLI G., CITTERIO S., DELARIA M.A., GENTILI R., MONTAGNANI C., NAVONE A., PANZALIS P., BASSO D. - L'importanza della forma nelle performance di alghe coralline soggette a stress: implicazioni per la conservazione	113
CASOLI E., VENTURA D., MANCINI G., BELLUSCIO A., ARDIZZONE G.D. - Recovery of marine ecosystems in the Mediterranean: the case of Giglio Island	117
CIRIACO S., FALACE A., KALEB S., SEGARICH M., GORDINI E., FARESI L., BORME D., BETTOSO N., BANDELJ V., MALFATTI F., CIBIC T., DEL NEGRO P. - Habitat biogenici e mesofotici dell'Alto Adriatico	121
CIRIACO S., FANTIN M., SCRIGNER C., FARESI L., FURFARO G., TRAINITO E., SEGARICH M., SPOTO M. - Aggiornamento della presenza di "nudibranchi" nel Golfo di Trieste - Il valore della <i>citizen science</i>	125
CURIEL D., RISMONDO A., MIOTTI C., CHECCHIN E., PIERINI A., MOLIN E., JAKL Z. - Il progetto INTERREG Italia-Croazia <i>SASPAS</i> per la salvaguardia delle praterie a fanerogame: risultati preliminari	129
DE BIASI A.M., PACCIARDI L., PERTUSATI M., CINTI M.F., PIAZZI L., PORCHERA A. - Monitoraggio e gestione dell'Area Marina Protetta delle Secche della Meloria	133
FACCA C., CAVRARO F., REDOLFI BRISTOL S., SCAPIN L., FRANZOI P. - Importanza conservazionistica delle barene nel reclutamento dei giovanili di mugilidi	137
FERRANTI M.P., GUALLART J., ASNAGHI V., CHIANTORE M. - Update on the current distribution of <i>Patella ferruginea</i> Gmelin, 1791 (Mollusca, Gastropoda) along the Italian coasts	141

FRAU F., ACUNTO S., ATZORI F., CINTI M.F. - Ripristino della prateria di <i>Posidonia oceanica</i> mediante tecniche di ingegneria naturalistica nell'Area Marina Protetta Capo Carbonara (Sud Sardegna)	145
GIANNI F., BANDELJ V., ABBIATI M., CALCINAI B., CARAGNANO A., CIRIACO S., COSTANTINI F., KALEB S., LAURENT C., PONTI M., PUCE S., QUERIN S., RINDI F., SOLIDORO C., TURICCHIA E., FALACE A. - Benthic assemblages of biogenic reefs in the northern Adriatic Sea: synthesis and new insight	149
GRANCAGNOLO D., MIRASOLE A., CHEMELLO R. - Prima valutazione della biodiversità dello "Scoglio della Formica" (Tirreno meridionale) e delle sue minacce	153
LA PORTA B., LUCIA V., PAGANELLI D., PENNA M., D'ANNA C., PACIONE T., CACCIUNI A., TARGUSI M., BERTASI F., SCARDI M., BADALAMENTI F., D'ANNA G., PIPITONE C., ZENONE A., CALVO S., TOMASELLO A., MANCUSI C., CECCHI E., BULLERI C., SOZZI F., CONCONI S., PIAZZI A., BACCI T. - Il trapianto di <i>Posidonia oceanica</i> : quale compensazione?.....	157
PITACCO V., MISTRI M., ORLANDO-BONACA M., MUNARI C., MAVRIČ B., LIPEJ L. - Hidden mollusc richness in a small protected transitional water body: is this diversity at risks?	161
TOMIO Y., BUOSI A., JUHMANI A.-S., SFRISO A.A., SFRISO A. - Aggiornamento della produzione primaria di fanerogame acquatiche in Laguna di Venezia.....	165
VISCONTI G., CAMBERA I., ARCULEO M. - Monitoring and management of nesting sites of <i>Caretta caretta</i> (Cheloniidae) in the MPA Pelagie Islands.....	169

