
3. Biomassa funzionale e risposte adattative di popolamenti algali a diverso grado di strutturazione (dal *turf* al *canopy*)

Unità Operativa

Responsabile: prof. Laura TALARICO

Collaboratrice: dott.ssa Paola FRISENDA

Introduzione

Gli studi ecofisiologici permettono di caratterizzare le diverse specie algali in base alla loro capacità di assorbire e sfruttare la luce (energia radiante incidente).

Per le specie bentoniche è particolarmente importante l'adattamento alle condizioni che prevalgono nel loro ambiente naturale sia in termini di composizione spettrale della luce (colore) sia di irradianza PAR (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Bolzan & Talarico, 2006; Frisenda & Talarico, 2006).

Infatti, le alghe tendono a colonizzare ambienti in cui possono raggiungere prestazioni ottimali nella produttività fotosintetica. È necessario tenere presente che la fotosintesi risponde quantitativamente e qualitativamente alle variazioni di luce nell'ambiente e queste possono determinare cambiamenti nella fisiologia, nella crescita e nella struttura delle comunità. In questo senso, la fotoacclimatazione e le relative risposte alla luce, come anche la capacità di attivare processi di fotoinibizione/fotoprotezione (Figuerola *et al.*, 2003), sono fondamentali per comprendere la distribuzione e la produttività delle macroalghe sui substrati sommersi (naturali ed artificiali).

L'insieme delle analisi fisiologiche, biochimiche ed ultrastrutturali (approccio autoecologico) offre quindi la possibilità d'interpretare le diverse strategie di adattamento attuate dalle macroalghe presenti sul Dosso di S. Croce.

Obiettivi

Al fine di verificare le capacità di adattamento fisiologico alle condizioni di luce (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000) del Dosso di S. Croce (Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Bolzan & Talarico, 2006; Frisenda & Talarico, 2006) e, quindi, le potenzialità fotosintetiche delle specie pioniere e/o dominanti su tutto il manufatto artificiale, è stato eseguito uno studio funzionale sulle ‘*tufted filamentous algae*’, sulle Corallinales incrostanti e su alcune ‘specie bersaglio’ (*Rhodymenia pseudopalmata*, *Ceramium flaccidum*, *Zanardinia typus*, *Cutleria multifida*, *Dictyota dichotoma*). Contemporaneamente sono stati messi a punto i protocolli operativi per la valutazione dello stato evolutivo delle alghe calcaree in coltura (dopo riproduzione spontanea e indotta) *ed in situ*.

È stato effettuato, inoltre, un primo ‘screening’ ecofisiologico di macroalghe, scelte in base all’elevata reperibilità, presenti in alcuni siti costieri del Golfo di Trieste. Le specie più adattabili alle condizioni di luce (irradianza PAR) potranno essere utilizzate per un futuro condizionamento del Dosso di S. Croce mediante colonizzazione indotta e/o forzata per incrementare ulteriormente la biodiversità.

Cenni metodologici

I campioni sono stati prelevati, mediante immersione ARA (U.O. BRESSAN, DI PASCOLI), nella stazione (piramide) D3 a tre quote (quota 1 = 7 ± 1 m; quota 2 = 10 ± 1 m; quota 3 = 12 ± 1 m).

I talli sono stati immediatamente trasportati (al buio e a 10°C) in laboratorio per eseguire le analisi fisiologiche e biochimiche.

Curve di saturazione. Sono state ottenute misurando l’attività fotosintetica (Oxylab - HANSATECH DW 3 polarographic electrode) dei campioni sottoposti ad irradianze crescenti ($0-900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Le curve P/I sono state ottenute interpolando i dati sperimentali con quelli teorici, secondo l’equazione $P = P_{\text{max}} \cdot [(I/I_k) / \sqrt{1 + (I/I_k)^2}]$. I parametri P_{max} ($\text{mmol O}_2 \text{ ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$), I_k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e α (coefficiente angolare) sono indice della produttività e delle caratteristiche di fotoacclimatazione.

Fotosintesi/Respirazione. L’attività fotosintetica e respiratoria ($\text{mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ PS) sono state stimate come produzione/consumo di ossigeno (Walker, 1987) (Oxylab - HANSATECH DW 3 polarographic electrode).

Efficienza fotosintetica. Mediante misure di fluorimetria indotta (PAM) (FMS1 HANSATECH Instr.) sono stati ricavati i seguenti parametri: (F_v/F_m) , (F_v'/F_m') , (Φ_{PSII}) , (ETR) e (NPQ) (Genty *et al.*, 1989).

Pigmenti liposolubili. Clorofilla totale (chl *a*) e carotenoidi totali (car) sono stati estratti da aliquote algali mediante omogenizzazione in acetone all'80% (v/v) e diffusione per 24 ore (al buio, a 4°C). Dopo centrifugazione (10 minuti a 18.000 r.p.m.) è stata eseguita la misura del surnatante allo spettrofotometro (Perkin Elmer UV-VIS 554) alla lunghezza d'onda λ_{max} 665 nm. La concentrazione della chl *a* totale (mg g⁻¹ PS) è stata calcolata secondo Kosovel & Talarico (1979). La concentrazione (mg g⁻¹ PS) dei car è stata calcolata applicando il coefficiente di estinzione di Richards (1952).

