

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA E PRODUZIONI ANIMALI

DOTTORATO DI RICERCA IN:

ORGANISMI MODELLO NELLA RICERCA BIOMEDICA E VETERINARIA,

XXV CICLO

**Dinamica di popolazione della specie modello *Ciona intestinalis* sp A
(TUNICATA: ASCIDIACEA), nel Lago Fusaro.**

Coordinatore Prof. Paolo de Girolamo

Tutor Dott. Paolo Sordino

Dott. Francesco Toscano

ANNO ACCADEMICO 2012 - 2013

Indice

Introduzione

CAPITOLO I.

Descrizione del progetto di ricerca.....	7
1.1. Obiettivi della ricerca.....	7
1.2. Fasi del progetto.....	8
1.3. Materiali e metodi.....	9

CAPITOLO II.

2.1. Generalità sugli ASCIDIACEA.....	14
2.2. Inquadramento e generalità sulla specie <i>Ciona intestinalis sensu</i> Linnaeus (1767).....	20
2.3. Distribuzione geografica.....	35

CAPITOLO III.

3.1. Generalità sugli ambienti salmastri.....	40
3.2. Il Lago Fusaro.....	43

CAPITOLO IV.

4.1. Risultati.....	48
4.2 Fattori climatici.....	48
4.3. Temperatura.....	50
4.4. Salinità.....	51
4.5. Ossigeno disciolto (DO) e ossigeno di saturazione (%O ₂).....	53
4.6. Torbidità (NTU).....	56
4.7. Dinamica di popolazione.....	56
4.7.1.Casina Vanvitelliana (CV).....	59

4.7.2. Foce di Mezza Chiaja (FdM).....	63
4.7.3. Peschiera Romana (PR).....	66
4.8. Biomassa.....	70
4.8.1. Casina Vanvitelliana (CV).....	71
4.8.2. Foce di Mezza Chiaja (FdM).....	73
4.8.3 Peschiera Romana (PR).....	75
4.9. Condition index (CI).....	77
4.9.1. Stadi di maturazione degli ovari.....	80

CAPITOLO V

5.1. Discussione.....	87
5.2. Tolleranza termo-alina.....	87
5.3. Dinamica di popolazione e ciclo ovarico a Venezia e Taranto.....	89
5.4. Eterocronie tra i tre siti del Lago Fusaro.....	92
5.5. Conclusioni.....	96
Bibliografia.....	100

Introduzione

La storia del progresso scientifico, e in particolare quello della biologia insieme con l'implementazione delle tecnologie d'indagine, è stata continuamente contraddistinta dalla ricerca degli strumenti più adatti per affrontare la risoluzione delle domande per le quali trovare una soluzione semplice e dai risultati efficaci. La diffusione dei sistemi modello biologici ha favorito la conoscenza a vario livello di complessità e di risoluzione interdisciplinare, grazie alla varietà di organismi filogeneticamente diversi fra loro che hanno contribuito a dare la chiave di lettura di fenomeni biologici complessi. Per comprendere gli aspetti più difficoltosi da risolvere delle scienze della vita è stato utile selezionare diversi modelli semplici con i quali studiare un fenomeno biologico complesso, oggetto di una precisa domanda scientifica da risolvere. Negli ultimi decenni molte conoscenze della biologia moderna si fondano proprio sui risultati ottenuti dai sistemi biologici modello selezionati, sulla riproducibilità dei protocolli e la condivisione dei dati, favorendo l'implementazione metodologica di studio e la migliore risposta possibile alle domande biologiche che i gruppi di ricerca continuano a porsi per fornire ulteriori riscontri ad importanti filoni di ricerca applicata soprattutto in ambito disciplinare biomedico.

Un organismo modello è una specie intensivamente studiata per seguire e comprendere fenomeni biologici e ecologici, in base al presupposto che le conoscenze e i dati acquisiti possano fornire indicazioni riproducibili anche su altri tipi di organismi filogeneticamente diversi fra loro. Ciò è possibile grazie al fatto che i principi biologici fondamentali, come le vie metaboliche, di regolazione, dello sviluppo, e i geni che le codificano si conservino attraverso l'evoluzione. Il presupposto fondamentale per il successo sperimentale di un organismo o sistema biologico modello è la sua facile reperibilità, l'allevamento e la possibilità di riprodurlo con successo in condizioni di sussistenza a basso costo per pianificare a tempo pieno l'attività scientifica di un gruppo di ricerca. La specie studiata per questo progetto è l'ascidia solitaria *Ciona intestinalis* sp A vivente nel Mar Mediterraneo, una comune specie di invertebrato bentonico sessile marino che ha importanti rapporti filogenetici con i vertebrati (Fig. 1). La specie è nota alla comunità scientifica come uno tra i più studiati organismi modello per la sua facilità di condizionamento sperimentale per ottenere embrioni sia con la tecnica sia dell'autofecondazione sia con la fecondazione eterologa (Rosati e De Sanctis, 1978). La

versatilità sperimentale di *C. intestinalis* sp A ha permesso di ottenere importanti risultati sperimentali per studi di embriologia, di genetica e di “-omica” in generale (Delsuc *et al.*, 2006; Lemaire *et al.*, 2008; Ferrier, 2011; Tsagkogeorga *et al.*, 2012), e diversi strumenti biomolecolari grazie al completo sequenziamento del suo genoma (Dehal *et al.*, 2002; Kano *et al.*, 2006; Matsumoto *et al.*, 2010; Cutter and Agrawal, 2010; Satou *et al.*, 2012).



Fig. 1. Fondale colonizzato da *Ciona intestinalis* sp A.

Questa specie, nell’area mediterranea, è considerata un importante bioindicatore di acque inquinate (Papadopoulou e Kania, 1977; Naranjo *et al.*, 1996), grazie alla sua resistenza a diversi tipi di contaminanti (Bellas *et al.*, 2004; Cusimano Carollo e Canicattì, 1983; Gallo *et al.*, 2011).

Uno degli aspetti per il quale il progetto è stato sviluppato è correlato al non facile mantenimento in cattività della specie (Joly *et al.*, 2007) e alla dipendenza della sperimentazione portata avanti rispetto alla disponibilità con individui raccolti in natura. Lo studio della dinamica di popolazione del taxon in ambiente naturale è lo scopo principale della ricerca per ottenere le informazioni ecologiche necessarie atte a comprendere cosa accade durante il ciclico scomparire di questo organismo modello dai siti di approvvigionamento, evento periodico che rallenta la routine lavorativa dei gruppi di ricerca della Stazione Zoologica. Inoltre, la raccolta della specie in ambiente naturale corredata dalla raccolta dei principali parametri ambientali quali temperatura, salinità e concentrazione di ossigeno, la presenza e concentrazione di inquinanti nel sito di studio individuato è un primo dataset ecologico temporale aggiornato utilizzabile anche dalle altre discipline che studiano questo organismo modello.

Il sito di studio individuato è il Lago Fusaro (Fig. 2), una laguna salmastra, dove la specie è stata raccolta per molto tempo e in determinati momenti dell'anno è particolarmente abbondante. Il sito scelto è uno specchio d'acqua con evidente eutrofia e un progressivo cronico inquinamento antropico dagli anni '60 che sintetizza molto bene tutte le caratteristiche ambientali necessarie alla vita di *C. intestinalis* sp A.



Fig. 2 Il Lago Fusaro.

De Pippo *et al.* (2004) hanno sottolineato la situazione di degrado ambientale del luogo, rendicontando la distribuzione nei sedimenti del Lago Fusaro delle concentrazioni di metalli pesanti. Un nuovo set di dati raccolti durante il presente lavoro di dottorato ha confermato la capacità di assorbimento di metalli pesanti da parte di della specie senza che ciò possa, apparentemente, inficiare il suo ciclo vitale nel Lago Fusaro (Pignatelli, 2010; Abbruzzese e D'Argenzio, 2012).

CAPITOLO I

Descrizione del progetto di ricerca

1.1. Obiettivi della ricerca

I dati riguardanti l'ecologia e la dinamica di popolazione di *C. intestinalis* sp A dell'area mediterranea sono pochi e datati, così come quelli sul ciclo riproduttivo e la sensibilità termale a differenti stadi ontogenetici studiati in laboratorio (Pérès, 1952; Sabbadin, 1958; Relini, 1964; Fiala-Médioni, 1974; Brunetti e Menin, 1977; Scalera Liaci *et al.*, 1977; Marin *et al.*, 1987). Questi lavori pur rappresentando un importante punto di riferimento non sempre riportano i dati dei parametri chimico-fisici in ambiente naturale. Evidenziare quanto sia importante la variabilità chimico-fisica ambientale e l'influenza che essa ha nel sito di studio e su *C. intestinalis* sp A è importante per capire l'accrescimento ponderale, l'accumulo di biomassa, il ciclo ovarico durante i picchi riproduttivi. Questi aspetti rappresentano, nel loro complesso, lo scopo del progetto per seguire come e perchè le fluttuazioni periodiche della specie in popolazioni naturali seguano i ritmi di variabilità ambientale imposti dal ciclo delle stagioni nel Lago Fusaro che causano la periodica scomparsa del taxon (Carrada, 1963; 1973). Il riscontro tra la variabilità stagionale dei parametri ambientali e la dinamica di popolazione di *C. intestinalis* sp A è importante per poter stabilire quale relazione esiste tra l'organismo e la variabilità ambientale che influenza il numero di generazioni, la lunghezza della vita e la strategia riproduttiva (Dybern, 1965; 1967).

1.2. Fasi del progetto

Il progetto si è articolato in più fasi considerando gli obiettivi da conseguire:

Parte I

1. Raccolta dei dati ecologici, sulla dinamica di popolazione e il ciclo riproduttivo disponibili in letteratura;
2. Confronto per aree geografiche;
3. Monitoraggio sul campo del Lago Fusaro per seguire la presenza/assenza stagionale di *Ciona intestinalis* sp A;
4. Individuazione dei punti con immissioni di acque dolci o inquinanti come fattori di disturbo ambientale;
5. Elaborazione del piano di campionamento;

Obiettivi

1. Acquisizione e confronto dei dati esistenti;
2. Differenze regionali e stagionali relative alle fluttuazioni della specie e ai cicli climatici;
3. Selezione dei punti di campionamento rappresentativi lungo un transetto prossimale-distale rispetto all'unica foce attualmente attiva del Lago Fusaro;
4. Influenza delle immissioni inquinanti rispetto ai siti di campionamento;

Parte II

Fasi del progetto

1. Campionatura degli individui in ambiente naturale e misurazione sul campo dei parametri ambientali;
2. Collezionatura dei dati ponderali degli individui raccolti e studio istologico degli ovari per seguire il ciclo ovarico;
3. Valutazione della dinamica di popolazione rispetto alla variabilità dei parametri ambientali.

Obiettivi

1. Valutazione delle variazioni numeriche e dei dati ponderali di biomassa;
2. Valutazione della dinamica di popolazione e del ciclo ovarico;
3. Valutazione dell'influenza delle variazioni dei parametri ambientali.

Parte III

Fasi del progetto

1. Analisi dei dati e dei risultati.

Obiettivi

1 Confronto con lo stato dell'arte e discussione dei dati.

1.3. Materiali e metodi

La raccolta dei dati bibliografici è stata importante per pianificare la metodologia di approccio al progetto che è stata portata avanti con il lavoro di raccolta dei dati sul campo e, in seconda battuta, con la fase di lavoro in laboratorio. Il primo step è stato quello di scegliere la strategia di campionamento più adeguata per la raccolta degli individui della specie. La raccolta di organismi bentonici su fondi duri pone diversi problemi metodologici sia di raccolta sia per la successiva valutazione dei dati. È quindi importante scegliere con cura l'area minima di campionamento significativa considerando le caratteristiche dell'ambiente e della specie da raccogliere (Lundälv, 1971).

Lo scenario ambientale scelto è il Lago Fusaro (Fig. 3), una laguna salmastra le cui caratteristiche ambientali saranno discusse in seguito, e il lavoro sul campo è stato portato avanti in collaborazione con i tesisti del Dipartimento Dipartimento di Chimica "Paolo Corradini" dell'Università Federico II. Dal giugno 2010 in poi è stata effettuata una serie di ricognizioni lungo le zone perimetrali, accessibili a piedi esclusi i fondi privati, del Lago Fusaro per localizzare i siti con le migliori caratteristiche dei punti da campionare e per individuare la presenza di individui della specie. La scelta dei punti è stata fatta valutando la distanza dagli scarichi presenti lungo il perimetro lagunare e considerando la variabilità temporale della loro portata che crea un importante fattore di disturbo alle comunità bentoniche presenti nell'area di influenza delle plûmes di acque reflue domestiche, urbane e industriali. I punti scelti come stazioni di campionamento sono tre, e si è considerato un transetto prossimale-distale rispetto alla foce e i suoi apporti di acqua marina. La prima stazione di campionamento è stata selezionata in

prossimità dello sbocco nel lago della Foce di Mezza Chiaja, quella maggiormente influenzata dai flussi di marea, la seconda, quella più interna, è stata scelta sul pilone centrale del ponte che collega la Casina Vanvitelliana alla terra ferma; queste due stazioni sono state scelte per poter dare continuità a risultati di studi biomolecolari pregressi ottenuti da individui raccolti nei due siti. La terza ed ultima stazione di campionamento è stata individuata presso la Peschiera Romana, nell'angolo sud-occidentale del Lago Fusaro (Fig. 3). I controlli sul campo sono stati effettuati da terra e in immersione, inizialmente con cadenza settimanale e dal Marzo 2011 mensilmente per individuare la presenza *in situ* di individui di *C. intestinalis* sp A nelle parti immerse non osservabili da terra, insieme con la registrazione delle misurazioni parametriche e la campionatura degli individui utilizzati per questa indagine.

Il lavoro sul campo è stato organizzato dando la precedenza alle misure registrate con la sonda multi parametrica Multi Water Quality Checker U 50 (Fig. 4), dotata di GPS differenziale, per raccogliere i valori dei parametri ambientali nella colonna d'acqua a 0.5 m, corrispondente alla quota di campionamento degli animali.



Fig. 3. Dislocazione delle stazioni di campionamento al Lago Fusaro. 1) Foce di Mezza Chiaja (FdM); 2) Peschiera Romana (PR); 3) Casina Vanvitelliana (CV). Le frecce rosse indicano la distanza tra i punti campionati; le frecce gialle indicano gli scarichi urbani e misti individuabili dal contrasto delle plumes; la freccia grigio chiaro indica l'ubicazione della sorgente idrotermale "Grotta dell'Acqua".