Comitato Acquacoltura

ALGIERI C., NESCI S., TROMBETTI F., VENTRELLA V., FABBRI M., PAGLIARANI A. - Insensibilità all'idrogeno solforato delle attività ATPasiche mitocondriali in <i>Mytilus galloprovincialis</i>	173
STABILI L., ACQUAVIVA M.I., CECERE E., GIANGRANDE A., LICCIANO M., NARRACCI M., PETROCELLI A., PORTACCI G., CAVALLO R.A. - Analisi microbiologiche delle biomasse di macroalghe e policheti in un sistema integrato di maricoltura.....	177

TRANI R., DE PINTO M.C., SCRASCIA M., CORRIERO G., LONGO C. - Sperimentazione di un modello multitrofico per il biorisanamento in acquacoltura	181
--	-----

Comitato Benthos

BERNARELLO V., DEL PASQUA M., CACCIATORE F., CORNELLO M., OSELLADORE F., PONIS E., GIROLIMETTO A., NOVELLO M., ZORZI M., BON D., PARATI P., BONOMETTO A., BOSCOLO BRUSÁ R. - Struttura e diversità della comunità macrozoobentonica di fondo mobile nell'ambito del monitoraggio ecologico della Laguna di Venezia.....	185
BISANTI L., BOTTINI B., MILAZZO M., CHEMELLO R. - Spatial distribution of <i>Dendropoma cristatum</i> (Mollusca, Gastropoda) adult biomass on a vermetid reef	189
BOTTINI B., BISANTI L., MILAZZO M., CHEMELLO R. - Coastal accessibility as vulnerability factor for <i>Patella ulyssiponensis</i> Gmelin, 1791 in a Mediterranean MPA.....	193
LO BUE G., MANCIN N., RICCARDI M.P., MARCHINI A. - Presenza di gusci di foraminiferi nei tubi di <i>Sabellaria alveolata</i> (Annelida, Polychaeta): selezione o scelta casuale?	197
OLIVA D., GUASTELLA R., LOURIE M., MANCIN N., FERRARIO J., MARCHINI A. - Impatto della specie invasiva <i>Amphistegina lobifera</i> sulla struttura di comunità a foraminiferi bentonici nel Canale di Sicilia.....	201
PESSANI D., LIGORIO P., NURRA N., BATTUELLO M., MUSSAT SARTOR R., FAVARO L. - Forma e taglia della conchiglia sono sesso-dipendenti nel paguro <i>Clibanarius erythropus</i>	205
RIGHI S., Malferrari D., Prevedelli D., Savioli M. - Cave e calcaree: ultrastruttura e costituenti minerali delle chete di <i>Hermodice carunculata</i> (Annelida).....	209
TAMBURINI M., FERRARIO J., MARCHINI A., PIAZZA A., LO VULLO M., OCCHIPINTI AMBROGI A. - Are fouling non-indigenous species invading Porto Venere bay? An assessment through image analysis	213
ZANETTI F., FAI S., FABRONI F., SIMONINI R., RIGHI S. - Caratteri morfometrici del verme di fuoco <i>Hermodice carunculata</i> (Annelida): confronto tra popolazioni	217