Pigmenti idrosolubili. Ficoeritrina (PE), ficocianina (PC) e alloficocianina (APC) sono state estratte da porzioni di tallo, mediante omogeneizzazione in Tampone fosfato 50 mM a pH 6,8 e diffusione per 24 ore (al buio, a 4°C). Dopo centrifugazione (15 minuti a 18.000 r.p.m.) è stata effettuata la lettura spettrofotometrica (Perkin Elmer UV-VIS 554) del surnatante alle lunghezze d'onda λ_{max} 565 nm, λ_{max} 615 nm e λ_{max} 650 nm per R-PE, R-PC ed APC (Talarico, 1990), rispettivamente. Il calcolo delle concentrazioni è stato eseguito secondo MacColl e Guard-Friar (1987).

Osservazioni ultrastrutturali. Alcuni campioni, prelevati nel piano mediolitorale, sono stati prefissati in campo in GTA 6% in acqua di mare filtrata (millipore 0,22µm), fissati in GTA 3% con saccarosio e Rosso rutenio in Tampone fosfato 0,1 M a pH 7,2, postfissati in OsO₄ 1% in Tampone fosfato, disidratati in serie acetonica ed inclusi in resina Spurr. Le sezioni (LKB Ultratome III 8800) sono state colorate con colorazione doppia (Pb/U) ed osservate al Microscopio Elettronico a Trasmissione (Philips EM 201).

Tutte le analisi sono state eseguite su tre repliche, con misure indipendenti, con calcolo della media e della relativa DS (±).

Risultati

Macroalghe

Per la sperimentazione sono state campionate 14 specie tra Chlorophyceae, Rhodophyceae e Phaeophyceae (Tab. 3.1) sul Dosso di S. Croce ed in diversi siti costieri.

Curve di saturazione

Dosso di S. Croce. I risultati indicano che per le specie (Tab. 3.2), prelevate tutte a 7m di profondità, sia la P_{max} sia l' I_k siano piuttosto variabili. È interessante notare che *Ceramium flaccidum* (Fig. 3.1b) e *Dictyota dichotoma* (Fig. 3.1c), nonostante gli elevati valori di P_{max} , non possiedono un elevato I_k , indice di un buon adattamento alle basse irradianze. Diversamente *Rhodomenia pseudopalmata* (Fig. 3.1a) e *Pneophyllum fragile* (Fig. 3.1g) sembrano sfruttare efficientemente sia le basse che le alte irradianze presentando elevati valori di P_{max} e di I_k . Al contrario, *Bryopsis plumosa* (Fig. 3.1d), *Cutleria multifida* (Fig. 3.1e) e *Zanardinia typus* (Fig. 3.1f) mostrano bassi valori di P_{max} e I_k , indicando un loro adattamento alle basse irradianze, ma non una buona efficienza fotosintetica.

Specie costiere. I campioni prelevati nel piano mediolitorale sono evidentemente meglio adattati alle alte irradianze (elevati valori di I_k) (Tab. 3.3) (Figg. 3.2a - g). Ciò nonostante non tutte le specie sembrano in grado di sfruttare la luce (come quantità PAR) per una efficiente fotosintesi. Infatti, ad alti valori di I_k , solamente per *Corallina officinalis* (Fig. 3.2e) e *Ulva laetevirens* (Fig. 3.2a) corrispondono elevati valori di P_{max} . Il coefficiente angolare ($\alpha < 45^\circ$) delle curve di tutte le specie indicherebbe, tuttavia, un loro possibile adattamento anche a basse irradianze.

Fotosintesi / Respirazione / Pigmenti fotosintetici

Le analisi sono state effettuate sottoponendo i campioni all'irradianza PAR misurata alla profondità di prelievo (produzione effettiva), e successivamente sono state ripetute ad una irradianza leggermente inferiore a quella saturante (Tab. 3.2) per poter verificare il potenziale fotosintetico (produzione potenziale o produttività) (Talarico *et al.*, 2002). Si è scelto di studiare le risposte di *Ceramium flaccidum* e del 'turf' *in toto*, scorporando e analizzando successivamente le singole componenti (*Bryopsis plumosa* e *Rhodomenia pseudopalmata*).

Ceramium flaccidum. La respirazione mostrava una sostanziale stabilità (0,4 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS) a 8 e 10m ed un forte aumento (0,9 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS) a 13m di profondità. Diversamente la fotosintesi tendeva ad incrementare alla quota di 10m (fino a 0,3 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), alla quale si osservavano una maggior produzione ed un minor consumo di ossigeno, indicando un migliore equilibrio dei processi fisiologici (Fig. 3.3a). Sotto luce saturante (600 μmol m⁻² s⁻¹) (Fig. 3.3b) si osservava una diminuzione del 50% circa dei valori. La respirazione manteneva un andamento simile a quello descritto precedentemente e la fotosintesi tendeva ad incrementare linearmente all'aumentare della profondità (da 0,08 a 0,20 mmol O₂

min⁻¹ g⁻¹ PS). In questo caso i campioni cresciuti a profondità maggiori, quando esposti ad una più alta irradianza, sembrano possedere una migliore efficienza fotosintetica e quindi un buon fotoadattamento, rispetto ai talli prelevati alle altre quote (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.* 1991; Talarico *et al.*, 2001).