I parametri misurati sono la temperatura, la salinità, la concentrazione di ossigeno, e la torbidità dell'acqua. Le stazioni sono state codificate con degli acronimi, e saranno

citate nel testo con le sigle loro attribuite, e si è provveduto a stabilire il punto GPS dei siti di campionamento come riportato nella Tab. 1.

Quando possibile, sono state effettuate foto e filmati in immersione dei popolamenti studiati della specie target con una fotocamera digitale Canon PowerShot A80 e la sua scafandratura. Successivamente alle misurazioni parametriche e alla documentazione fotografica sono stati raccolti gli individui di *C. intestinalis* sp A per lo studio della dinamica di popolazione. La superficie campionata è di 15 X 15 cm corrispondente 225 cm², pari a 0.44 m². Per ogni sito sono stati raccolti in modalità random, altri cinque individui possibilmente di taglia differente per l'analisi dello sviluppo ovarico. Il materiale raccolto è stato refrigerato e trasportato il più rapidamente possibile in laboratorio dove si è provveduto a fissare in etanolo assoluto gli individui per lo studio di dinamica di popolazione. Successivamente alla fissazione gli individui raccolti sono stati lavati in acqua corrente per allontanare gli epibionti presenti e i corpi estranei attaccati agli individui, talvolta allo stereo microscopio.

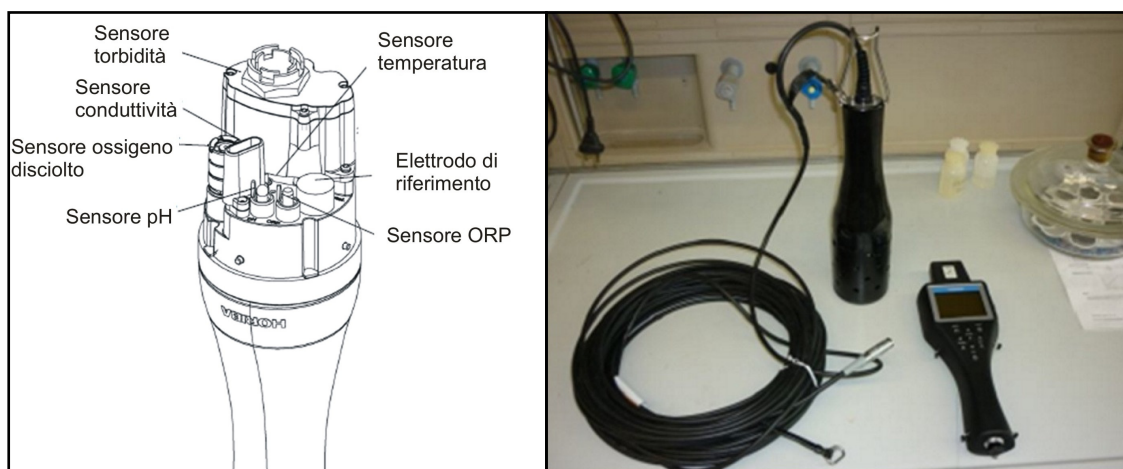


Fig. 4. Sonda Multiparametrica utilizzata per le misurazioni.

Stazione di campionamento	Sigla di riconoscimento delle stazioni	Coordinate geografiche GPS del punto a terra	Quota di campionamento
Casina Vanvitelliana	CV	40°49' N 14°0' E	0.5 m
Foce di Mezza Chiaja	FdM	40°49' N 14°03' E	0.5 m
Peschiera Romana	PR	40°49' N 14°03' E	0.5 m

Tab. 1. Acronimi utilizzati per identificare i punti di campionamento, loro coordinate geografiche e quota di raccolta degli individui.

Effettuata questa operazione si è provveduto alla separazione tra corpo e tunica degli individui che sono stati pesati con una bilancia Sartorius TE 1502S fino al 0.00g e numerati singolarmente per ogni stazione di campionamento. Il peso umido così ottenuto delle due porzioni è stato tabulato per ogni individuo raccolto in ogni stazione di campionamento. I campioni dopo la registrazione del peso umido sono stati collocati in una stufa a 105° C per 24 ore per allontanare l'acqua presente nei tessuti primari e ottenere i pesi secchi di tunica e soma dei singoli individui, utilizzando una bilancia analitica Sartorius R160P con un approssimazione di 0.0000g che sono stati a loro volta tabulati per il confronto con i risultati dei pesi umidi (Fig. 5).

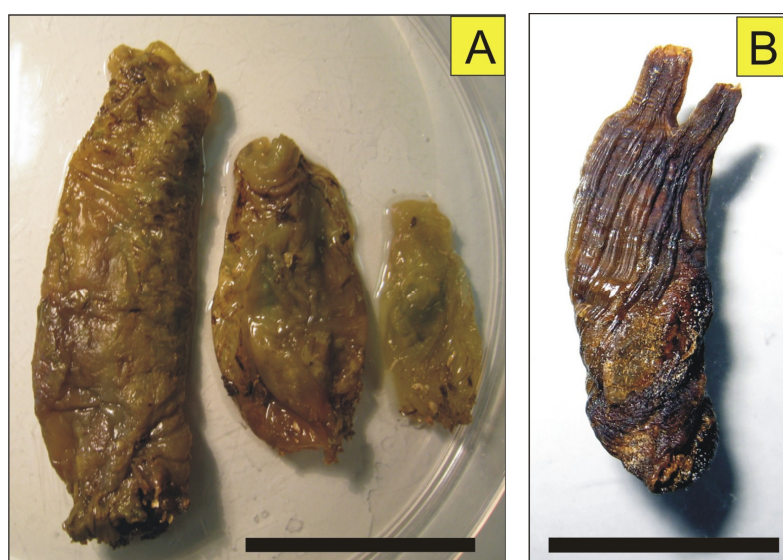


Fig. 5. Aspetto di *Ciona intestinalis* sp A umida e secca.

Si è scelto di utilizzare il metodo ponderale come parametro per individuare delle classi di grandezza degli individui della specie piuttosto di quello lineare, perché la contrattilità dei singoli esemplari dopo la fissazione in etanolo è molto variabile e perché gli individui adulti di *C. intestinalis* sp A si ancorano al substrato deformandosi e non sono confrontabili con delle misure lineari (Turon, comunicazione personale). Inoltre, si è constatato che a parità di grandezza lineare non si ha corrispondenza ponderale (Tab. 2). Gli individui raccolti per l'analisi dello sviluppo ovarico sono stati dissezionati subito dopo la raccolta in vivo, al rientro in laboratorio, e gli ovari sono stati fissati overnight nel liquido di Bouin. Dalla mattina successiva si è provveduto ad allontanare dal tessuto ovarico il liquido di Bouin in eccesso con ripetuti passaggi in etanolo 75° finché l'alcol non risultava del tutto limpido. Gli ovari sono stati inglobati in

paraffina e tagliati con un microtomo Leica RM2245 in sezioni seriali da 7 μm , colorate con il protocollo di colorazione eosina-ematossilina. Dalle sezioni istologiche ottenute si sono scelti i preparati ovarici tagliati lungo l'asse sagittale maggiore per valutare lo stato ovarico e sono stati misurati con il freeware Image J per calcolare l'andamento dimensionale nel tempo. Con i pesi secchi degli individui si è calcolato il Condition Index (CI) per seguire nel tempo le variazioni ponderali nelle tre stazioni di campionamento considerando il tessuto effettivamente organizzato nella frazione somatica da *C. intestinalis* sp A e confrontando questo indice con lo sviluppo ovarico, incrociando i risultati con i parametri ambientali misurati. I dati meteo-climatici sono stati ottenuti dalla stazione meteorologica di Licola Cuma, del Centro Agrometeorologico Regionale (C.A.R.), struttura del Se.S.I.R.C.A., a cui fa capo la Rete Agrometeorologica Regionale (R.A.R.).

	Lunghezza in cm	Peso umido in grammi		Peso umido totale in grammi	Peso secco in grammi		Peso secco totale in grammi
		Tunica	Soma		Tunica	Soma	
Individuo n. 1	3 cm	0.36	0.24	0.6	0.02	0.03	0.05
Individuo n.2	4 cm	1.29	0.74	2.03	.009	0.06	0.15
Individuo n. 3	5 cm	1.39	0.94	2.33	0.09	0.07	0.16
Individuo n. 4	8 cm	3.59	2.27	5.86	0.23	0.21	0.44
Individuo n. 5	8 cm	3.34	2.20	5.54	0.19	0.16	0.35
Individuo n. 6	9 cm	4.03	1.96	5.99	0.20	0.20	0.40
Individuo n 7	10 cm	5.06	2.93	7.99	0.26	0.18	0.44
Individuo n. 8	11 cm	3.04	2.16	5.20	0.18	0.18	0.36
Individuo n. 9	11 cm	5.80	3.86	9.66	0.32	0.29	0.61
Individuo n. 10	12 cm	4.21	2.58	6.79	0.22	0.21	0.43
Individuo n. 11	13 cm	9.10	6.83	15.93	0.49	0.43	0.92
Individuo n. 12	14 cm	5.29	3.97	9.26	0.28	0.25	0.53
Individuo n. 13	16 cm	8.88	5.26	14.14	0.40	0.45	0.95

Tab. 2. Confronto tra esemplari di taglia lineare uguale, ma con peso differente per rimarcare la non corrispondenza tra la lunghezza lineare e peso. In evidenza gli individui di uguale lunghezza e peso differente.

CAPITOLO II

2.1. Generalità sugli ASCIDIACEA

Phylum CHORDATA

Subphylum TUNICATA (= UROCHORDATA)

Classe ASCIDIACEA

I Chordata sono organismi marini diffusi in tutti gli oceani e i mari del mondo. Il subphylum Tunicata (= Urochordata) è quello con il maggior numero di specie, distribuite dall'artico all'antartide e dalla zona litorale fino alle grandi profondità abissali (Monniot *et al.*, 1991). Si stima che esistano circa 2800-3000 specie di ascidia, 20-25 di sorberacei un controverso gruppo abissale carnivoro, 75 appendicularie e 85 taliacei che invece sono pelagici (Fig. 6 e 7). Gli organismi di questo gruppo zoologico, vengono più comunemente chiamati tunicati per la loro caratteristica di avere un involucro esterno, la tunica, di natura cellulosa che può avere consistenza e spessore variabili e la sua colorazione può essere biancastra e trasparente, mentre in alcune specie il suo colore varia dal rosso al viola o al giallo (Tursi, 1980a) (Fig. 6).



Fig. 6 Variabilità morfologica e cromatica degli Ascidiacea bentonici. A) *Halocynthia papillosa*; B); *Polycarpa aurata*; C) Sorberaceo abissale carnivoro; D) *Styela plicata*.

Le ascidie vivono tutte al di sotto del livello di marea e non tollerano l'essiccazione e l'esposizione all'aria. La distribuzione delle specie appartenenti alla Classe Ascidiacea è influenzata dalla temperatura, la salinità, la luce, l'idrodinamismo e sono poco tolleranti alla torbidità (Lambert, 2007; Bates, 2005). La maggior parte delle specie popola habitat più o meno protetti caratterizzati da un buon movimento d'acqua che allontana l'eccesso di particelle solide in sospensione, ed evitano aree dove il moto ondoso è forte. Molte specie, attualmente, risultano rarefatte nei loro habitat originari in seguito all'inquinamento e all'eutrofizzazione determinando in alcuni casi forti abbattimenti della biodiversità delle comunità bentoniche e quando le condizioni ambientali migliorano, molte specie possono rapidamente ripopolare le zone da cui erano scomparse (Lambert, 2007). Diverse specie, invece prosperano in ambienti inquinati e sono in grado di tollerare e accumulare allo stadio adulto varie concentrazioni di contaminanti ambientali. Negli ultimi anni molte specie, inclusa quella studiata, si sono diffuse come specie non-indigene o aliene interferendo con la biodiversità locale creando problemi ambientali, e ingenti danni economici (Carver *et al.*, 2003; 2006; Lambert, 2007; Mack e D'Antonio, 1998).

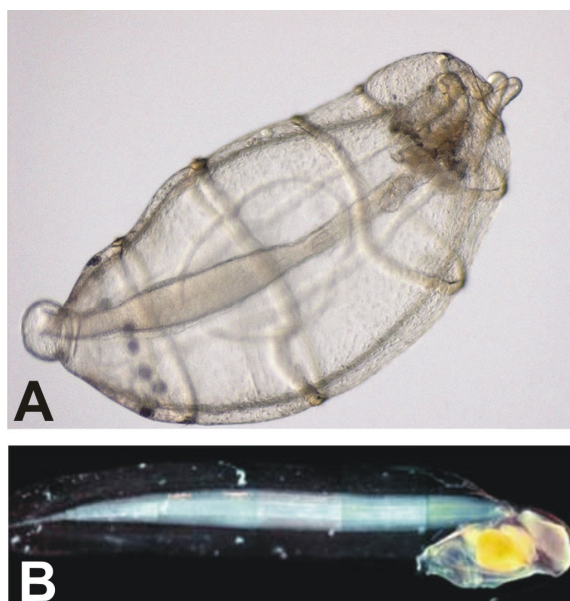


Fig. 7. Morfologia dei tunicati pelagici. A) *Thalia democratica*; B) *Oikopleura dioica*.

Gli Ascidiacea sono organismi esclusivamente marini, filtratori bentonici sessili o pelagici, solitari o coloniali, in grado di colonizzare qualsiasi substrato naturale o costruito dell'uomo su cui aderiscono, ma quelli bentonici preferiscono i substrati naturali rocciosi. Possono vivere da 0 a 8000 m di profondità, ma la maggior parte delle

specie è litorale e sono frequenti come epibionti. Nel Mar Mediterraneo sono state censite circa 200 specie, ma si ritiene che il numero sia sottostimato (Tursi, 1980a). Sono caratterizzati da una morfologia esterna molto variabile (Fig. 6) e in alcuni casi il loro riconoscimento a livello specifico può essere effettuato solo osservando la morfologia interna degli organi distintivi con caratteri diagnostici specifici. Hanno un aspetto generale sacciforme e sono dotati di un sifone branchiale o inalante (orale) e uno esalante (cloacale o atriale); quello branchiale ha il margine superiore lobato e munito all'interno di una corona di ciglia che impediscono l'ingresso di particelle troppo grandi trasportate dall'acqua (Fig. 8).