Comitato Necton e Pesca

CASCIARO L., BITETTO I., DONNALOIA M., GAUDIO P., PALMISANO M., CARBONARA P. - Ageing and reproduction of <i>Spicara smaris</i> (Linnaeus, 1758) in the southern Adriatic Sea and western Ionian Sea	221
LIGAS A., CARBONARA P., CASCIARO L., FALSONE F., FOLLESA M.C., GANCITANO V., GAUDIO P., NEGLIA C., PESCI P., PROFETA A., PULCINELLA J., RINELLI P., SANTOJANNI A., MASSARO A. - Pilot study on the incidental by catch of vulnerable species in the bottom trawl fisheries in Italy	225
MELIADÒ E., BAVESTRELLO G., LIBRALATO S., PETRILLO M., CATTANEO-VIETTI R., CIPRIANO G., RICCI P., INGROSSO M., CARLUCCI R. - The underwater lamp for fishing small pelagics used between 1912 and 1942 in Italy: a historical anecdote	229
NERI A., MANCUSI C., VOLIANI A., MARSILI L. - Alimentazione di <i>Squalus blainville</i> (Risso, 1827) (Chondrichthyes) nel Mar Ligure meridionale (Mediterraneo nord-occidentale).....	233
REDOLFI BRISTOL S., CAVRARO F., SCAPIN L., ZUCCHETTA M., FRANZOI P. - Distribution of grey mullets juveniles along an environmental gradient in Venice Lagoon	237
SARTOR P., ANCONA F., ANIBALDI A., CALÍ F., CAPEZZUTO F., CARBONARA P., D'IGLIO C., DONNALOIA M., FOLLESA M.C., GIORDANO D., MASSI D., MULAS A., PANFILI M., SANTOJANNI A., SARTINI M., STAGIONI M., TITONE A. - Trophic ecology of <i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus, 1758): first results of a coordinated study in the Italian seas.....	241

Comitato Plancton

CARUSO G., GIACOBBE M.G., CAO X., SONG C., AZZARO F., DECEMBRINI F., LEONARDI M., ZHOU Y.Y. - Bacteria-phytoplankton interactions in a coastal Mediterranean area affected by harmful algal blooms (Syracuse Gulf, Ionian Sea).....	245
MUSSAT SARTOR R., BATTUELLO M., CARACAUSI L., FAVARO L., NURRA N., PESSANI D. - Presenza	

dell'ittioplancton in Mar Ligure orientale in differenti mesi e batimetrie	249
PENNA A., BALDRIGHI E., PENNA P., RICCI F., MORO F., FERRARIN C., GRILLI F., MARINCHEL N., CAMPANELLI A., BETTI M., CAPELLACCI S., CASABIANCA S., BOLOGNINI L., ROMEI M., MARINI M., MANINI E. - WATERCARE Project: how to improve bathing and coastal water management from microbial contamination	253

Sessione Vari

FERRARI V., SIMONINI R., PREVEDELLI D., RIGHI S. - Presenza di un composto infiammatorio correlato alla complanina nel verme di fuoco <i>Hermodice carunculata</i> (Annelida).....	257
PROFETA A., GIORDANO D., PERDICHIZZI A., ARMELIMINICANTE E., D'IGLIO C., PORCINO N., SALVATI D., SORACI F., RINELLI P. - <i>Marine litter</i> nel Mar Tirreno centrale e meridionale: monitoraggio dei detriti bentonici sui fondali strascicabili	261

Workshop Cetacei

ALESSI J., DI GANGI A., MANDICH A., VANACORE A., PASSONI M., VISCONTI G. - The involvement of artisanal fishermen in cetacean monitoring in the Marine Protected Area of the Pelagie Islands.....	265
GNONE G., BELLINGERI M., BOCCHI F., MARTINETTO S., VERGA A., VASSALLO P. - Distribuzione di zifio e capodoglio nelle acque del Pelagos genovese	269
GRATTAROLA C., MATTIODA V., GAROFOLO G., DE MASSIS F., PETRELLA A., LUCIFORA G., DI FRANCESCO G., DI GUARDO G., PAUTASSO A., IULINI B., VARELLO K., GIORDA F., GARIBALDI F., GORIA M., DONDO A., ZOPPI S., DI FRANCESCO C.E., GIGLIO S., FERRINGO F., SERRECCHIA L., FERRANTINO M.A.R., JANOWICZ A., TITTARELLI M., MIGNONE W., CASALONE C. - Infezione da <i>Brucella ceti</i> (Bacteria) nei cetacei in Italia	273
MELIADÒ E., BAVESTRELLO G., GNONE G., CATTANEOVIETTI R., CIPRIANO G., RICCI P., INGROSSO M.,	