Le concentrazioni di chl *a* variavano da un minimo di 0,9 mg g⁻¹ PS (quota 1) ad un massimo di 1,2 mg g⁻¹ PS (quota 3), mentre i car erano costanti (circa 0,5 mg g⁻¹ PS) (Fig. 3.4a). Gli elevati contenuti di R-PE e di R-PC, che incrementavano fino a 4 mg g⁻¹ PS e 9 mg g⁻¹ PS rispettivamente, nei campioni cresciuti alla maggior profondità (12m), e la stabilità dell'APC (2 mg g⁻¹ PS) (Fig. 3.4b), indicherebbero un probabile adattamento di *C. flaccidum* alla qualità (adattamento cromatico) piuttosto che alla quantità di luce (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

'Turfs' (*B. plumosa* e *R. pseudopalmata*). La presenza del 'turf' era segnalata principalmente sulle superfici orizzontali delle strutture sommerse (quote 1 e 2), probabilmente a causa della scarsa trasparenza della colonna d'acqua dovuta all'elevata presenza di materiale in sospensione, condizioni anomale per questo mese. I risultati evidenziavano un andamento di attività fotosintetica e respiratoria simile sia nei campioni sottoposti alla luce del sito (Fig. 3.5a) sia in quelli sotto luce saturante (Fig. 3.5b). Entrambi i processi tendevano ad incrementare all'aumentare della profondità, raggiungendo valori (consumo_{max} = 3 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS e produzione_{max} = 2,5 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS) molto più elevati rispetto a *C. flaccidum*. Le diminuzioni di produzione di ossigeno osservate in luce saturante potrebbero essere causate dall'esposizione ad una irradianza troppo elevata (più del doppio) rispetto a quella naturale. In questo caso, infatti, la diminuzione del rateo fotosintetico, sarebbe indicativo dell'instaurarsi di meccanismi fotoprotettivi. Il contenuto di pigmenti liposolubili (chl *a* e car) si manteneva costante (Fig. 3.6) in tutti i campioni. *Bryopsis plumosa*. Mentre il consumo di ossigeno era elevato a 8 e 10m di profondità (fino a 0,9 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS) e diminuiva a 12m (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), la fotosintesi si manteneva costante (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS). L'equilibrio dei due processi veniva raggiunto a 12m (Fig. 3.7a). Simili andamenti sono stati osservati anche in luce saturante (Fig. 3.7b), ma con valori decisamente inferiori (consumo_{max} = 0,20 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS e produzione_{max} = 0,09 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS).

I contenuti di chl *a* e car erano costanti per tutti i campioni (circa 3 mg g⁻¹ PS e 1 mg g⁻¹ PS, rispettivamente) (Fig. 3.8).

Rhodymenia pseudopalmata. Mentre la respirazione variava lievemente alle tre quote (da 0,3 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS a 0,4 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), la fotosintesi aumentava linearmente con la profondità fino ad un massimo di 0,1 mmol O₂ min⁻¹

g⁻¹ PS (Fig. 3.9a). I notevoli incrementi (>50%) di produzione di ossigeno osservati in luce saturante (Fig. 3.9b) indicavano un più ampio intervallo di fotoadattabilità ed una ottima efficienza fotosintetica sia alle basse che alle alte irradianze, come deducibile anche dalla curva di saturazione caratterizzata da $\alpha \geq 45^\circ$ (Fig. 3.1a).

La chl *a* variava da un minimo di 2 mg g⁻¹ PS (quota 1) ad un massimo di 6 mg g⁻¹ PS (quota 2), i car da 0,5 mg g⁻¹ PS (quota 1) a 2 mg g⁻¹ PS (quota 2) (Fig. 3.10a). Come per *C. flaccidum* anche per *R. pseudopalmata*, i contenuti elevati di R-PE e di R-PC, (fino a 15 mg g⁻¹ PS e 25 mg g⁻¹ PS, rispettivamente) nei campioni della quota 3, e la stabilità dell'APC (circa 7 mg g⁻¹ PS) (Fig. 3.10b) indicherebbero un adattamento cromatico (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006) di questa specie.

Phaeophyceae. Per stabilire il contributo delle alghe brune alla produttività, sono state campionate le tre specie che presentavano una più elevata biomassa in termini di ricopertura (*Z. typus*, *D. dichotoma* e *C. multifida*, alle profondità di 8m, 10m e 13m, rispettivamente). Dai grafici (Figg. 3.11a-b) si può notare una costanza nella quantità di ossigeno consumato alle tre profondità ed un maggior apporto produttivo (fotosintesi) per *D. dichotoma* (quota 2) sia in luce quota che in luce saturante (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS e 0,6 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS, rispettivamente).

Il contenuto di pigmenti fotosintetici era di 0,9 mg g⁻¹ PS (chl *a*) e 0,5 mg g⁻¹ PS (car) per *Z. typus* e *D. dichotoma* e di 1,5 mg g⁻¹ PS (chl *a*) e 0,9 mg g⁻¹ PS (car) per *C. multifida* (Fig. 3.12).