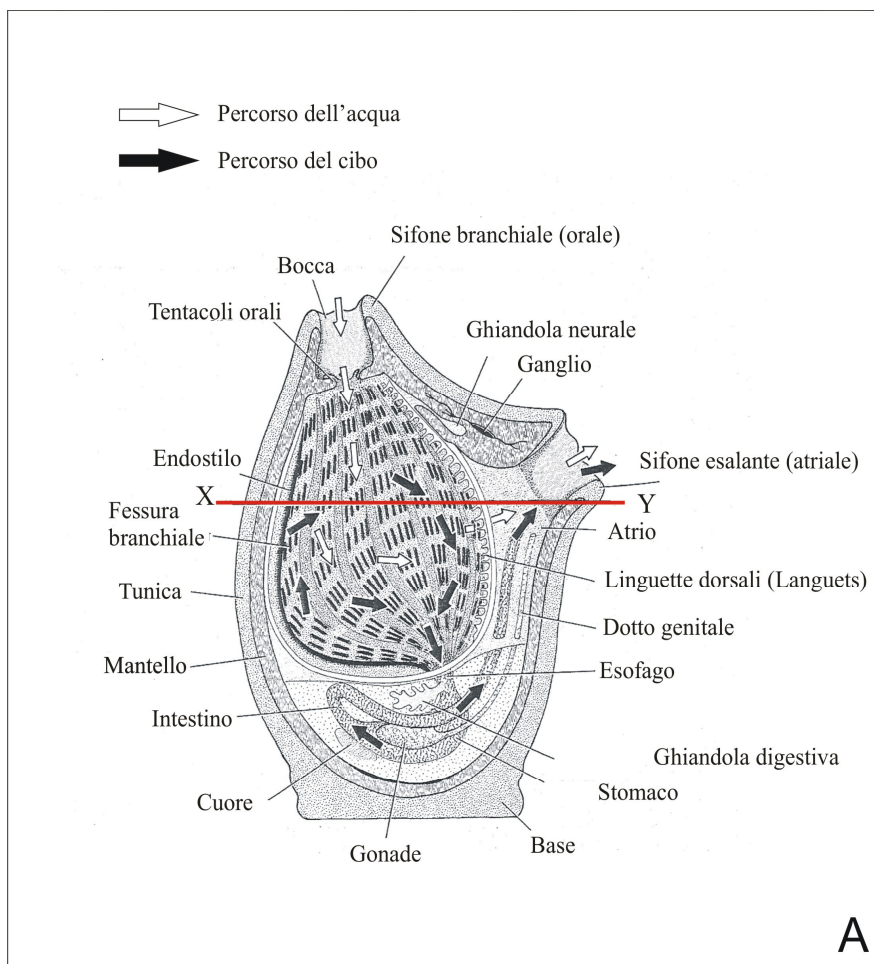


Fig 8A. Schema morfologico - funzionale di un'ascidia bentonica e percorso dell'acqua e del cibo nel faringe.

È presente una muscolatura longitudinale e circolare che consentono una rapida chiusura in caso di contrazione dell'individuo. Il sifone inalante convoglia l'acqua nel cestello branchiale, una struttura sacciforme a parete ciliata che funziona da filtro trattenendo le particelle organiche o planctoniche che il flusso d'acqua deposita

scorrendo al suo interno. Le pareti laterali sono perforate da fessure allungate dette stigmi, disposte in numero variabile di file trasversali (Fig. 8). Il sacco branchiale contiene una profonda doccia ciliata detta endostilo a funzione secernente omologa della tiroide dei vertebrati superiori (Fig. 8). I bordi ciliati dell'endostilo, al di sotto dei sifoni divergono lateralmente e vanno a costituire la doccia pericoronale, che si estende al di sopra del cestello branchiale. Il cestello branchiale si continua con l'esofago cui seguono lo stomaco e l'intestino ripiegato ad U, il quale termina con il retto; quest'ultimo sbocca infine, mediante l'apertura anale, nella cavità cloacale. Il sifone esalante o cloacale permette l'epulsione dell'acqua filtrata e delle fecal pellets. Il faringe, oltre a svolgere una funzione respiratoria svolge anche un'azione filtrante, e la posizione del cuore è variabile, ma in genere è vicina allo stomaco (Fig 8).

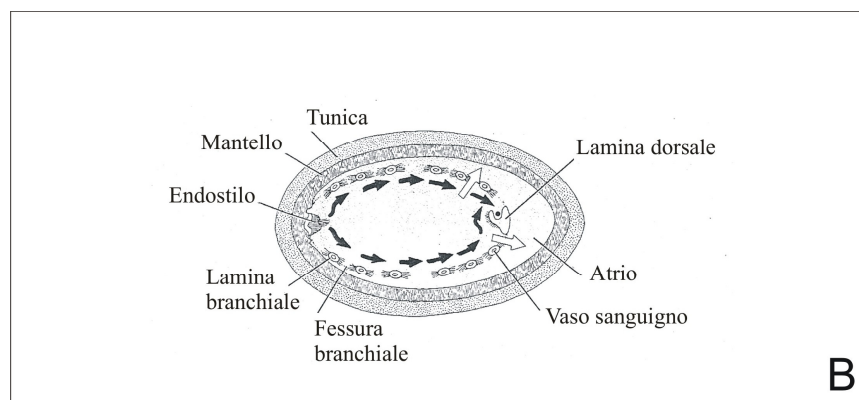


Fig. 8B. Sezione trasversale di un'ascidia a livello del piano X-Y.

Il sistema nervoso è costituito da un grosso ganglio cerebrale situato tra i due sifoni, da cui si dipartono due nervi anteriori e due posteriori. Gli Ascidiacea sono ermafroditi e le gonadi occupano posizioni variabili e sono provviste di dotti genitali che sboccano nella cavità cloacale. La fecondazione può avvenire nella cavità cloacale o può essere esterna. Hanno un ciclo vitale bifasico con un adulto bentonico sessile e una fase larvale pelagica di durata variabile (Fig. 9 e 10).

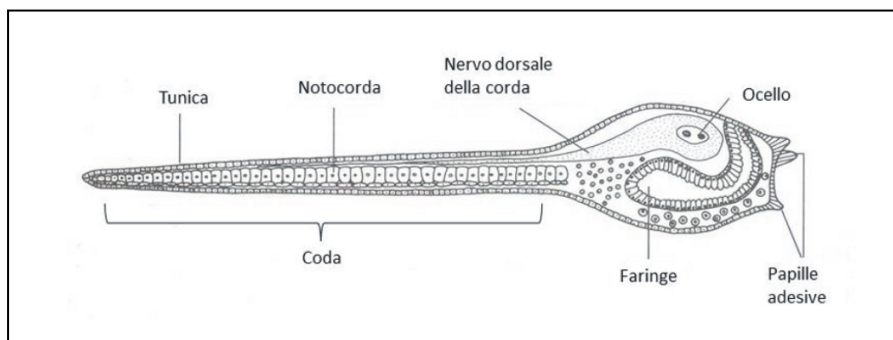
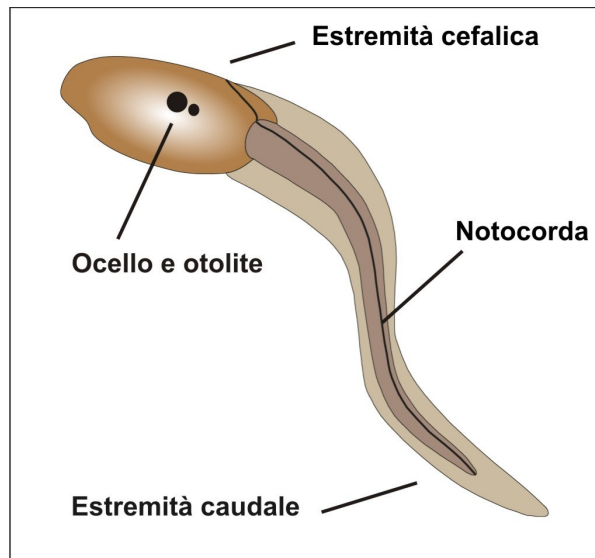


Fig. 9. Schema generalizzato di larva girinomorfa con i principali organi.

Dall'uovo si sviluppa una larva lecitotrofica, detta girinomorfa (tadpole larva), che nuota sul pelo dell'acqua utilizzando la riserva di vitello di cui è dotata, è munita di una coda nella quale è presente la corda da cui il nome urocordati (dal greco *uros* = coda). Sono di piccole dimensioni e superano di rado la lunghezza di 1 mm e hanno un ocello fotosensibile e un'otolite statorecettore (Fig. 9).

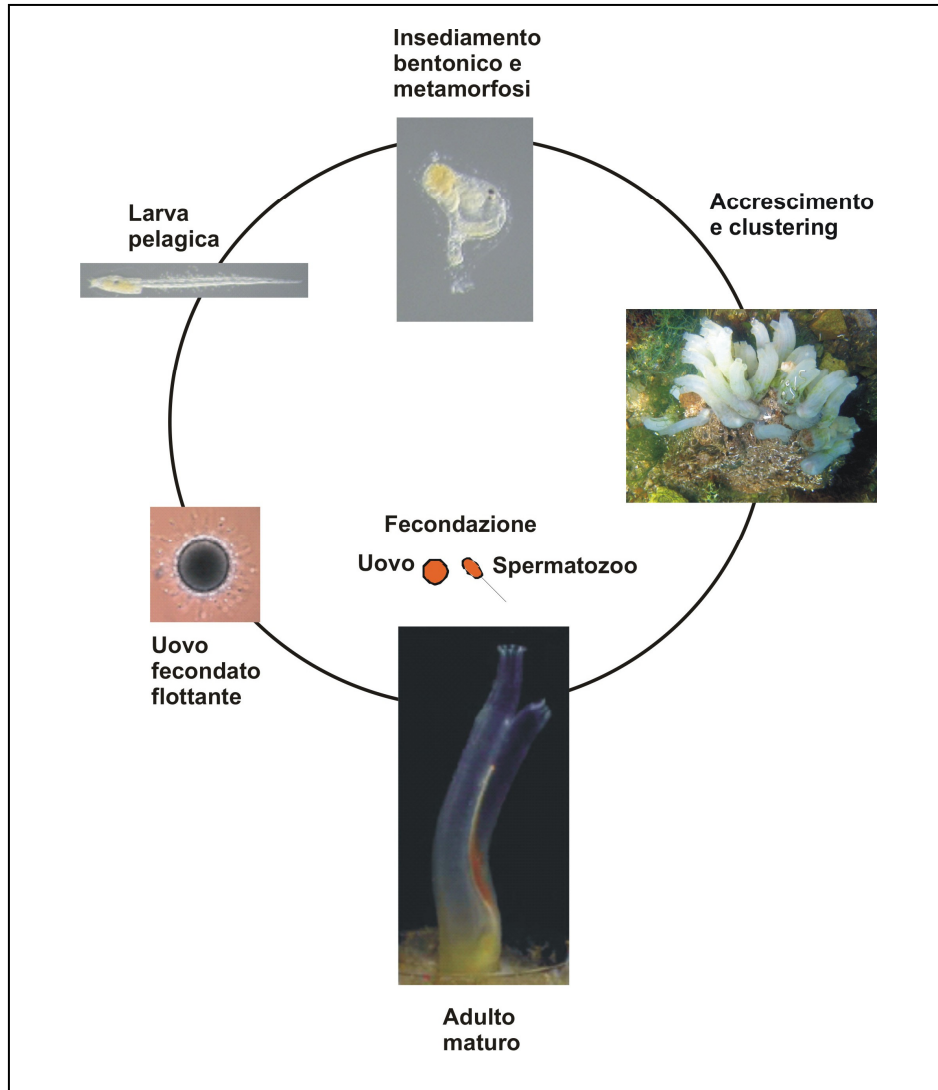


Fig. 10. Schema bifasico del ciclo vitale bifasico delle ascidie solitarie.

2.2. Inquadramento e generalità sulla specie *Ciona intestinalis* sensu Linnaeus (1767)

Phylum: CHORDATA
 Subphylum: TUNICATA
 Classe: ASCIDIACEA
 Ordine ENTEROGONA
 Sottordine: PHLEBOBRANCHIA
 Famiglia: Cionidae
 Genere : *Ciona*
 Specie: *Ciona intestinalis*

La specie è stata descritta da Karl Linneus (1767, p. 1087) nel *Systema Naturæ* con il nome di *Ascidia intestinalis* fornendo una breve descrizione qui riportata: “A. (= *Ascidia*) laevis alba membranacea” e riportando come località tipo “Habitat in Oceano Europeo” (= Oceano Atlantico). Precedentemente la specie era già stata descritta, in modo incompleto da Bohadsh (1761), come *Tethium fasciculatum* e questo autore la rappresenta evidenziando la caratteristica di formare dei clusters multigenerazionali di taglia differente, che Gunnerus (1765) descrisse a sua volta come *Tethium sociabile* per evidenziare questa particolarità dell’organismo (Fig. 11). Nel corso degli anni si sono succedute numerose descrizioni della specie, da numerose località del mondo, la cui sinonimia è stata riassunta da Hoshino e Nishikawa (1985).

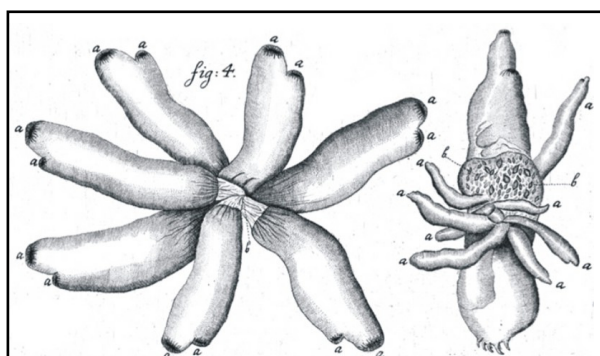


Fig. 11. Illustrazione originale di Bohadsc (1761) che fa risaltare la caratteristica dell’organismo di formare gruppi multigenerazionali.