CARLUCCI R. - Dolphin hunting in Italian seas from 1868 to 1937	277
MUSSI B., IACONO A.G., STAFFELLI A., RUSSO G.F., LUCIDI P. - Fishing activities overlap with bottlenose dolphin core habitats of Ischia and Procida Islands	281
SANTACESARIA F.C., FANIZZA C., BELLOMO S., CRUGLIANO R., POLLAZZON V., CIPRIANO G., RICCI P., CARLUCCI R. - Evidence of shark attack on a bottlenose dolphin in the Gulf of Taranto (northern Ionian Sea, central-eastern Mediterranean Sea)	285

Sessione Speciale dedicata a Giorgio Socal

CAROPPO C., AZZARO F., BERGAMASCO A., CARUSO G., DECEMBRINI F. - Effetti del <i>mixing</i> sulla diversità ed attività fitoplanctonica nell'area dello Stretto di Messina	289
FACCA C., REDOLFI BRISTOL S., SCAPIN L., FRANZOI P. - Popolamenti microalgali in habitat a barene e loro contributo alla dieta del necton.....	293
NERI F., ROMAGNOLI T., ACCORONI S., GARZIA A., UBALDI M., PIZZUTI A., CAMPANELLI A., GRILLI F., MARINI M., TOTTI C. - Phytoplankton composition and long-term variations in two coastal and offshore marine sites (northern Adriatic Sea)	297

INDICE per AUTORI

A

ABBIATI M. 149
ACCORONI S. 297
ACQUAVIVA M.I. 177
ACUNTO S. 93, 145
AGNETTA D. 97
AGUZZI L. 109
ALESSI J. 265
ALGIERI C. 173
ALIENDE M. 53
ANCONA F. 241
ANDRENACCI M. 1
ANIBALDI A. 241
ANNIBALDI A. 17
ARCULEO M. 169
ARDIZZONE G.D. 117
ARGENTI L. 109
ARMELI-MINICANTE E. 261
ASNAGHI V. 141
ASNICAR D. 5
ASSENZO M. 101
ATZORI F. 145
AZZARO F. 245, 289
AZZOLA A. 57, 77, 81

B

BACCI T. 101, 157
BADALAMENTI F. 101, 157
BALDRIGHI E. 253
BANDELJ V. 121, 149
BARONE L. 25
BASSO D. 113
BATTUELLO M. 205, 249
BAVESTRELLO G. 61, 229, 277
BAZZARO M. 69
BELLINGERI A. 9
BELLINGERI M. 269
BELLOMO S. 285
BELLUSCIO A. 117
BEN AISSA S. 49
BERGAMASCO A. 289
BERNARELLO V. 185
BERTASI F. 101, 157
BETTI M. 253
BETTOSO N. 121
BEVILACQUA S. 105
BEZZI A. 85
BIANCHI C.N. 57, 77, 81
BISANTI L. 189, 193
BITETTO I. 13, 221
BOCCHI F. 269
BOLOGNINI L. 253
BON D. 185
BONALDO D. 85

BONIFAZI A. 33, 109
BONOMETTO A. 85, 185
BORME D. 121
BOSCOLO BRUSÁ R. 185
BOSCOLO R. 85
BOTTALICO A. 65
BOTTINI B. 189, 193
BRATUS A. 85
BULLERI C. 157
BUOSI A. 165
BUSSELO A. 53