Efficienza fotosintetica (fluorimetria PAM)/pigmenti fotosintetici

I risultati indicavano che la resa quantica effettiva era maggiore nelle alghe brune rispetto alle calcaree e alle rosse, a tutte le quote. Tuttavia, la resa quantica ottimale era elevata sia nelle alghe brune sia nelle rosse, in particolare per i campioni prelevati a 10m di profondità (Fig. 3.13a). La minor differenza tra la resa quantica ottimale ed effettiva (Fig. 3.13b) indicherebbe che tra i tre gruppi, le alghe brune a 10m, le alghe calcaree alle tre quote e le rosse a 7m sono in grado di sfruttare efficientemente la luce a loro disposizione preferenzialmente a queste profondità. Tuttavia i valori del rateo di trasporto elettronico (Fig 3.13c) sono decisamente diversi nei tre gruppi algali. Per le alghe brune i valori di ETR diminuivano con la profondità, per le calcaree (tranne alla quota 2) tendevano ad aumentare, mentre per le alghe rosse, dopo forti incrementi a 7 e 10m, subivano una pesante diminuzione a 13m.

Nel 2006 si è scelto di eseguire le analisi in coincidenza con il periodo di massima rigogliosità delle specie (*Bryopsis plumosa*, *Rhodomenia pseudopalmata*, *Cutleria multifida*) presenti sulla piramide D3.

Gli andamenti dei tre principali parametri (F_v/F_m , F_v'/F_m' , ETR) (Figg. 14a - c), indicavano che le specie campionate (*B. plumosa*, *R. pseudopalmata*, *C. multifida*) sono caratterizzate da un diverso adattamento alla quantità di luce presente (irradianza PAR), in relazione alla profondità ed alla trasparenza della colonna d'acqua. Nello specifico, *B. plumosa* (Fig. 3.15) mostrava valori elevati di ETR alla quota più superficiale (7m) e decrescenti all'aumentare della profondità (9,94 a 7m, 5,33 a 12m), *R. pseudopalmata* (Fig. 3.16) valori minimi a 7 e 12m (1,53 e 3,16 rispettivamente) ed un massimo a 10m (10,82), mentre *C. multifida* (Fig. 3.17) due massimi relativi a 7 e 12m (circa 16) ed il valore minimo a 10m (4,31). La differenza tra la resa quantica ottimale ed effettiva (Fig. 3.18) indica che le specie in grado di sfruttare meglio la luce a loro disposizione sono *R. pseudopalmata* a 10m e *C. multifida* a 12m di profondità. Quest'ultimo risultato, apparentemente in contrasto con le caratteristiche fisiologiche delle due specie, potrebbe essere spiegato con la presenza di un termoclino alla quota di 10m, profondità alla quale si registrano anche maggiori variazioni di trasparenza (elevata torbidità e minor irradianza). In questo caso quindi, le alghe rosse, essendo dotate di antenne accessorie (ficobilisomi), sono in grado di captare ed utilizzare ai fini fotosintetici lunghezze d'onda non sfruttabili dagli altri gruppi algali. Infatti, anche i valori di Φ_{PSII} (Fig. 3.19), indicavano una maggior resa per l'alga rossa alla quota di 10m, diversamente da *C. multifida*, che meglio si adattava alla massima profondità. Questo potrebbe essere spiegato con un miglior adattamento di questa specie, come del resto delle altre *Phaeophyceae*, alla luce caratteristica dei mari freddi e delle alte latitudini. *B. plumosa* era caratterizzata da valori costanti di Φ_{PSII} a 7 e 10m, con un lieve incremento dell'efficienza a 12m di profondità. Tuttavia, i valori di NPQ suggeriscono elevate capacità fotoinibitorie in tutti i campioni alla quota più superficiale. I valori prossimi o superiori a 1 (per *Bryopsis* e *Cutleria*) indicherebbero anche un inizio di fotoprotezione. Diversamente, *R. pseudopalmata* mostrava valori vicini o inferiori a 0,5 a tutte e tre le quote con un minimo assoluto a 10m. Questo risultato confermerebbe la buona efficienza del processo fotosintetico (Fig. 3.20), derivante dalla capacità, di questa ed altre alghe rosse (Talarico, 1996; Talarico & Maranzana, 2000; Bolzan & Talarico, 2006) di adattamento cromatico.

Pigmenti fotosintetici

Bryopsis plumosa. Le concentrazioni di chl *a* variavano da un minimo di 1 mg g⁻¹ PS ad un massimo di 2 mg g⁻¹ P.S. nei campioni prelevati a 7 e 12m rispettivamente, mentre i car erano costanti a 7 e 10m (0,5 mg g⁻¹ PS, circa) aumentando lievemente a 1 m (0,9 mg g⁻¹ PS) (Fig. 3.21).

Rhodymenia pseudopalmata. I contenuti di chl *a* erano decisamente elevati rispetto alle altre specie raggiungendo il valore massimo di circa 2,5 mg g⁻¹ PS nei campioni cresciuti a 10m di profondità, mentre i car variavano da un minimo di 0,3 mg g⁻¹ PS a 12m ad un massimo di 0,8 mg g⁻¹ PS a 10m (Fig. 3.22a). Il contenuto dei pigmenti idrosolubili seguiva lo stesso andamento già osservato precedentemente: una sostanziale stabilità dell'APC a 10 e 12m (circa 0,3 mg g⁻¹ PS) ed un incremento a 7m (0,6 mg g⁻¹ PS), valori variabili per la R-PC (da 1,4 mg g⁻¹ PS a 0,7 mg g⁻¹ PS) e per la R-PE (da 3,6 mg g⁻¹ PS a 5,8 mg g⁻¹ PS) (Fig. 3.22b).