La specie è il modello anatomico della Classe Ascidiacea, ed è stata descritta in dettaglio in un lavoro monografico da Millar (1953). È una specie eurialina e euriterma, cioè si adatta alle variazioni di salinità e temperatura, (Dybern, 1967; Lambert, 2005 Lambert e Lambert; 1998; 2003; Lundälv e Christie, 1986). Lungo le coste dell’Europa

settentrionale continentale e lungo le coste insulari del Regno Unito vive in insenature poco collegate al mare, fiordi e porti alcuni dei quali regimentano il flusso d'acqua con il periodico aprirsi delle chiuse che li separano dal mare (Millar, 1952; Dybern, 1965; Naylor, 1965; Gulliksen, 1972; 1973; Petersen e Svane, 1995; Riisgård *et al.*, 1998). Gli habitat colonizzati dal taxon nella regione mediterranea condividono una serie di caratteristiche ambientali, come un ridotto scambio idrico con il mare, inquinamento antropico e un regime delle acque eurialino e euritermo influenzato dal ciclo climatico locale (Sacchi, 1979). Da un punto di vista ecologico è una tipica specie del fouling delle biocenosi di acque portuali inquinate (IETP *sensu* Pérès e Picard, 1964; Ardizzone *et al.*, 1977; Mazzola e Riggio, 1977), e delle biocenosi lagunari eurialine e euriterme (LEE *sensu* Pérès e Picard, 1964) dove le comunità del benthos sessile sono rappresentate da un ridotto numero di specie ben adattate alle ampie variazioni ambientali (Carrada, 1963; 1973). Gli individui adulti della specie hanno la forma del corpo sub-cilindrica che può raggiungere una taglia lineare massima media di 15 cm e un diametro di 3 cm (Carver *et al.*, 2006). Si fissa al substrato con la parte basale mediante dei rizoidi digitiformi e dalla parte opposta ci sono due sifoni tubulari con i margini lobati (Fig. 12A-B; Fig. 13B). La tunica è semi-trasparente di consistenza gelatinosa, consentendo di osservare l'anatomia interna degli individui (Fig. 13A), ma con il tempo si ispessisce diventando cuoiosa e assume uncolorito verdognolo-brunastro. Gli adulti hanno fototropismo positivo e il corpo cresce allungandosi e orientandosi verso la direzione prevalente dell'illuminazione con le aperture sifonali rivolte verso la luce e possono piegarsi coprendo un ampio angolo in direzione dello stimolo luminoso (Millar, 1953). Il tropismo determina, rispetto alla posizione sul substrato, di quanto il corpo di un individuo aderisce al supporto deformandosi (Fig. 13A). Se disturbati gli individui si contraggono rapidamente, grazie alla sviluppata muscolatura longitudinale e circolare che si trova tra il corpo e la tunica (Fig. 12A). il sifone orale o inalante che si continua lungo l'asse del corpo è orientato antero-ventralmente e il sifone atriale o esalante, in posizione obliqua è in posizione laterale. Per orientare un individuo di *C. intestinalis* si procede nel seguente nel seguente modo (Millar, 1953) (Fig. 12A):

- 1) lato anteriore: sifone branchiale o inalante;
- 2) lato posteriore: area di ancoraggio al substrato recante i rizoidi;
- 3) lato dorsale: il lungo lato dal quale il sifone atriale si estende obliquamente;
- 4) lato ventrale; il lato opposto a quello dorsale.

Il corpo è diviso in un'ampia cavità che contiene il cestello branchiale e una ridotta cavità viscerale dove si trovano gli organi digestivi e riproduttivi (Millar, 1953; 1971).

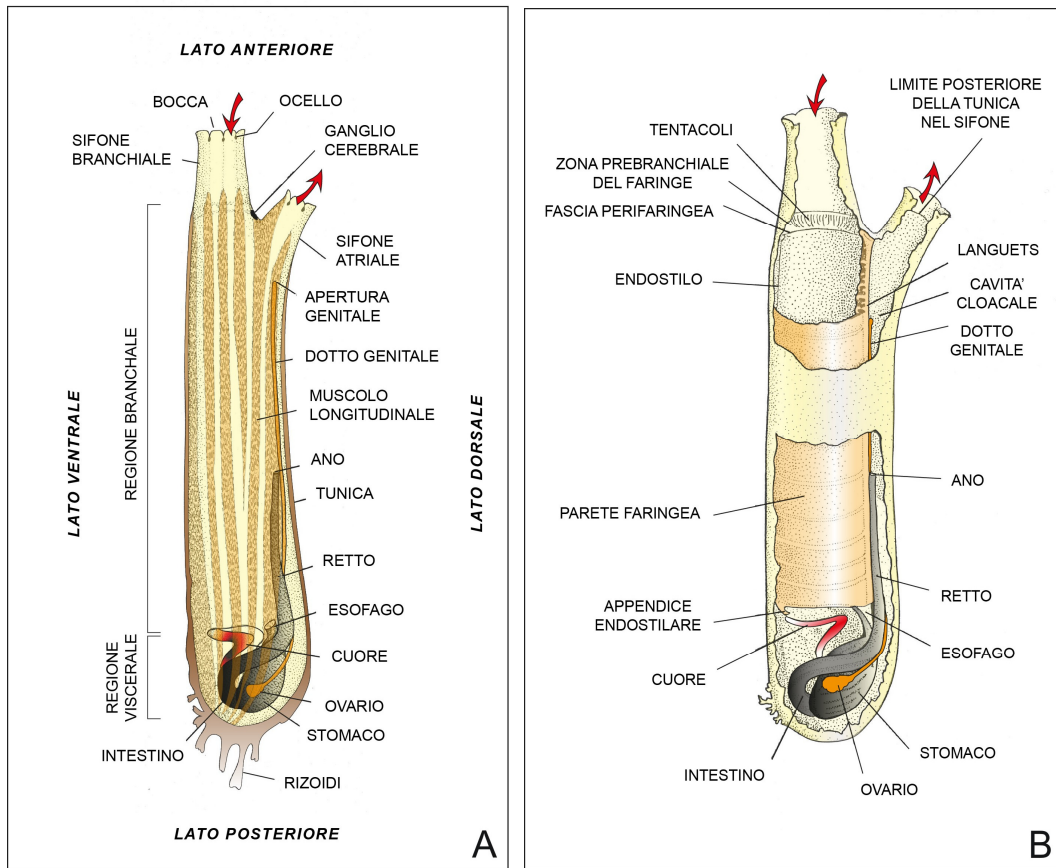


Fig. 12. A) *C. intestinalis* sp A vista dal lato destro e principali caratteristiche anatomiche osservabili in trasparenza; B) Parti osservabili rimuovendo la tunica dal lato sinistro di un individuo, si notano la regione branchiale e la regione faringea e la disposizione degli organi interni.

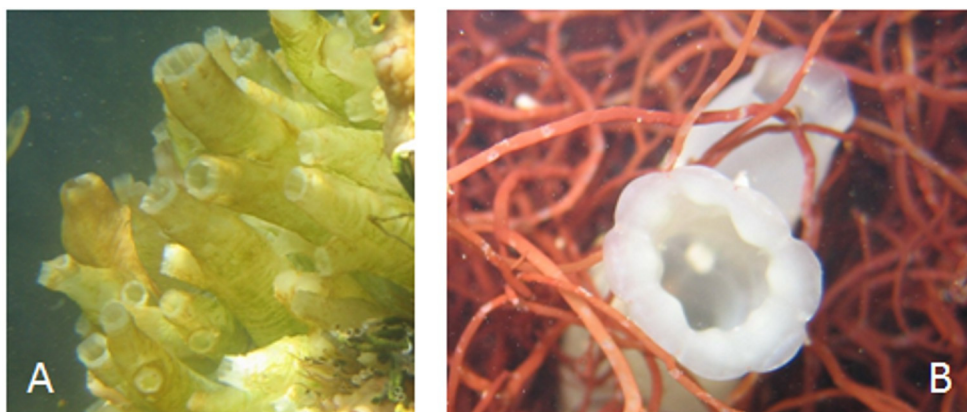


Fig. 13. A) Aspetto della tunica quando non è più trasparente; B) dettaglio dei lobi sifonali

Il sifone inalante si apre nel cestello branchiale, o faringe, caratterizzato da fessurazioni chiamate stigmata (Fig. 8), che sono diagnostiche a livello specifico (Millar, 1971; Carver *et al.*, 2006). Le ciglia presenti nelle aperture stigmatali o ostii dirigono l'acqua

dal sacco branchiale nella cavità atriale dove viene espulsa dal sifone atriale o esalante (Fig. 12A). L'endostilo ha la forma di una barretta, dislocato lungo la parete del cestello branchiale, secerne continuamente un reticolo mucoso che cattura le particelle alimentari raccolte formando un cordoncino che dalle languets della lamina dorsale vengono trasportate all'esofago e allo stomaco che si trova al di sotto del cestello branchiale (Millar, 1953; 1970; Flood e Fiala-Médioni, 1981) (Fig. 12A - B). Le particelle alimentari vengono convogliate nell'intestino che si piega verso l'alto dalla base dello stomaco per unirsi al retto che sbocca nella parete della cavità atriale espellendo le fecal pellets attraverso il sifone atriale (Fig. 14).

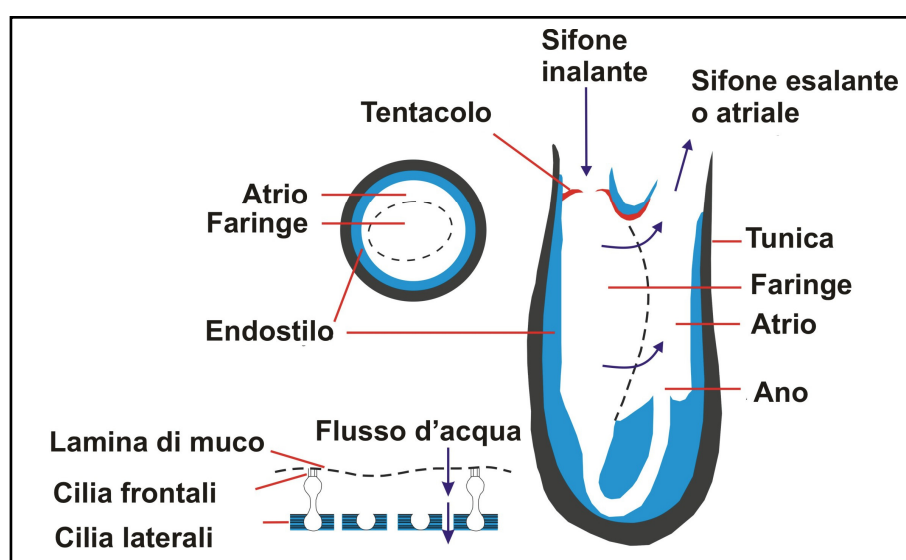


Fig. 14. Schema del flusso dell'acqua per la respirazione e modalità di raccolta delle particelle alimentari in *Ciona intestinalis* sp A (Secondo Millar, 1953 e Petersen *et al.*, 1999, modificati).

È un filtratore sospensivoro che rimuove dalla colonna d'acqua le particelle alimentari (Petersen *et al.* 1999). La maggior parte degli studi sul tasso di filtrazione e le dimensioni delle particelle ingerite sono state fatte in laboratorio utilizzando colture algali unicellulari di taglia uniforme, non rispecchiando la reale variabilità di taglia delle particelle che l'organismo filtra in natura (Fig. foto 15A-D). Fiala-Médioni (1978) ha riportato che la specie non ha un ritmo di filtrazione costante. Robbins (1983) ha evidenziato che il tasso di filtrazione dipende dalla temperatura dell'acqua e dalla taglia dell'individuo e che all'aumentare delle particelle organiche inerti presenti nella colonna d'acqua la velocità di filtrazione dell'ascidia diminuisce. Petersen e Riisgård (1992) confermano che negli esperimenti da loro condotti il tasso di filtrazione per alimentarsi si riduceva considerevolmente utilizzando alte concentrazioni di cellule algali ($20.000 \text{ cellule ml}^{-1}$).

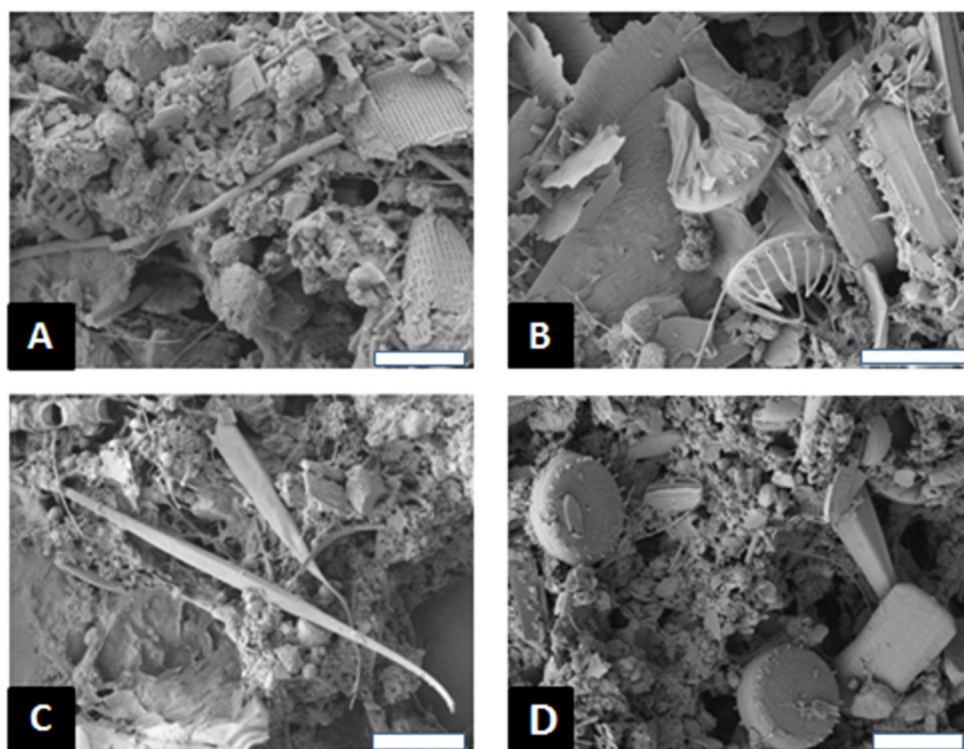


Fig. 15. Aspetto del contenuto stomacale (A e C) e dettaglio della variabilità particelle ingerite (B-D).