C

CACCIATORE F. 185
CACCIUNI A. 157
CALCINAI B. 149
CALÍ F. 241
CALVO S. 101, 157
CAMBERA I. 169
CAMPANELLI A. 253, 297
CANESSA E. 1
CANESSA M. 61
CANU D. 89
CAO X. 245
CAPELLACCI S. 9, 253
CAPEZZUTO F. 241
CARACAUSI L. 249
CARAGNANO A. 149
CARBONARA P. 13, 221, 225, 241
CARELLA F. 21, 29
CARLUCCI R. 229, 277, 285
CARONNI S. 113
CAROPPO C. 289
CARUSO A. 73
CARUSO G. 245, 289
CASABIANCA S. 9, 253
CASALONE C. 273
CASCIARO L. 13, 221, 225
CASOLI E. 33, 117
CATTANEO-VIETTI R. 61, 229, 277
CAVALLO R.A. 177
CAVRARO F. 137, 237
CECCHERELLI G. 113
CECCHI E. 101, 157
CECERE E. 177
CHECCHIN E. 129
CHEMELLO R. 153, 189, 193
CHIANTORE M. 141
CHIMIENTI G. 21, 65
CHIOTA D. 109
CIBIC T. 121
CINTI M.F. 133, 145
CIPRIANO G. 229, 277, 285
CIRIACO S. 29, 121, 125, 149

CITTERIO S. 113
COCCHI M. 45
COLELLA S. 17
CONCONI S. 157
CORNELLO M. 185
CORRIERO G. 181
CORSI I. 9
COSTANTINI F. 149
CRUGLIANO R. 285
CULURGIONI J. 41
CURIEL D. 129

D

DANISO E. 45
D'ANNA C. 157
D'ANNA G. 157
DASTOLI S. 85
DE BIASI A.M. 133
DECEMBRINI F. 245, 289
DELARIA M.A. 113
DEL NEGRO P. 121
DEL PASQUA M. 185
DE MASSIS F. 273
DENTI G. 21
DENTICO C. 69
DE PINTO M.C. 181
DE VITTOR C 69
DICCIOTTI R. 41
DI FRANCESCO C.E. 273
DI FRANCESCO G. 273
DI GANGI A. 265
D'IGLIO C. 241, 261
DI GUARDO G. 273
DI NUZZO F. 101
DONDO A. 273
DONNALOIA M. 221, 241
ĐUROVIĆ M. 13

E

EVANS J. 73

F

FABBRI M. 173
FABBRO C. 69
FABRONI F. 217
FACCA C. 137, 293
FAI S. 217
FAIMALI M. 1

FALACE A. 121, 149
FALERI C., 9
FALSONE F. 225
FANELLI G. 21
FANIZZA C. 285
FANTIN M. 125
FARESI L. 121, 125
FAVARO L. 205, 249
FEOLA A. 85
FERRANTI M.P. 141
FERRANTINO M.A.R. 273
FERRARI V. 257
FERRARIN C. 253
FERRARIO J. 201, 213
FERRINGO F. 273
FIORAVANTI M. 29
FLORIO D. 29
FLORIS R. 41
FOIS N. 41
FOLLESA M.C. 225, 241
FRANZOI P. 137, 237, 293
FRAPICCINI E. 17
FRAU F. 145
FRUSTI C. 77
FURFARO G. 125

G

GAMBI M.C. 53
GANCITANO V. 225
GARIBALDI F. 273
GAROFOLO G. 273
GARZIA A. 297
GAUDIO P. 221, 225
GENTILI R. 113
GIACOBBE M.G. 245
GIAMPAOLETTI J. 33
GIANGRANDE A. 177
GIANI M. 69
GIANNI F. 149
GIGLIO S. 273
GIORDA F. 273
GIORDANO D. 241, 261
GIROLAMETTI F. 17
GIROLIMETTO A. 185
GIULIANINI P.G. 29
GNONE G. 269, 277
GORBI S. 37
GORDINI E. 121

GORIA M. 273
GRANATA T. 25
GRANCAGNOLO D. 153
GRATTAROLA C. 273
GRAZIOLI E. 25
GRILLI F. 253, 297
GUALLART J. 141
GUASTELLA R. 73, 201