Cutleria multifida. In questa specie i contenuti di tutti i pigmenti erano generalmente bassi con valori minimi (0,3 mg g⁻¹ PS e 0,1 mg g⁻¹ PS per chl *a* e car, rispettivamente) per i campioni alla quota più superficiale (Fig. 3.23).

Microscopia Elettronica a Trasmissione (TEM)

A titolo d'esempio ed in via preliminare, si riportano alcune micrografie (Tavola 3.1) relative ad una *Phaeophyceae* prelevata nel piano mediolitorale e fissata *in situ* per caratterizzare lo stato fisiologico dell'alga al momento del campionamento. La morfologia del tallo è caratterizzata da una organizzazione in uno strato corticale esterno, con cellule di piccole dimensioni, citoplasma denso (cy) e ricco di cloroplasti (chl), ed in uno strato interno con cellule più grandi e fortemente vacuolate (v). Nucleo (n), cloroplasti (chl) e mitocondri (m) ben strutturati, presenza di apparati del Golgi (G) attivi e di numerosi ribosomi (r) indicavano una buona attività biosintetica riferibile rispettivamente ai polisaccaridi ed alle proteine, in particolare. Nelle cellule corticali esterne, la disposizione periferica di numerosi cloroplasti con tilacoidi ben strutturati confermerebbe la buona potenzialità fotosintetica e l'assenza di danni fotoossidativi da eccesso di irradianza.

Conclusioni

Le curve di saturazione hanno permesso di valutare le caratteristiche ecofisiologiche delle specie campionate sia sul Dosso di S. Croce che nei siti costieri. In particolare, il parametro I_k , che ha il vantaggio di essere indipendente dall'unità utilizzata per esprimere la fotosintesi, è risultato essere un ottimo indice per la comparazione dello stato fisiologico (fotoadattamento) di specie diverse. I bassi valori di I_k osservati in alcune specie, *i.e.* *C. flaccidum* e *D. dichotoma*, indicherebbero un uso molto efficiente in termini di produzione di ossigeno (P_{max} elevata) delle basse irradianze, piuttosto che una scarsa efficienza fotosintetica ad alta irradianza (Henley, 1993). *R. pseudopalmata* e *P. fragile*, invece, sarebbero in grado di adattarsi anche ad irradianze maggiori, tipiche delle quote meno profonde, indicando che queste specie possiedono un intervallo molto ampio di fotoadattabilità (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

Lo studio preliminare sulle specie costiere confermerebbe un buon adattamento ad irradianze elevate, insieme ad una pronta attivazione di meccanismi fotoinibitori e fotoprotettivi, con conseguente diminuzione nella produzione di ossigeno. Tuttavia, l'andamento delle curve, del tutto simile a quello relativo ad alcune specie presenti sul Dosso (*B. plumosa*, *C. multifida* e *Z. typus*), indicherebbe un loro possibile adattamento anche a condizioni di bassa irradianza.

In termini produttivi, i contributi più elevati sarebbero attribuibili al "turf" a tutte le quote, a *C. flaccidum* a 10m ed a *R. pseudopalmata* a 10 e 12m di profondità. I risultati ottenuti su *Ceramium* e *Rhodymenia*, cresciuti alla massima profondità (12-13m) e sottoposti all'irradianza saturante, indicherebbero però un miglior fotoadattamento a queste profondità. Analizzando separatamente la componente principale (*B. plumosa*) e associata (*R. pseudopalmata*) del 'tufted filamentous algae' dominante su tutto il manufatto, è emerso che, tra le due specie, *Bryopsis* sarebbe maggiormente soggetta a fenomeni fotoinibitori. Diversamente *Rhodymenia*, alle stesse condizioni, incrementa la produzione primaria di circa tre volte, soprattutto nei campioni adattati alla quota di 10m.

Il confronto tra le tre specie di Phaeophyceae (*Z. typus*, *D. dichotoma*, *C. multifida*) ha messo in luce il maggior apporto produttivo di *Dictyota* a 10m di profondità, in accordo con i risultati ottenuti in fluorimetria (massima efficienza quantica effettiva e potenziale). Infatti, tra tutti i campioni analizzati con questa metodologia, le alghe rosse a 7 e 10m, le brune a 10m e le calcaree a 13m sono in grado di sfruttare efficientemente la luce a loro disposizione preferenzialmente a queste profondità. È da tener presente, però, che negli studi di carattere ecologico non solo la quantità di luce PAR, ma anche e soprattutto la sua composizione spettrale devono essere presi in considerazione. Infatti, entrambe le caratteristiche sono estremamente variabili nell'ambiente naturale ed hanno svolto in passato un ruolo fondamentale nell'evoluzione delle diverse specie (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico & Bolzan, 2006).

Dal punto di vista metodologico, l'utilizzo delle tecniche fluorimetriche e la messa a punto dei protocolli sperimentali hanno permesso di eseguire con una certa rapidità le analisi fisiologiche e di confrontare in tempi relativamente brevi l'efficienza fotosintetica (effettiva, ottimale e del PSII) delle diverse specie. La rapidità ed il confronto sono fattori essenziali per superare i limiti delle analisi sia auto- che sin-ecologiche, avvicinando il campo al laboratorio e viceversa. Diversamente dalla stima della produzione primaria mediante ossimetria, che fornisce indicazioni generiche, la stima dell'efficienza fotosintetica in fluorimetria è basata sulla valutazione analitica dei molti processi implicati nella produzione di ossigeno. Il poter valutare, ad esem-

pio, l'efficienza del trasporto elettronico permette di caratterizzare meglio i diversi gruppi algali. Analogamente parametri come Φ_{PSII} e NPQ sono risultati estremamente utili per verificare a quali profondità le diverse specie siano in grado di sfruttare al massimo la luce disponibile (PUR) senza dispersione di energia.