Inoltre, Petersen *et al.*, (1999) hanno confermato che la velocità di filtrazione dipende dalla taglia dell'individuo e il battito delle ciglia nel cestello branchiale diminuisce all'aumentare della concentrazione di cellule algali. Si stima che la specie è in grado di trattenere piccole particelle ($> 4 \mu\text{m}$) come batteri planctonici e picoplancton (Jorgensen *et al.* 1984), ma non riesce a discriminare le particelle organiche da quelle inorganiche (Fig. 15A - D). Come riportato da Flood e Fiala-Médioni (1981) i filamenti di muco prodotti per la cattura delle particelle alimentari sono costituiti da una serie di filamenti trasversali che formano una struttura a maglie reticolari di forma rettangolare con fessurazioni di circa $4 \mu\text{m} \times 7 \mu\text{m}$. Randlov e Riisgård (1979) e Jorgensen *et al.* (1984) hanno confermato che la specie ha un'efficienza del 100% nel ritenere le particelle comprese in un intervallo dimensionale compreso tra $2\text{-}3 \mu\text{m}$ e del 70% per corpuscoli $< 1 \mu\text{m}$. Dal momento che la specie non è in grado di selezionare le particelle di cui si nutre quando si accumula materiale nel sifone inalante per evitare l'ostruzione del sacco branchiale si ha un aumento delle contrazioni muscolari che provocano l'espulsione del materiale in eccesso (Jorgensen e Goldberg, 1953; Robbins, 1984; Petersen *et al.*, 1999). Informazioni raccolte sul campo riguardanti come varia la velocità di filtrazione rispetto alla concentrazione e la tipologia di particelle nella colonna d'acqua resta ancora oggi un aspetto da approfondire; anche le conoscenze sulla digestione e

l'escrezione sono frammentarie e si ritiene che la quantità di fecal pellets prodotte dipenda dalla qualità del cibo ingerito (Robbins, 1985a, b).

È un organismo ermafrodita simultaneo proterandrico, il testicolo si sviluppa precocemente e diventa funzionale solo quando si sviluppa l'ovario e la capacità riproduttiva dipende dalla taglia minima, non dall'età, ma dalle condizioni mesologiche ambientali (Millar, 1952; Pérès, 1952). La taglia della maturità sessuale varia rispetto alle aree geografiche in funzione della temperatura e infatti Dybern (1965) e Carver *et al.*, (2006) riportano che individui di *C. intestinalis* sp B, dal Nord Europa e dal Canada, insediatisi in autunno non maturano fino alla primavera successiva. Il ciclo vitale è bifasico caratterizzato da una breve fase larvale pelagica e una fase adulta bentonica come in tutte le ascidie solitarie (Millar, 1953; Lambert, 2005; Carver *et al.*, 2006) (Fig. 10). È un organismo oviparo che si riproduce alle prime luci del giorno (Berrill, 1947), la fecondazione è esterna e le uova fecondate si sviluppano in zigoti direttamente in acqua, dove le larve dotate di fototropismo positivo nuotano in superficie e completano il loro sviluppo (Fig. 10).

Yamaguchi (1975) ha stimato, in una popolazione da lui studiata da una località del Giappone centrale, che ogni individuo produca 1000 uova al giorno calcolando che nel periodo di vita un singolo individuo produca 100.000 uova. Questo dato contrasta con quanto riportato da Carver *et al.* (2003) che hanno stimato una fecondità individuale di un adulto in 500 uova al giorno. Carver *et al.* (2003) non hanno misurato la fecondità totale, ma secondo la stima della lunghezza di vita degli esemplari da loro studiati, viventi a Prince Edward Island (Nova Scotia, Canada) un singolo individuo produce circa 12.000 uova. Ciò concorda con i dati esposti da Petersen e Svane (1995), che hanno esaminato una popolazione dal Kerteminde Fjord (Danimarca), e per la quale stimano una fecondità di 10.000 uova prodotte durante il periodo di vita. Questa evidente discrepanza in termini di fecondità può essere messa in relazione al differente regime climatico dei siti studiati come fatto notare da Dybern (1965) che ha evidenziato quanto il regime termico di differenti aree geografiche, dove la specie vive, influisca sulla longevità degli individui e il numero di generazioni annuali dell'ascidia (Tab. 3). La specie è considerata self-sterile per evitare l'autofecondazione, ma Rosati e De Santis (1978) hanno riportato dal Golfo di Napoli una popolazione con il 15% degli individui che si autofecondava. Comunque, le cellule follicolari che proteggono le uova producono sostanze che impediscono l'autofecondazione. Le uova mature hanno un diametro che varia da 150-180 μm e sono circondati da follicoli villiformi su tutta la

superficie la cui disposizione e struttura è specie-specifica (Fig. 16); inoltre l'uovo ha una gocciola rifrangente microscopica, diagnostica che la distingue da altri congeneri che ne hanno di più, ma di dimensioni inferiori come in *C. savigny* (Byrd e Lambert, 2000).

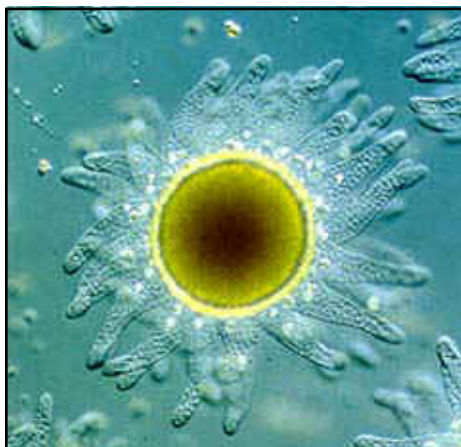


Fig. 16. Uovo fecondato di *C. intestinalis* sp A circondato dai follicoli villiformi.

Le uova una volta rilasciate nella colonna d'acqua attirano gli spermatozoi mediante chemioattrattori; se gli spermatozoi non incontrano uova restano attivi per 16 h anche se la loro possibilità di sopravvivenza diminuisce dopo 1.30 h in assenza di uova (Yoshida *et al.*, 1993).

La lunghezza dello sviluppo embrionale varia con la temperatura. Dybern (1965) per le località della Scandinavia riporta che a 12°C lo sviluppo si completa in 48 h e a 20°C si completa in meno di 24 h, mentre Svane e Havenhand (1993) riportano che in un range di temperatura compreso tra 9 - 16°C la durata dello sviluppo varia tra 63 - 26 h. Fra l'altro, questi due autori hanno riportato, per primi, la produzione di stringhe di muco all'interno delle quali il taxon inizia e conclude il suo sviluppo, considerando ciò un meccanismo per impedire un'eccessiva dispersione delle uova e delle larve. Nel New England, Canada, Carver *et al.* (2003) hanno stimato un completo sviluppo embrionale della specie entro 18 h rispetto a quanto evidenziato da Bullard e Whitlach (2004) che hanno riportato un tempo di 22 h a 20°C. Come fatto notare da Dybern (1965) la temperatura è importante per la biologia della specie e ha determinanti influenze sulla durata dello sviluppo embrionale e della longevità.

La larva girinomorfa è lunga 0.8 - 1.2 mm e consiste di un tronco lungo 100 - 200 µm con una coda muscolarizzata lunga 800-1000 µm circondata da cellule della tunica (Fig. 17). Si distinguono i seguenti organi: la tunica, l'epidermide, la notocorda, la muscolatura della coda, le papille adesive e il sistema nervoso, schema corporeo

condiviso in tutte le specie di ascidia (Fig. 17). La notocorda è molto simile a quella osservata nei vertebrati e si estende per tutta la lunghezza della coda. Sul tronco si notano due evidenti macchie nere, rispettivamente, l'ocello, un organo fotosensibile e una piccola cavità lo statolite, uno statorecettore (Fig 17) (Millar, 1953; 1971). Le papille adesive, presenti sulla parte anteriore del tronco, servono alla larva durante la metamorfosi per ancorarsi quando ha luogo l'insediamento sul substrato.

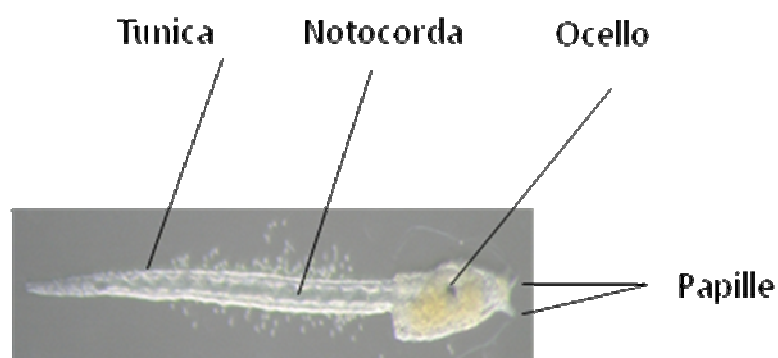


Fig. 17 larva girinomorfa di *C. intestinalis* sp A e suoi principali organi.

Le larve una volta schiuse dall'uovo hanno un fototropismo positivo e un geotropismo negativo che consente loro di nuotare sul pelo dell'acqua disperdendosi relativamente nell'ambiente e sono considerate filopatriche, cioè tendono ad insediarsi vicino alla popolazione parentale (Millar, 1971; Lambert, 2005; Svane e Havenhand, 1993). Completato lo sviluppo la larva ha lo stimolo per metamorfosare, assumendo un fototropismo negativo rispetto alla luce e un geotropismo positivo dirigendosi sul substrato, prediligendo zone ombreggiate, con ridotto movimento d'acqua scegliendo superfici verticali o inclinate (Millar, 1971; Gulliksen, 1972; Tursi, 1980b). L'insediamento sul substrato avviene prevalentemente di giorno (Bullard *et al.*, 2004) e la larva aderisce al substrato con le papille adesive che si trovano all'estremità anteriore del tronco. A questo punto comincia la metamorfosi della larva, che implica una profonda riorganizzazione morfologica e sistemica dell'organismo che si sviluppa in un adulto bentonico sessile.

I fattori ambientali che controllano la distribuzione e la sopravvivenza della specie sono molteplici e da chiarire come interagiscono. Dybern (1965) ha fatto risaltare l'importanza della temperatura che influisce sul ciclo vitale della specie a seconda delle zone climatiche (Tab. 3). La tolleranza alle temperature varia con gli stadi ontogenetici e influenza la dinamica delle popolazioni rispetto alle stagioni (Sabbadin, 1958; Dybern,

1965; Yamaguchi, 1975; Brunetti e Menin, 1977; Scalera Liaci *et al.*, 1977; Svane, 1983; Marin *et al.*, 1987; Carver *et al.*, 2006). La salinità è un altro fattore chimico-fisico importante e il range di tolleranza riportato per questo parametro è ampio, variando tra il 12 - 40‰, anche se la specie predilige acque con valori più simili a quelli marini che variano tra il 30 - 34‰. Dybern (1967) ha stabilito che il limite minimo di tolleranza di salinità per gli adulti e le larve delle popolazioni scandinave è dell'11‰ nelle acque dello Skaggerrak confinanti con il Mar Baltico, mentre per la laguna di Venezia Marin *et al.* (1987) riportano un valore generalizzato medio del 35‰. Inoltre, Shumway (1978) ha fatto notare che quando la salinità raggiunge valori del 19‰ il consumo di ossigeno tende a diminuire fino a bloccarsi. Pur essendo nota la resistenza della specie in ambienti eutrofici e contaminati dalle attività antropiche, tollera ridotte condizioni di torbidità e concentrazioni di ossigeno, ma non esistono dati che possano evidenziare quale sia la soglia di tolleranza alla diminuzione di ossigeno disciolto e all'aumento di torbidità pur essendo questo parametro considerato un fattore di disturbo molto importante per le ascidie (Millar, 1952; Tursi, 1980, Mazouni *et al.*, 2001; Lambert, 2007; Bates, 2005). Secondo Naranjo *et al.*, (1996) la resistenza di del taxon va correlata alla sua architettura corporea, in particolare all'ampia apertura del sifone inalante che ridurrebbe il rischio di ostruzione e alla possibilità di pivotare sul substrato,

Tab. 3. riassuntiva della relazione alla temperatura di *Ciona intestinalis* da Nord a Sud (Secondo Dybern, 1965, modificata)

Regione	Profondità	Temperatura	Generazione(i) per anno	Principale periodo di deposizione	Range di Tolleranza alla temperatura		
					Zigoti	Larve	Adulti
Sub-Artica	0-500 m	3-4° C	< 1	Non determinato	6°C	Non determinato	0-21°C. Costa di Murmansk, Russia
Costa occidentale della Norvegia (Bergen)	~ 100m	6-9° C	< 1	Non determinato	6-18° C	Non determinato	~1-30° C
Costa occidentale della Norvegia	0-5 m	~1 -20° C	2	Maggio-Giugno Agosto-Settembre	8-22° C	Non determinato	~1-30° C
Costa occidentale della Svezia (Strömmarna e Svenningskär)	2-7 m e 15-30 m	5-20° C	1	Giugno (Luglio)	8-22° C	6-24° C	~1-30°
Costa occidentale della Svezia	0-10 m	~1-18°C	2	Maggio-Giugno (Luglio) Agosto-Settembre	8-22° C	6-24° C	~1-30° C
Costa Sud Occidentale dell'Inghilterra (Plymouth)	In superfice Batimetria non riportata	6-16° C	2 (3)	Autunno-Primavera (Estate)	Non determinato	Non determinato	Non determinato
Costa Mediterranea della Francia (Marsiglia)	In Superficie	10-26° C	3	La maggior parte dell'anno	8-23° C Comunque in inverno	Non determinato	Non determinato
Golfo di Napoli	In superfice	13-27° C	3	Tutto l'anno	14-27° C Il limite superiore forse è 23-24 °C	Non determinato	8-40° C
Laguna di Venezia (Adriatico Settentrionale)		12-13°C	3-4	Giugno-Luglio		Non determinato	Non determinato
Mar Mediterraneo orientale (Costa Israeliana)	Batimetria non riportata	16-17° C 27-28° C	Non riportato	Ottobre-Novembre Maggio-Giugno	Non determinato	Non determinato	Non determinato
Sud Africa (Table Bay Harbour)	10 m	12-13° C	3	Marzo-Giugno Settembre-Ottobre	Il limite superiore forse è al di sopra di 30°C (Suez)	Non determinato	Non determinato
Australia (Sydney)	Non riportato	Non riportato	2	Non riportato	Non determinato	Non determinato	Non determinato
California (Newport Harbour)	Non riportato	14.1-19.2°C	2	Non riportato	Non determinato	Non determinato	Non determinato
Regioni tropicali e sub-tropicali	Non riportato	Non riportato	4 (?)	Non riportato	Non determinato	Non determinato	Non determinato

grazie alla corrente, per evitare di essere coperta di sedimento e soffocare. Secondo Naranjo et al., (1996) la resistenza di del taxon va correlata alla sua architettura corporea, in particolare all'ampia apertura del sifone inalante che ridurrebbe il rischio di ostruzione e alla possibilità di pivotare sul substrato, grazie alla corrente, per evitare di essere coperta di sedimento e soffocare. Robbins (1985b) ha constatato, in condizioni controllate, che l'esposizione a elevate concentrazioni di particelle inorganiche >25 mg.l^{-1} blocca l'accrescimento del taxon e che l'esposizione a 600 mg l^{-1} di particelle implica il 50% di mortalità degli individui usati come controllo. Questo autore ritiene che la specie potendo soltanto contrarsi per pulire il cestello branchiale è vulnerabile al soffocamento in caso di eccessivo carico torbido dell'acqua. Un'analoga considerazione è stata fatta da Petersen *et al.* (1999) circa l'impossibilità del taxon di selezionare le particelle rendendo la specie non idonea agli ambienti con eccessiva torbidità.