H

HATTAB J. 21

I

IACONO A.G. 281
IACONO C. 53
IACONO G. 53
IKICA Z. 13
ILLUMINATI S. 17
INCANI M. 77
INGROSSO M. 229, 277
IULINI B. 273

J

JAKL Z. 129
JANOWICZ A. 273
JUHMANI A.-S. 165

K

KALEB S. 121, 149
KOELMANS A. 9
KRALJ M. 69
KULE M. 13

L

LANGONE L. 73
LA PORTA B. 101, 157
LAUDET V. 37
LAURENT C. 149
LECCI R. 73
LEMBO G. 13
LEONARDI M. 245
LEONE L.M. 93
LIBRALATO S. 89, 97, 229
LICCIANO M. 177
LIGAS A. 225
LIGORIO P. 205
LIPEJ L. 161
LISCO A. 65

LO BUE G. 197
LONGO C. 181
LOURIE M. 201
LO VULLO M. 213
LUCIA V. 157
LUCIDI P. 281
LUCIFORA G. 273
LUPETTI P. 9

M

MALFATTI F. 121
MALFERRARI D. 209
MANCIN N. 73, 197, 201
MANCINI G. 33, 117
MANCUSI C. 157, 233
MANDICH A. 265
MANFRIN C. 29
MANGRAVITI S. 57
MANINI E. 253
MARCHINI A. 73, 197, 201, 213
MARIN M.G. 5
MARINCHEL N. 253
MARINI M. 17, 253, 297
MARISA I. 5
MARSILI L. 233
MARTINETTO S. 269
MASSARA F. 25
MASSARO A. 225
MASSI D. 241
MASTROTOTARO F. 21, 65
MATOZZO V. 5
MATTIODA V. 273
MAVRIĆ B. 161
MELIADÒ E. 229, 277
MICCIO A. 53
MIGNONE W. 273
MILAZZO M. 189, 193
MILONE N. 13
MIOTTI C. 129
MIRASOLE A. 153
MISTRI M. 161
MOLIN E. 129
MONTAGNANI C. 113
MONTEFALCONE M. 57, 77, 81
MONTESANTO F. 21
MORO F. 253
MORRI C. 57, 77, 81
MORUZZI L. 25

MULAS A. 241
MUNARI C. 161
MUSSAT SARTOR R. 205, 249
MUSSI B. 281

N

NARÉ M. 53
NARRACCI M. 177
NAVONE A. 61, 113
NEGLIA C. 225
NERI A. 233
NERI F. 297
NESCI S. 173
NICOLETTI L. 85
NOVELLO M. 185
NURRA N. 205, 249

O

OCCHIPINTI AMBROGI A. 1, 213
OLIVA D. 201
OPRANDI A. 57, 77, 81
ORLANDO-BONACA M. 161
OSELLADORE F. 185

P

PACCAGNINI E. 9
PACCIARDI L. 133
PACINI M. 33
PACIONE T. 157
PAGANELLI D. 157
PAGLIARANI A. 173
PALLAVICINI A. 29
PALLUQI A. 13
PALMISANO M. 221
PANFILI M. 17, 241
PANZALIS P. 113
PAOLETTI B. 21
PARATI P. 185
PASSONI M. 265
PAUTASSO A. 273
PENNA A. 9, 253
PENNA M. 101, 157
PENNA P. 253
PERDICHIZZI A. 261
PERTUSATI M. 133
PESCI P. 225
PESSANI D. 205, 249
PETRELLA A. 273

PETRILLO M. 229
PETROCELLI A. 177
PIAZZA A. 213
PIAZZI A. 157
PIAZZI L. 93, 101, 133
PICCARDO M. 37
PIERINI A. 129
PIGA C. 41
PIPITONE C. 157
PITACCO V. 161
PITTURA L. 37
PIZZUTI A. 297
POLLAZZON V. 285
PONIS E. 85, 185
PONTI M. 149
PORCHERA A. 133
PORCINO N. 261
PORTACCI G. 177
PRATO G. 89
PREVEDELLI D. 209, 257
PROFETA A. 225, 261
PROIETTI R. 85
PUCE S. 149
PULCINELLA J. 225