L'utilizzo delle tecniche ultrastrutturali negli studi ecofisiologici consente di verificare e valutare la corrispondenza tra le risposte fisiologiche e biochimiche alle variazioni di luce e le eventuali modifiche a livello cellulare. Anche l'analisi a livello ultrastrutturale, quindi, è in grado di fornire ulteriori indicazioni sull'adattabilità delle diverse specie in relazione alle diverse quote. Ad esempio, le osservazioni a livello cellulare riportate su una *Feoficea* prelevata in costa, in condizioni quindi di elevatissima irradianza PAR, indicano un'alta capacità adattativa di specie di solito considerate tipiche di ambienti profondi, meno "illuminati" e con prevalenza di radiazioni "più energetiche".

Approccio metodologico per la stima dell'attività fotosintetica e respiratoria delle Corallinales in coltura ed in situ.

Fotosintesi / Respirazione

Le analisi fisiologiche effettuate sui campioni riprodotti (U.O. BRESSAN, DI PASCOLI) mediante inseminazione spontanea nell'Acquario Comunale di Trieste (T=15°C, PAR= 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, L:D=11:13) non hanno dato risultati soddisfacenti, poiché l'attività fotosintetica del bianco (mezzo di coltura) risultava più elevata di quella relativa ai campioni (colture di 20 gg) (Fig. 3.24). L'interferenza della componente eterotrofa (batteri) e microfitica (principalmente diatomee e cianoficee), unitamente allo scarso numero di cellule sviluppate, non consentivano una corretta attribuzione dell'O₂ all'alga calcarea, sia come fotosintesi che come respirazione.

La successiva sperimentazione è stata condotta su colture ottenute mediante inseminazione indotta in laboratorio, per 'shock' termico in condizioni controllate (T=15°C, PAR=12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, L:D=10:14). Prima delle analisi fisiologiche i campioni sono stati posti per 24 h in acqua di mare filtrata (millipore 0,45 μm) continuamente rinnovata per ridurre le componenti (eterotrofa ed autotrofa) estranee. In questo caso il contributo di queste componenti nel mezzo di coltura non era tale da invalidare le misure fisiologiche (Fig. 3.25). I talli, già dopo 11 gg dall'inseminazione, mostravano elevata attività fotosintetica e respiratoria (0,4 $\mu\text{mol O}_2 \text{ ml}^{-1} \text{ min}^{-1} \text{ mm}^{-2}$). Con la crescita, entrambi i processi tendevano a diminuire, raggiungendo valori di produzione e di consumo di ossigeno relativamente bassi nelle colture di 5 mesi (0,1 $\mu\text{mol O}_2 \text{ ml}^{-1} \text{ min}^{-1} \text{ mm}^{-2}$). Questi valori erano molto simili a quelli misurati nei talli adulti prelevati sul Dosso di S. Croce a 14m di profondità.

Efficienza fotosintetica (fluorimetria PAM) delle Corallinales in coltura

Nelle colture di 1 mese e di 5 mesi, (Fv'/Fm') era leggermente superiore a (Fv/Fm), indicando che l'irradianza PAR utilizzata nel sistema di coltura è ottimale per la massima efficienza del processo fotosintetico. I valori (entrambi $> 0,7$) indicherebbero, infatti, l'assenza di 'stress' da luce e quindi di fenomeni di fotoinibizione e/o fotoprotezione (Fig. 3.26a). Nei campioni adulti nati sul Dosso, i valori di (Fv/Fm) erano stabili alle tre quote, mentre (Fv'/Fm') era superiore nei campioni cresciuti a 13m di profondità. In questo caso anche l'(ETR) (Fig. 3.26b) era notevolmente superiore, indicando una miglior efficienza del PSII.

Efficienza fotosintetica delle Corallinales in situ (permanenza sul Dosso: 2 mesi)

I campioni ottenuti dopo inseminazione indotta in laboratorio (Dott.ssa Di Pascoli) e mantenuti per due mesi sul Dosso, sono caratterizzati da comportamenti molto diversi a seconda della quota in cui sono stati posizionati ed adattati. Mentre (Fv/Fm) (Fig. 3.27) variava leggermente (da 0,55 a 0,66), ad indicare che tutti i campioni erano simili in termini di potenzialità, (Fv'/Fm') (Fig. 3.28) e Φ PSII (Fig. 3.29) aumentavano linearmente con la profondità (Fv'/Fm' da un minimo di 0,01 ad un massimo di 0,2 e Φ PSII da un minimo di 0,082 ad un massimo di 0,75). Tuttavia l'ETR (Fig. 3.30) risultava elevato (> 9) sia nei campioni adattati a 10m sia in quelli prelevati a 12m. Infatti, a queste due quote l'irradianza (171 e $105 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, rispettivamente), non sembra abbia indotto fotoinibizione ($\text{NPQ} < 0,5$), diversamente da quella rilevata a 7m ($306 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dove NPQ raggiungeva valori molto elevati (> 1) (Fig. 3.31), probabilmente indicativi di processi di fotoprotezione.