È un organismo che predilige vivere in ambienti con ridotto moto ondoso e un flusso d'acqua corrispondente a una corrente laminare di 3 nodi nautici (= a ~ 5.6 Km/h) (Jackson, 2005). Questo tipo di movimento d'acqua assicura alla specie un sufficiente foraggiamento, conferendole un grande vantaggio competitivo in aree dove gli scambi idrici con il mare aperto sono ridotti, come insenature protette, porti e lagune (Carver et al., 2006). A tal proposito Ardizzone *et al.* (1977) e Mazzola e Riggio (1977) hanno dimostrato nel porto di Palermo come la presenza della specie rappresenti un chiaro indizio di basso idrodinamismo e inquinamento dominando la comunità bentonica rispetto a siti con maggiore scambio idrico e meno inquinati. La specie, nella regione mediterranea, è un significativo bioindicatore di siti degradati dall'inquinamento umano, ed è in grado di tollerare sia una forte eutrofizzazione delle acque sia di contaminanti industriali, soprattutto in ambienti portuali (Papadopoulou e Kania, 1977; Naranjo *et al.*, 1996; Kokaz e Kucuksezgin, 2000). Inoltre, questa ascidia, in natura, è in grado di tollerare e accumulare considerevoli concentrazioni di metalli pesanti nei tessuti sopravvivendo senza apparente danno (Papadopoulou e Kania, 1977; Bellas *et al.*, 2001, 2004; Pignatelli, 2010; Gallo *et al.*, 2012; Abbruzzese e D'Argenzio, 2012).

Da quanto esposto l'organismo è una specie in grado di adattarsi in habitat dove le condizioni ambientali sono molto variabili e con diversi fattori di stress ambientale dove l'adattabilità ecologica è un requisito biologico fondamentale. La specie ha tra le sue caratteristiche salienti quella di formare popolazioni che periodicamente manifestano fluttuazioni numeriche apparentemente non collegate ai cambiamenti ambientali (Keough, 1983; Cayer *et al.*, 1999; de Oliveira Marins *et al.*, 2009; Lambert e Lambert,

1998). La sua distribuzione non è continua, ma a patches in ampie aree geografiche e in siti fra loro vicini, dove le fluttuazioni sono molto variabili e eterocrone rispetto alle stagioni (Keough, 1985; Lambert e Lambert, 1998 Cayer *et al.*, 1999). Una dinamica analoga è stata seguita in alcune località del Golfo di Napoli dove la specie vive e nel tempo si susseguono esplosioni demografiche e scomparsa del taxon (Caputi *et al.*, in preparazione). Questo fenomeno di alternanza tra esplosioni demografiche e consistenti riduzioni numeriche è una caratteristica condivisa da altre specie di ascidia solitaria rappresentando un aspetto del ciclo vitale di questi organismi ancora poco conosciuto e ritenuto età e densità indipendente (Lambert, 1968; Goodbody, 1962, 1963; Svane, 1983; Svane e Lundälv, 1981; 1982). Lundälv e Christie (1986) hanno studiato una serie di dati pluriennali relativi a località campionate nello Skagerrak, lungo le coste norvegesi e svedesi. I due ricercatori scandinavi hanno analizzato i dati di raccolta delle località monitorate riguardanti la specie e hanno constatato che si riscontra una ciclicità a scala stagionale e interannuale della presenza del taxon, che fa risaltare i momenti di esplosione demografica e di declino della specie a livello di mesoscala geografica su base settennale. Questa periodicità ciclica dei trends a lungo termine è correlata alle cicliche variazioni climatiche e idrografiche che influenzano gli andamenti delle popolazioni nei fiordi dell'area studiata. Un analogo riscontro si è avuto per le popolazioni del Golfo di Napoli come riportato da Caputi *et al.* (in preparazione) con periodi di crisi demografica della specie che per circa un biennio (anni 2009 - 2011) è del tutto scomparsa dai siti di raccolta per poi essere nuovamente reperita. Uno dei principali presupposti per l'insediamento e l'accrescimento del taxon è la disponibilità di un adeguato substrato, sebbene la specie riesca a colonizzare qualsiasi corpo rigido immerso naturale, artificiale o effimero. Koechlin (1977) nel porto di Lezardrieux (Bretagna, Francia, costa atlantica nord occidentale) ha riportato che la specie ha rapidamente popolato un substrato nudo, stimando una densità di 2000 individui per m² in una tipica comunità portuale inquinata. Nel Lago Fusaro l'esplosione demografica ha fatto seguito allo sviluppo del polichete sedentario *Mercierella enigmatica* il cui intrico di tubi è risultato particolarmente benaccetto dalla specie su tutte le superfici campionate (osservazione personale) (Fig. 18A - B). Gli stadi giovanili post-larvali degli invertebrati marini sono un altro momento critico per assicurarsi spazio sul substrato e cibo, infatti Marshall e Keough (2003) trovano che la taglia di una larva al momento dell'insediamento è importante per la successiva sopravvivenza e che

individui più grandi hanno migliori chances di diventare adulti rispetto alle larve “sorelle”, in particolare per le specie che producono larve a sviluppo lecitotrofico come *C. intestinalis* sp A.

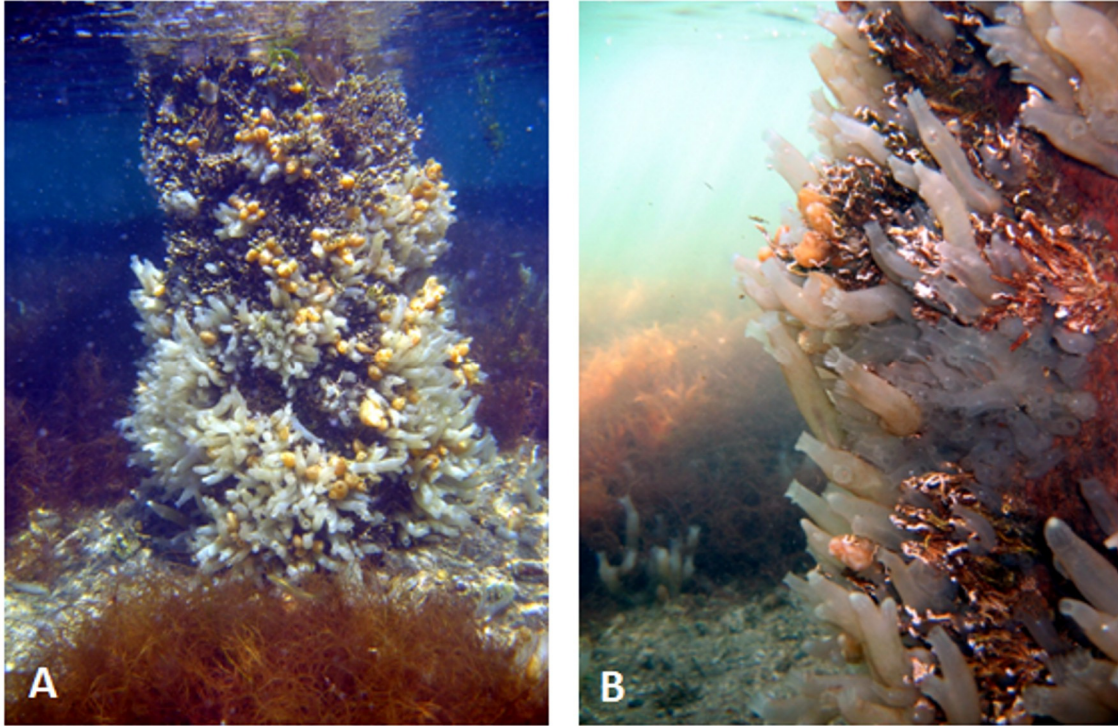


Fig. 18. A) Aspetto di una superficie colonizzata da *C. intestinalis* sp A; B) Gruppi multi-generazionali di individui che colonizzano i tubi del polichete *Mercierella enigmatica*.

I dati sulle interazioni interspecifiche non sono molti e in uno studio in vitro Granmo *et al.* (1988) utilizzando *Chrysochromulina polylepsis*, un'alga verde planctonica unicellulare, hanno notato che le fioriture di questo vegetale sono tossiche inibendo la fecondazione e lo sviluppo della specie agendo sulla membrana dell'uovo ma non sugli spermatozoi. Holmström *et al.* (1992) hanno isolato dei batteri che colonizzano la tunica degli adulti della specie che rilasciano una sostanza tossica che inibisce l'insediamento larvale e analogamente i biofilms contenenti questi batteri presenti su eventuali substrati impediscono l'insediamento di larve dell'ascidia. Schmidt (1983) evidenzia la positiva interazione tra l'idroide *Tubularia larynx* e l'insediamento del taxon che successivamente monopolizza i pannelli usati per la sua indagine. In un secondo lavoro Schmidt e Warner (1984) ritengono che non si tratta di un'attrazione chimica, ma la copertura di idrodi smorza l'idrodinamismo favorendo l'insediamento delle larve della specie.

Gli unici dati sull'influenza dei predatori sulle uova e le larve planctoniche noti per la specie studiata sono quelli riportati da Petersen e Svane (1995) che fanno notare la difficoltà di campionare le uova e larve del taxon per tentare di stimare il loro numero nella colonna d'acqua, in campioni di plancton regolarmente raccolti nel Kerteminde Fjord (Danimarca), e ipotizzano che la pressione predatoria possa essere esercitata dalla medusa *Aurelia aurita* lì molto abbondante. Lungo le coste del New England, Canada, la pressione predatoria sull'ascidia è incisiva nell'influenzare il numero di individui del taxon e strutturare la comunità dove essa vive (Osman e Whitlach, 2004). I due autori individuano nei gasteropodi *Anachis* spp e *Mitrella lunata* i predatori di diverse specie di ascidie e stimano che i due molluschi siano in grado di predare più di 200 individui di ascidie al giorno appena insediate sul substrato del sito studiato e includono come altri potenziali predatori nudibranchi, plattelminti, nemertini, piccoli crostacei e alcuni policheti erranti, ma non forniscono ulteriori indicazioni a livello specifico per identificare i taxa di predatore e la modalità di assunzione della preda.

Osman e Whitlach (2004) hanno osservato che gli adulti della specie viventi presso il sito da loro investigato vengono predati da granchi e stelle di mare come riportato da Gulliksen e Skaeveland (1973) per i fiordi norvegesi e da Svane (1973) per i fiordi svedesi dove il predatore è la stella marina *Asterias rubens*. In prove fatte in laboratorio Carver *et al.* (2006) hanno osservato i granchi *Carcinus maenas* e *Cancer irroratus* cibarsi del taxon. Un terzo gruppo di predatori che possono avere un ruolo sul controllo numerico a spese delle popolazioni norvegesi dell'organismo sono il gadide (*Gadus morhua*) e due specie di pleuronettide (*Limanda limanda* e *Pleuronectes platessa*), mentre nelle insenature della Danimarca l'ascidia viene utilizzata come cibo dallo spinarello (*Gasterosteus aculeatus*) (Gulliksen, 1972). Infine, Carver *et al.* (2006) fanno notare che in presenza di altre specie di ascidia i predatori non si cibano di *C. intestinalis*; ciò conferma quanto osservato al Lago Fusaro dal momento che non si è mai notato nessun predatore o tracce di predazione durante le immersioni. Prove effettuate al Lago Fusaro, durante le immersioni, offrendo pezzi della specie privi di tunica hanno evidenziato che i granchi *C. maenas*, i gasteropodi saprofiti e i pesci presenti nei punti dove l'ascidia è stata campionata venivano attratti dal boccone, ma una volta avvicinati se ne allontanavano rapidamente (osservazioni personali).

La specie non sembra affetta da patologie, ma per le popolazioni dell'Oceano Atlantico sono stati segnalate alcune specie di copepodi parassiti o commensali dell'ordine

Doropygidae da Millar (1971), mentre Becheikh *et al.* (1996) hanno documentato la presenza del copepode *Pachypyrgus gibber* all'interno del sacco branchiale che non sembra inficiare affatto l'attività di filtrazione e la sopravvivenza dell'ascidia. Ooishi e O'Reilly (2004) hanno isolato il copepode *Haplostoma eruca* dall'intestino di una popolazione vivente nel Clyde Estuary, Scozia. Pastore (2001) riporta, come unico caso nel Mar Mediterraneo, dal Mar Piccolo di Taranto che nel cestello branchiale del taxon possono vivere almeno otto specie di copepodi i più frequenti dei quali sono *P. gibber*, *Hermannella rostrata* and *Lichomolgus canui*.