Q

QUERIN S. 149

R

RAIMONDI V. 101
REDOANO C. 57
REDOLFI BRISTOL S. 137, 237, 293
RELITTI F. 69
RENZI M. 25
RICCARDI M.P. 197
RICCI F. 253
RICCI P. 229, 277, 285
RIGHI S. 209, 217, 257
RINDI F. 149
RINELLI P. 225, 261
RISMONDO A. 129
ROMAGNOLI T. 297
ROMEI M. 253
RUBINO F. 21
RUSSO G.F. 281

S

SAHUQUILLO M.A. 53

SALVATI D. 261
SANNA F. 41
SANNA G. 41
SANTACESARIA F.C. 285
SANTOJANNI A. 17, 225, 241
SARTINI M. 241
SARTOR P. 241
SAVIOLI M. 209
SCAPIN L. 137, 237, 293
SCARDI M. 101, 157
SCRASCIA M. 181
SCRIGNER C. 125
SEGARICH M. 29, 121, 125
SERRECCHIA L. 273
SFRISO A. 165
SFRISO A.A. 165
SIMONINI R. 217, 257
SINAPI L. 85
SOLIDORO C. 89, 149
SONG C. 245
SORACI F. 261
SORDINO P. 37
SOZZI F. 157
SPEDICATO M.T. 13
SPOTO M. 29, 125
STABILI L. 177
STAFFELLI A. 281
STAGIONI M. 241
SUSMEL S. 45, 49

T

TAMBURINI M. 213
TARGUSI M. 157
TEDESCO P. 29
TERLIZZI A. 29, 37
TISCAR P.G. 21
TITONE A. 241
TITTARELLI M. 273
TOMASELLO A. 101, 157
TOMASSETTI P. 101
TOMIO Y. 165
TOTTI C. 297
TRAINITO E. 61, 125
TRANI R. 181
TROMBETTI F. 173
TRUZZI C. 17
TULLI F. 45, 49
TURICCHIA E. 149

U

UBALDI M. 297
URBINI L. 69

V

VALENTE T. 33
VALIANTE L.M. 101
VANACORE A. 265
VARELLO K. 273
VARENNE A. 57
VASSALLO P. 269
VENTRELLA V. 173
VENTURA D. 33, 117
VERGA A. 269
VIAGGIU E. 109
VILLARI G. 21
VISCONTI G. 169, 265
VIT M. 49
VOLIANI A. 233

Z

ZANETTI F. 217
ZENONE A. 101, 157
ZHOU Y.Y. 245
ZOPPI S. 273
ZORZI M. 185
ZUCCHETTA M. 85, 237
ZUNINO S. 89
ZUPA W. 13

HANNO PARTECIPATO A QUESTO VOLUME IN QUALITÀ DI REFEREE:

ABBIATI Marco

ALONGI Giuseppina

ARNERI Enrico

BATTUELLO Marco

BEVILACQUA Stanislao

BOLINESI Francesco

CABRINI Marina

CARLUCCI Roberto

CAROPPO Carmela

CARUSO Gabriella

CERRANO Carlo

CHEMELLO Renato

COCITO Silvia

D'ALELIO Domenico

DI BELLA Letizia

DI FRANCO Antonio

FAIMALI Marco

FALACE Annalisa

GAMBI Maria Cristina

LANTERI Luca

LAURITANO Chiara

LIBRALATO Simone

LOMBARDI Chiara

MANGONI Olga

MARGIOTTA Francesca

MILAZZO Marco

MONTEFALCONE Monica

MUNARI Cristina,

PIAZZI Luigi

PICCARDO Manuela

RENZI Monia

ROMANO Elena

ROSSI Sergio

SCARDI Michele

SERANGELI Claudio

SION Letizia

TAMBURELLO Laura

TERLIZZI Antonio

VIZZINI Salvatrice

ZUPO Valerio

Sede legale/*Headquarters* c/o Acquario Comunale, Piazzale Mascagni 1 – 57127 Livorno