Efficienza fotosintetica delle Corallinales in situ (permanenza sul Dosso: 5 mesi)

Dopo 5 mesi di permanenza in campo si notava un generale decremento in tutti i parametri. Ferma restando la stabilità dei valori di Fv/Fm (tra 0,4 e 0,5) (Fig. 3.32) di tutti i campioni, la loro efficienza si manteneva su valori bassi ($Fv'/Fm' < 0,3$) (Fig. 3.33). Inoltre, nonostante valori di $\text{NPQ} > 0,5$ (Fig. 3.36) e di Φ PSII $< 0,03$ (Fig. 3.34), il valore pari a 6 dell'ETR (Fig. 3.35) indicava il buon funzionamento dei processi fotosintetici, in particolare per i campioni adattati 10m di profondità.

Efficienza fotosintetica delle Corallinales in situ (permanenza sul Dosso: 8 mesi)

Solamente per i campioni prelevati a 10m di profondità tutti i valori, *i.e.* $Fv/Fm=0,7$ (Fig. 3.37), $Fv'/Fm'=0,8$ (Fig. 3.38), Φ PSII=0,15 (Fig. 3.39), ETR=18 (Fig. 3.40) e $\text{NPQ} < 0,5$ (Fig. 3.41), dimostravano un buon adattamento alla quantità di luce PAR ed alle condizioni generali del sito. Infatti, nonostante una buona potenzialità fotosintetica ($Fv/Fm=0,6$ circa), nei campioni prelevati a 7m di profondità i valori di

tutti i parametri indicherebbero l'instaurarsi di processi di fotoinibizione ($NPQ > 1$ ad una irradianza PAR di $455 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mentre in quelli raccolti a 12m si rilevava una scarsa efficienza del PSII e di conseguenza un altrettanto basso valore di rateo di trasporto elettronico.

Conclusioni

Per la realizzazione del protocollo sperimentale è risultato fondamentale il condizionamento dei campioni in acqua filtrata prima dell'analisi ossimetrica. Solo con questa procedura è stato possibile eliminare la componente autotrofa ed eterotrofa estranea senza danneggiare i dischi germinativi. Le analisi fisiologiche hanno evidenziato, in questa fase preliminare, un buon adattamento dei talli alle condizioni di coltura con incrementi immediati e costanti nel tempo delle risposte fotosintetiche. Un risultato preliminare importante è la possibilità di rapportare l'attività fotosintetica / respiratoria con l'area di copertura algale nei diversi stadi di crescita (Di Pascoli *et al.*, 2006). Si è scelto di proseguire la sperimentazione utilizzando la fluorimetria (PAM) in quanto metodologia non distruttiva al fine di completare lo studio delle Corallinales.

I risultati finora ottenuti sono incoraggianti, dal momento che tutti i talli adattati alle diverse profondità della barriera mostrano una buona potenzialità fotosintetica, indipendentemente dalla stagione. Tuttavia, sembra che a 10m di profondità ci siano le condizioni ideali per il raggiungimento della massima efficienza dell'intero processo fotosintetico. Nel caso studiato (-10m), e, molto probabilmente, anche alle altre quote della barriera, appaiono determinanti le condizioni di luce in coltura ed il successivo condizionamento *in situ*, essendo le Rhodophyta capaci di adattarsi sia alla quantità (irradianza PAR) che alla qualità (radiazioni monocromatiche) della luce disponibile (PUR) (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Frisenda & Talarico, 2006).

I risultati fisiologici ottenuti in laboratorio con analisi non distruttive, insieme alla valutazione del ricoprimento delle Corallinales incrostanti la barriera in un'arco di tempo più ampio, permetteranno di valutare l'effettivo contributo di questa componente vegetale alla produttività del sito in esame.

Conclusioni generali

L'applicazione di metodologie ecofisiologiche integrate sul campo ed in laboratorio costituisce uno strumento estremamente valido per la valutazione della produzione primaria in rapporto alla biomassa/ricoprimento della barriera in quanto fornisce

indicazioni più precise sulle condizioni che favoriscono l'insediamento e lo sviluppo di comunità algali sempre più ricche e diversificate. Risulta inoltre finemente indicativa nella valutazione dell'evolversi delle comunità algali attualmente insediate sul substrato artificiale in condizioni naturali e/o indotte 'forzatamente'.