Un promettente aspetto è l'uso della specie per isolare prodotti da utilizzare come farmaco dal momento che molte specie di ascidia posseggono diversi agenti antimicrobici che sono stati purificati e caratterizzati (Johnson and Chapman 1970, Jackson and Smith 1993, Jackson *et al.* 1993). Un altro aspetto interessante è la possibilità di utilizzare la specie e altre ascidie per uso terapeutico anti-cancro (Rhinehart, 2000), mentre Parrinello *et al.* (1993) hanno dimostrato la capacità citotossica degli emociti del taxon in saggi in vitro rispetto agli eritrociti umani. L'attività citotossica di questi emociti contro le cellule leucemiche è mediata da meccanismi simili a quelli delle cellule citotossiche dei vertebrati (Peddie e Smith, 1994). Inoltre, ricerche di tipo ambientale e ecologico hanno evidenziato il ruolo di biondicatore dell'organismo per gli ambienti eutrofici e contaminati e per la sua capacità di accumulare nei tessuti metalli pesanti come, vanadio, manganese, zinco, ferro e rame (Papadopoulou e Kaniyas, 1977; Goldberg *et al.*, 1951; Swinehart *et al.* 1974; Michibata 1984; Cheney *et al.* 1997), evidenziando che la specie può validamente essere utilizzata come test della qualità dell'acqua osservando le anomalie sullo sviluppo embrionale in campioni contaminati (Cusimano Carollo e Canicattì, 1983; Bellas *et al.*, 2001; Gallo *et al.*, 2010).

2.3. Distribuzione geografica

La specie è stata considerata a lungo un unico taxon cosmopolita con una distribuzione geografica rispecchiante la capacità dell'organismo di adattarsi a differenti condizioni ambientali, che colonizza prevalentemente habitat di acque costiere basse, e la sua distribuzione batimetrica è stata riportata dagli ambienti sub-tidali fino a 1000 m di profondità (Sato *et al.* 2012). Le principali popolazioni note dalla letteratura sono state

studiate in baie, fiordi o ambienti portuali lungo le coste della Danimarca, Norvegia, Svezia, e Regno Unito (Millar, 1952; Dybern, 1965; 1967; 1969; Gulliksen, 1972; Lundälv e Christie, 1986; Petersen e Riisgård, 1992; Svane, 1983; Svane e Havenhand, 1993). La specie è stata segnalata anche per le Isole Faröer, dalla costa orientale della Groenlandia fino alle Isole Spitzbergen e Bear Island, nella zona artica russa a 78° N di latitudine da Millar (1953, 1966), ma mancano conferme successive per questi records più settentrionali. Millar (1966) riporta la specie anche per le coste atlantiche e pacifiche del Nord America e le coste atlantiche del Sud America, Arcipelago di Capo Verde, Australia meridionale, Nuova Zelanda e Giappone evidenziando la capacità del taxon di diffondersi come specie non indigena o aliena (Carver *et al.*, 2003; 2006; Lambert, 2007; Lambert e Lambert, 1998, 2003), assumendo uno status cosmopolita in seguito alle attività antropiche, in particolare con il traffico navale e la diffusione degli impianti di mitilicoltura, mentre altre due specie criptiche sono state individuate in Francia. *C. intestinalis* sp C nel Mar Nero *C. intestinalis* sp D (Carver *et al.* 2006; Lambert e Lambert, 1998; Procaccini *et al.*, 2011). Studi genomici hanno permesso di rivelare l'esistenza di due specie criptiche, suddivise rispettivamente in *C. intestinalis* sp A e *C. intestinalis* sp B (Caputi *et al.*, 2007). Da uno studio fatto su campioni raccolti in tutti i continenti dove la specie è stata segnalata è stato possibile stabilire che la specie denominata *C. intestinalis* sp A, oggetto di questo progetto, vive nel Mar Mediterraneo e nel Mar Nero, ma è stata introdotta accidentalmente con il traffico navale nell'Oceano Pacifico lungo le coste della California e del Cile, Nell'Oceano Atlantico occidentale in Brasile, in Sud Africa, Australia meridionale, Nuova Zelanda e Giappone (Lambert e Lambert, 2003; Olivera Marins *et al.*, 2009) (Fig. 19). La conspecifica denominata *C. intestinalis* sp B è diffusa solo lungo le coste dell'Atlantico settentrionale e la zona di sympatria dove entrambe le specie convivono all'imboccatura del Canale della Manica tra la costa francese nord occidentale e la costa inglese sud occidentale. Solo recentemente (Sato *et al.* 2012) hanno individuato per i due taxa i caratteri morfologici che consentono la discriminazione e la separazione a livello specifico, anche se informale da un punto di vista tassonomico. L'esistenza di due specie considerate così a lungo un unico taxon ha lasciato spazio a una serie di generalizzazioni che necessitano di essere rivisitate per evidenziare le somiglianze e le differenze tra i due taxon. Runnström (1929) riteneva che *C. intestinalis*, intesa come specie Linneiana con un'ampia distribuzione geografica, abbia una grande tolleranza "fenotipica" alla

temperatura stimando un range termico per la specie compreso da -1°C - 32°C separandola in “razze geografiche”, che dalla penisola Scandinava al Mar Mediterraneo hanno una differente resistenza termica e capacità riproduttiva.

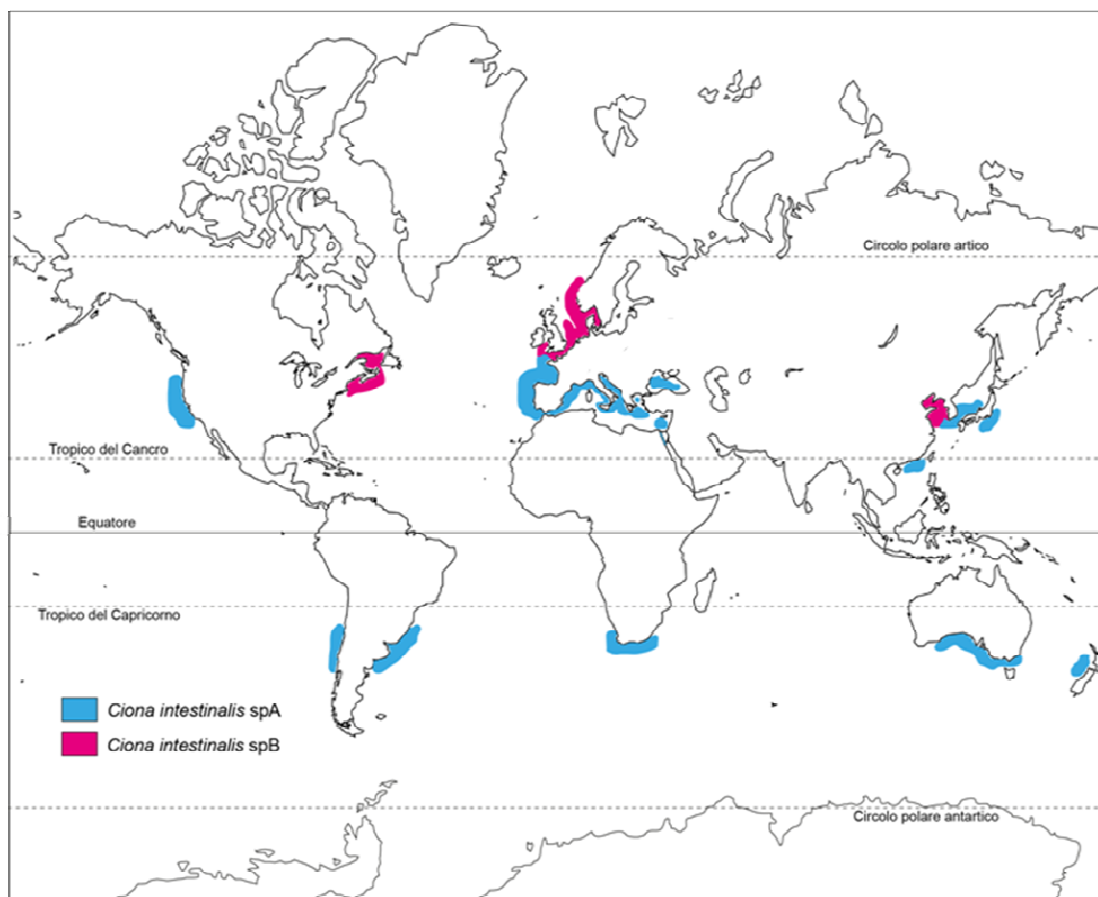


Fig. 19. Distribuzione geografica di *C. intestinalis* sp A e *C. intestinalis* sp B.

Infatti, secondo le suddivisioni zoogeografiche marine di Ekman (1953) la distribuzione originaria di *C. intestinalis* sp A rientra nella provincia marina lusitana, mentre *C. intestinalis* sp B è originaria della provincia marina celtico-boreale (Fig. 20), suddivisioni che tengono conto della differenza di temperatura e salinità stagionali che influiscono sulla distribuzione degli organismi marini, come fatto notare anche da Hayward e Ryland (1998), che evidenziano come questi due parametri siano importanti per la distribuzione geografica delle specie marine e la stagionalità dei loro cicli vitali. Secondo Nydam e Harrison (2011) la *C. intestinalis* sp A nel Canale della Manica è stata introdotta dalle attività antropiche non considerando quanto riportato da Ekman (1953) a proposito delle distribuzioni faunistiche zoogeografiche e le loro implicazioni ecologiche.

La distribuzione geografica di *Ciona intestinalis* sp B è centrata nel l'Oceano Atlantico settentrionale e si può ipotizzare che la specie si sia originata come una specie della fauna temperato-fredda, la fauna boreale dell'Oceano Atlantico seguendo l'indicazione

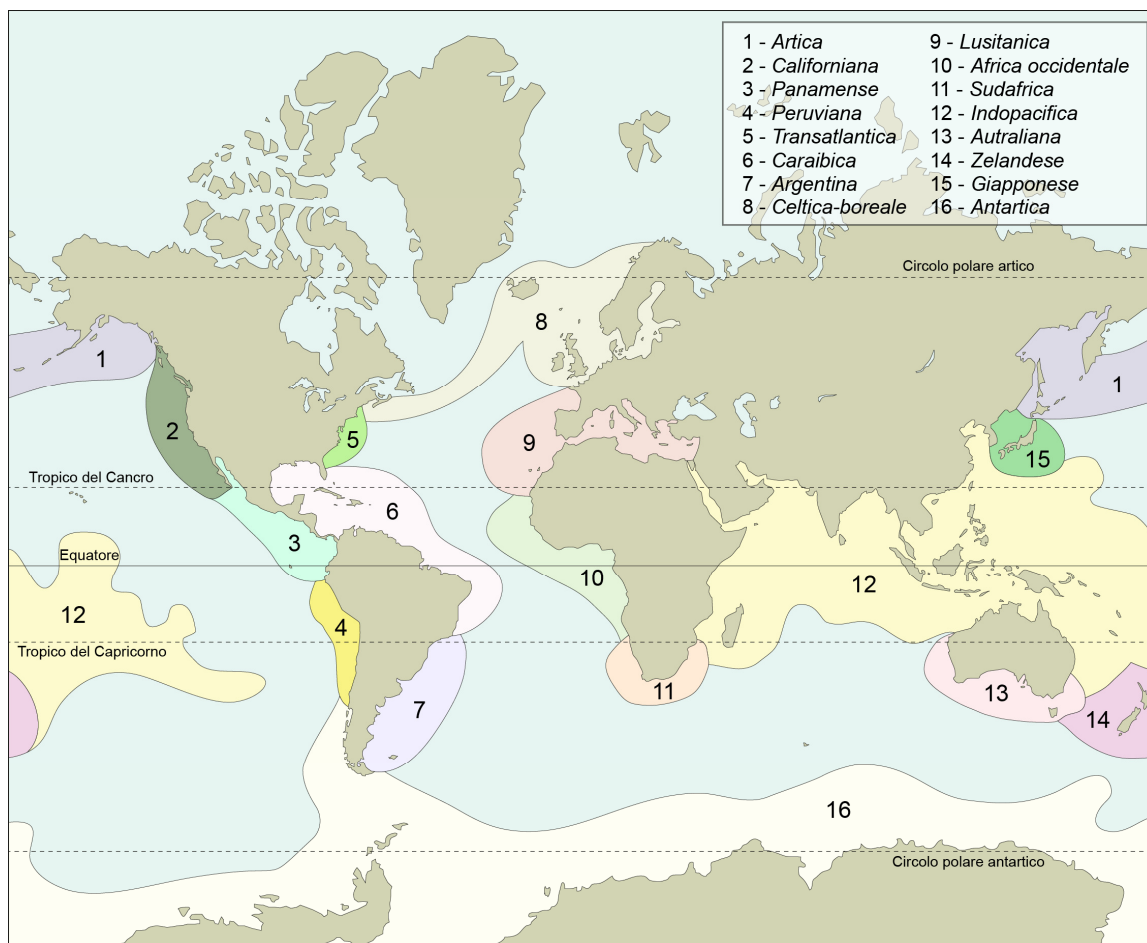


Fig. 20. Mappa delle bioprovince zoogeografiche marine.

di Linneo (1767) per la località tipo. Ekman (1953) ha riscontrato che un certo numero di immigranti dell'Atlantico possono essere trovati nel Mar Mediterraneo e vivono nella province Lusitana, rappresentando una considerevole porzione della fauna Mediterraneo-Atlantica di cui *C. intestinalis* sp A fa parte.

Per questi elementi faunistici si ritiene un'origine settentrionale come relitti glaciali e i loro limiti zoogeografici sono rappresentati dall'ingresso del Canale della Manica area geografica corrispondente al limite della provincia lusitana e l'inizio della provincia celtico-boreale (Fig. 21), dove le due specie sono simpatriche e esistono i limiti termalini che separano le faune mediterranea e atlantica (Fig. 21 A - D).

Nel Mar Mediterraneo *C. intestinalis* sp A è stata raccolta lungo in Spagna, Francia, Italia, Grecia, Turchia, Tunisia, Egitto e Mar Nero (Millar, 1953, 1966). Gli habitat colonizzati da *C. intestinalis* sp A nella regione mediterranea condividono una serie di caratteristiche ambientali, come un ridotto scambio idrico con il mare, inquinamento antropico e un regime delle acque euriatino e euritermo influenzato dal ciclo climatico locale (Sacchi, 1979).