BREVE STORIA DELLA S.I.B.M. (SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA MARINA - ONLUS)

La Società Italiana di Biologia Marina (SIBM) è stata fondata il 4 giugno 1969 a Livorno presso il cui Acquario Comunale si trova la sede legale. L'associazione è una ONLUS dal 1998 ed ha per scopo principale la tutela e la valorizzazione della natura ed in particolare dell'ambiente marino e del suo biota. Fin dalla fondazione la SIBM ha promosso studi sulla vita marina, anche organizzando e coordinando gruppi di ricerca e campagne in mare in tutte le acque italiane. Un costante sforzo viene profuso nella diffusione delle conoscenze scientifiche di base ed applicate e nella promozione dell'educazione e sensibilizzazione sulle problematiche della vita nell'ambiente marino, anche organizzando riunioni, congressi, tavole rotonde e pubblicando appositi volumi a carattere scientifico. L'attività della SIBM è coordinata da un Consiglio Direttivo, composto da Presidente, vice Presidente, Segretario più altri quattro membri. Nell'ambito della Società ci sono cinque Comitati scientifici, ciascuno coordinato da un direttivo composto dal Presidente, Segretario e quattro membri.

A SHORT HISTORY OF S.I.B.M. (ITALIAN SOCIETY OF MARINE BIOLOGY - ONLUS)

The Italian Society for Marine Biology (SIBM) was founded the 4th June 1969 in Livorno, the registered office of SIBM was at Aquarium of Livorno (Piazzale Mascagni, 1). The Association is an ONLUS (like registered charity) since 1998 and has the main aim to promote the conservation and valorisation of nature and in particular of the marine environment and biota. Since its foundation SIBM has promoted studies on marine life also organizing coordinated groups of researchers and surveys in all Italian seas. A constant effort is done to diffuse basic and applied technical and scientific knowledge to promote education and awareness on marine life also organizing meetings, congresses, workshops and publishing scientific papers and volumes. Each year a congress and at least a General Assembly is organized in different sites and Proceedings are published. The activity of SIBM is managed by the Council Board, composed by the President, the vice President, the Secretary and four Councilmen, elected every three years. Inside SIBM there are five Committees, each chaired by a President, Secretary and four Council Members.

CONSIGLIO DIRETTIVO (in carica fino al dicembre 2024) *COUNCIL BOARD (in charge until December 2024)*

Antonella PENNA – Presidente/*President*

Michele SCARDI – Vice Presidente/*Vice President*

Giovanni RUSSO – Consigliere/*Member*

Mariachiara CHIANTORE – Segretario Tesoriere/*Secretary*

Roberto SANDULLI – Consigliere/*Member*

Olga MANGONI – Consigliere/*Member*

Antonio TERLIZZI – Consigliere/*Member*

Giulio RELINI – Presidente Onorario/*Honorary President*

PRESIDENTI E SEGRETARI DEI 5 COMITATI SCIENTIFICI/ *PRESIDENTS AND SECRETARIES OF 5 SCIENTIFIC COMMITTEES*

BENTHOS
(Benthos)

Monica MONTEFALCONE (Pres.)

Giovanni CHIMIANTI (Segr.)

PLANCTON
(Plankton)

Carmela CAROPPO (Pres.)

Chiara LAURITANO (Segr.)

NECTON e PESCA
(Necton & Fishery)

Roberto CARLUCCI (Pres.)

Alessandro LIGAS (Segr.)

ACQUACOLTURA
(Aquaculture)

Claudio SERANGELI (Pres.)

Valentina ASNAGHI (Segr.)

**GESTIONE e VALORIZZAZIONE
della FASCIA COSTIERA**
(Management of the Coastal Zone)

Paolo VASSALLO (Pres.)

Chiara PAOLI (Segr.)