Bibliografia

- BOLZAN F., TALARICO L.- 2005-Studio preliminare sul fotoadattamento della Rodoficea *Callithamnion corymbosum* (Y.E. Smith) Lyngbye per la colonizzazione forzata di substrati artificiali. *Inform. Bot. Ital.*, 37: 560-561
- BRADFORD M. - 1976 - A rapid method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- DELIEU T., WALKER D.A. - 1972 - An improved cathode for measurements of photosynthetic oxygen evolution by isolated chloroplasts. *New Phytol.*, 71: 201-225.
- DI PASCOLI A., FRISENDA P., BRESSAN G., TALARICO L. - 2005 - Approccio metodologico allo studio eco-fisiologico delle alghe calcaree del Dossò di Santa Croce (Golfo di Trieste, Alto Adriatico). *Inform. Bot. It.*, 37 (1B): 574-575.
- FIGUEROA F. L., NYGARD C., EKELUND N., GOMEZ I. - 2003 - Photobiological characteristic and photosynthetic UV responses in two *Ulva* species (Chlorophyta) from southern Spain. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, 72: 35-44.
- FRISENDA P., TALARICO L.- 2003 - Effetti delle radiazioni UV-B sulla cianoficea filamentosa *Lyngbya limnetica* Lemm. (Oscillatoriaceae) in colture in fase stazionaria: strategie di adattamento e difesa. (Riunione Scientifica Annuale S.B.I. -Gruppo di lavoro per l'Algologia-Trieste 7/8 novembre 2003). Proceedings, p.12
- FRISENDA P., TALARICO L. - 2005 - 'Stress' da cadmio e da UV-B in ambiente marino: ecofisiologia ed ecotossicologia. *Inform. Bot. It.*, 37 (1B): 578-579.
- FRISENDA P., TALARICO L. - 2006 - "Biomassa funzionale e risposte adattative di popolamenti algali a diverso grado di strutturazione" (Comunicazione) - Interreg IIIA Italia-Slovenija: Workshop "Evoluzione dei popolamenti ittici e bentonici (molluschi eduli e comunità macroalgali) nel corso della sperimentazione 2004-2006".
- HENLEY J.W. - 1993 - Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes. *J. Phycol.*, 29: 729-723.
- GENTY B., BRIANTAIS J.-M., BACKER N. R. -1989- The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, 990: 87-92.

- JEFFREY S.W., HUMPHREY G.W. - 1975 - New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c1*, *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 467: 191-194.
- KOSOVEL V., TALARICO L. -1979- Seasonal variations of photosynthetic pigments in *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss (Florideophyceae, Gigartinales) *Boll. Soc. Adr. Sci.*, 63: 5-15, 1979.
- LORENZEN C.J. -1967- Determination of chlorophyll and pheopigments spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 343-346.
- LORENZEN C.J., JEFFREY S.W. - 1980 - Determination of chlorophyll in sea water. *Unesco Tech. Pap. Mar. Sci.*, 35: 1-20.
- MARANZANA G. - 1999 - Effetti di diverse dosi di Cadmio sulle risposte fisiologiche, biochimiche ed ultrastrutturali dell'alga rossa *Audouinella saviana* (Meneghini) Woelkerling in coltura. *Tesi, Dipartimento di Biologia, Università di Trieste*, pp. 153.
- MCCOLL R., GUARD-FRIAR D. - 1987 - *Phycobiliproteins*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida U.S.A., pp. 218.
- MCROY C.P., MCMILLAN C. - 1977 - Production ecology and physiology of seagrasses. In: McRoy C.P., Helferrich C. (eds.). *Seagrass ecosystem: a scientific perspective*. M. Dekker, New York: 53-87.
- RICHARDS F.A. - 1952 - The estimation and characterisation of plankton population by pigment analysis. In: *The absorption spectra of some pigments occurring in diatoms, dinoflagellates and brown algae*. *J. Mar. Res.*, 11: 147-155.
- TALARICO L. -1990- R-Phycocerythrin from *Audouinella saviana* (Nemaliales, Rhodophyta). Ultrastructural and biochemical analysis of aggregates and sub-units. *Phycologia*, 29 (3): 292-302.
- TALARICO L. -1996 - Phycobiliproteins and phycobilisomes in red algae: adaptive responses to light. In: *Underwater light and Algal Photobiology*, F.L. Figueroa, F.X. Niell, C. Jimenez & L. Pérez-Llorens (eds.), CSIC Press Barcelona, Spain, pp. 205-222.
- TALARICO L. - 1999 - Pigmenti fotosintetici e fotobiologia delle alghe. *Boll. Soc. Adri. Sci.*, 78: 317 - 341.
- TALARICO L., CORTESE A. -1991- Some effects of red, blue and green light on cultures of the red alga *Audouinella saviana* (Meneghini) Woelkerling. *Giorn. Bot. It.*, 125 (1-2): 109-111.
- TALARICO L., CORTESE A. -1993- Response of *Audouinella saviana* (Meneghini) Woelkerling (Nemaliales, Rhodophyta) cultures to monochromatic lights. *Hydrobiologia*, 260/261: 477-484.

- TALARICO L., DOMEVSCEK D. -1990- Observations on the adaptation of *Audouinella saviana* (Meneghini) Woelkerling (Nemaliales, Rhodophyta) at different culture conditions. *Gior. Bot. It.*, 124 (5):706-708.
- TALARICO L., CORTESE A., DOMEVSCEK D. -1991- Response of *Audouinella saviana* (Meneghini) Woelkerling (Nemaliales, Rhodophyta) cultures to light. *Oebalia*, 17 (Suppl. 2): 603-613.
- TALARICO L., MARANZANA G. - 2000 - Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 56: 1 – 11.
- TALARICO L., FRISENDA P., WELKER C. - 2001 - Studio della produzione primaria (ecofisiologia e adattamento di macro-alghe alla luce). In: *Studio della produttività primaria e della produzione secondaria delle strutture artificiali sommerse poste in prossimità del Dosso di Santa Croce (Golfo di Trieste, Alto Adriatico)*. Programma Operativo INTERREG II Italia- Slovenia cofinanziato UE, E.U.T. (Edizioni Università di Trieste) pp. 324.
- WALKER D. - 1987 - The use of oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis. University of Sheffield Print Unit, Sheffield, U.K., pp.145.