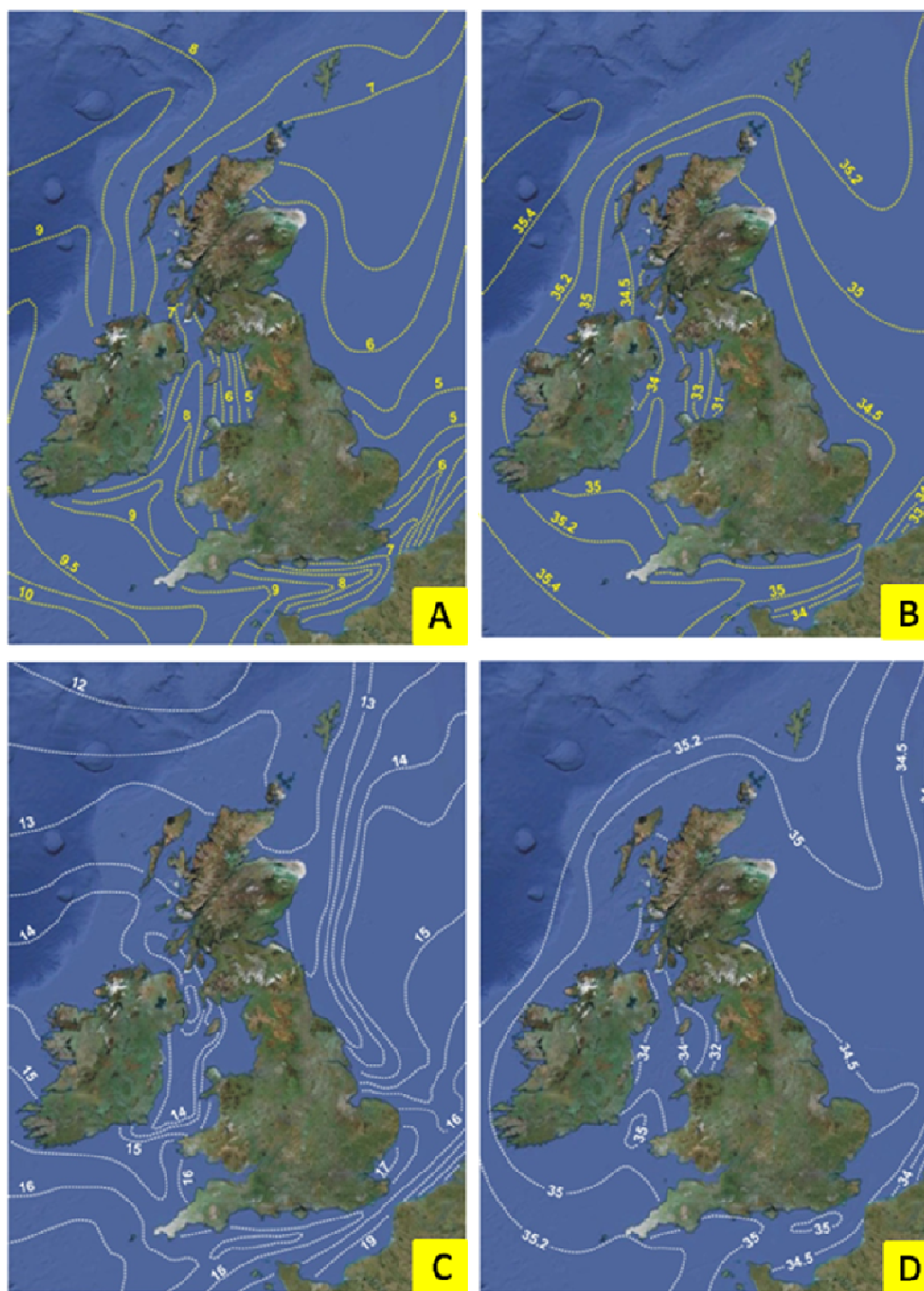


Fig 21. Temperature e Salinità nella zona di confine tra le province Lusitanica e Celtico-Boreale.

Da un punto di vista ecologico *C. intestinalis* è una tipica specie del fouling delle biocenosi di acque portuali inquinate (IETP *sensu* Pérès e Picard, 1964; Ardizzone *et al.*, 1977; Mazzola e Riggio, 1977), e delle biocenosi lagunari eurialine e euriterme (LEE *sensu* Pérès e Picard, 1964) dove le comunità del benthos sessile sono rappresentate da un ridotto numero di specie ben adattate alle brusche e ampie variazioni ambientali (Carrada, 1963; 1973). Inoltre, la specie mediterranea rispetto alla conspecifica atlantica è molto più diffusa geograficamente e in aree latitudinali con caratteristiche climatiche simili a quelle di origine, mentre *C. intestinalis* sp B originaria dell' Atlantico settentrionale non sembra diffondersi in aree con caratteristiche climatiche e ambientali diverse da quelle sub-artiche (Fig. 20).

CAPITOLO III

3.1. Generalità sugli ambienti salmastri

I termini laguna o stagno costiero sono, spesso impropriamente, utilizzati per indicare specchi d'acqua salmastra separati dal mare dal sistema di spiaggia o delle dune costiere. La «laguna» è un bacino costiero di dimensioni variabili, dominato dalle maree, separato dal mare e comunicante con esso mediante una o più foci, e da un punto di vista paesaggistico e ecologico questi importanti biotopi sono tra gli ambienti più direttamente minacciati dalle attività umane (Brambati, 1988). Le lagune salmastre sono ambienti di transizione tra il dominio marino e il dominio continentale dove si stabiliscono particolari relazioni ecologiche determinate dalla dislocazione geografica dei bacini (Carrada, 1963; Sacchi, 1979; Sacchi e Testard, 1980). Lungo le coste continentali e delle isole maggiori italiane esistono numerosi ambienti salmastri condizionati, non solo dalla posizione geografica, ma anche dalle dimensioni; il sistema più esteso è quello della Laguna di Venezia che copre un'area di circa 55000 ettari ed è la più profonda e navigabile, mentre le lagune distribuite lungo il perimetro peninsulare e insulare sono piccole, poco profonde e dipendono dalla comunicazione con il mare e dagli apporti di acqua dolce ruscellante o piovana (Fig. 22). La mesologia delle lagune salmastre o stagni costieri è pertanto il risultato di un insieme di variabili geografiche, topografiche, idrologiche e biologiche. Questi biotopi condividono l'imprevedibilità della vita lagunare i cui ritmi si basano sulla successione annuale delle stagioni, che ha una notevole influenza sulle biocenosi vegetali e animali in grado di colonizzare questi ambienti che si possono riassumere come segue:

1. sono sottoposte ad ampie fluttuazioni di temperatura, salinità, e concentrazione di ossigeno, parametri ambientali che fluttuano secondo i ritmi nictemerali e annuali dei corpi d'acqua;
2. la fertilità chimica dell'acqua dipende dagli apporti di acqua dolce naturali, agricoli e urbani. In particolare questi ultimi due possono determinare fenomeni di eutrofizzazione che interferiscono con il ciclo naturale lagunare e possono provocare fenomeni di anossia e conseguente morte dei popolamenti la cui decomposizione anaerobica ha importanti conseguenze ambientali;

3. la stabilità delle connessioni con il mare dipende molto spesso dall'intervento umano che può assicurare con la vivificazione apportata dalle maree un miglior ricambio d'acqua e evitare il ristagno di sostanze eutrofizzanti o contaminanti che interferiscono con il naturale ciclo mesologico lagunare;
4. le reti trofiche che vi si instaurano sono relativamente semplici e rendono le lagune molto produttive in termini di biomassa;
5. le biocenosi lagunari, sia vegetali sia animali, sono rappresentate da poche specie ben adattate a questo tipo di ambiente o ad ampia valenza ecologica e producono una significativa biomassa.



Fig. 22. Mappa della distribuzione peninsulare e insulare delle principali lagune salmastre e aree paludose italiane. 1) Orbetello; 2) Burano; 3) Lago Patria; 4-5) Faro e Ganzirri; 6) Mar Piccolo; 7) Alimini; 8-9) Varano e Lesina; 10) Comacchio; 11) Venezia; 12) Grado; 13) Tortolì; 14) Colostrai; 15) Santa Giusta; 16) Quartu; 17) Cagliari; 18) Maestrale-Brebeis; 19) Santa Caterina; 20) Marceddi-San Giovanni; 21) Cabras; 22) Casaraccio; 23) Pilo. I = Residuo delle paludi Pontine (Fogliano, Monaci, Caprolace e Sabaudia; II = Residuo delle paludi di Fondi e San Puoto; III) Laghi salmastri dei Campi Flegrei (Fusaro, Miseno e Lucrino); IV) Valli del Delta del Po; V) Lagune della piana di Arborea (Cabras, Is Benas e Mistras). S1) Stagnone di Marsala (Secondo Sacchi, 1979 modificato).

Le lagune sono ambienti con un'elevata variabilità chimico-fisica che permette solo alle specie con una più alta valenza ecologica di inserirsi e la cui sopravvivenza dipende dall'equilibrio termo-alino e dalla disponibilità di ossigeno (Carrada, 1973). I fattori

chimico-fisici seguono ritmi annuali basati sulla successione delle stagioni e influenzano notevolmente la distribuzione degli organismi vegetali e animali, in particolare quelli bentonici, che possono diffondersi e accrescersi sul posto finchè non sopraggiungono cambiamenti tali da provocare la morte delle comunità durante la stagione estiva (Sacchi e Testard, 1980). Nelle aree con alternanza di stagione secca e piovosa, come il clima temperato mediterraneo che interessa l'Italia, ogni laguna che ha una buona comunicazione vivificante con il mare ha una doppia possibilità di variazioni saline: da una parte le fluttuazioni esogene, dovute all'importanza variabile nel tempo degli apporti marini e dei contributi continentali; dall'altra a fattori endogeni dovuti alle variazioni che l'evaporazione, le precipitazioni e i fattori biotici locali impongono alla salinità. Da un punto di vista generale una laguna, sottoposta al regime climatico temperato delle nostre latitudini, nel periodo invernale e primaverile è sottoposta a un periodo di dissalazione, mentre d'estate l'evaporazione poco compensata dall'acqua dolce e dagli apporti di marea fa aumentare la salinità e può provocare insieme con l'aumento di temperatura brusche diminuzioni dell'ossigeno provocando fenomeni di moria che nel linguaggio ecologico tecnico delle lagune si designa come crisi distrofica (Sacchi e Testard, 1980). Questo fenomeno causa un progressivo deterioramento delle condizioni ambientali che in seguito alla grande quantità di biomassa morta sottrae ulteriori quantità di ossigeno dalla colonna d'acqua aggravando l'instaurarsi della crisi distrofica (Carrada, 1963). A ridurre le conseguenze di questo fenomeno è importante l'arrivo dell'autunno e il conseguente abbassamento delle temperature e l'arrivo di acque dolci ruscellanti e di precipitazioni piovose dopo la stagione arida. In questo tipo di scenario ambientale, cioè in bacini di piccole dimensione e bassa profondità, le specie vegetali e animali che popolano gli ambienti salmastri sono sia eurialini sia euritermi, cioè in grado di tollerare ampie e improvvise variazioni, soprattutto, di salinità e temperatura anche se nessuna generalizzazione sugli optima termico e salino di queste comunità sia possibile. Ogni specie di un popolamento lagunare ad ogni suo stadio del ciclo vitale si adatta alla salinità e alla temperatura con reazioni fisiologiche che consentono ai loro individui di colonizzare aree con le caratteristiche ottimali alla loro vita (Sacchi e Testard, 1980; Cognetti, 1982; Marin *et al.*, 1987; Cognetti e Maltagliati, 2000). Questi popolamenti, come dimostrato sperimentalmente, hanno un elevato livello di tolleranza ambientale possedendo un genotipo che consente loro di adattarsi agli ambienti salmastri e di differenziarsi riuscendo a percepire la variabilità ambientale a

piccola scala tipica degli ambienti salmastri formando popolazioni geneticamente differenziate ad ampia distribuzione geografica (Cognetti, 1982; Cognetti e Maltagliati, 2000).

Gli ambienti litoranei, nel corso delle 24 ore, sono soggetti a rilevanti variazioni di alcuni importanti fattori ecologici quali l'ossigeno disciolto, la salinità e la temperatura. Queste variazioni giornaliere risultano ancora più marcate nei piccoli ambienti acquatici litoranei più o meno isolati dal mare, le lagune costiere, con il quale comunicano attraverso foci più o meno efficienti. In ambienti di questo tipo, come fatto rilevare da Nicol (1935) le variazioni dei fattori ecologici in un giorno possono essere spesso più ampie di quelle che si riscontrano in mare aperto nel corso di sei mesi. Queste fluttuazioni così ampie e brusche assumono una particolare importanza ecologica poiché richiedono una grande capacità di adattamento da parte delle biocenosi vegetali e animali che popolano queste acque durante il ciclo giorno-notte e nel corso di un ciclo annuale. Nelle lagune salmastre dell'area mediterranea i ritmi nictemerali assumono un ruolo particolare, grazie anche alla limitata escursione di marea che nelle lagune salmastre è minore che in ambiente marino. Inoltre, il clima mediterraneo presenta cicli stagionali ben distinguibili e che hanno una notevole influenza su corpi d'acqua laminari racchiusi in bacini di piccole dimensioni.

3.2. Il Lago Fusaro

Il Lago Fusaro, noto già ai tempi dei romani con il nome di Acherusia Palus come riportato dall'annalista Strasbone e come sito di ostreicoltura da Plinio, è una laguna salmastra situata sul margine occidentale dei Campi Flegrei, si affaccia sul Golfo di Gaeta a nord-ovest di Napoli (Fig. 23). È una tipica laguna di sbarramento (Rittmann, 1950), ha forma semi-circolare con l'asse maggiore orientato in direzione nord - sud con una lunghezza massima di circa 1700 m e largo 800 m. Il perimetro è lungo circa 4 Km e la sua superficie è di circa 60.6 ha ($\sim 0.6 \text{ Km}^2$), mentre attualmente la sua massima profondità è di 10 m e una profondità media di 3m (Fig. 24A - B).

Rilievi effettuati negli anni '60 e '70 riportavano come massimo batimetrico 6m e una profondità media di 3 m (Carrada, 1963; 1973), ma successivi prelievi di sabbia hanno notevolmente alterato i profili batimetrici provocando una profonda depressione di 10 m alterando notevolmente l'equilibrio idrologico e la dinamica mesologica e ecologica del

bacino (Sarno *et al.*, 1993; De Pippo *et al.*, 2004) (Fig. 24 e 25). La laguna è collegata con il mare mediante tre foci: la Foce Romana, con decorso curvilineo, scavata nel tufo del promontorio di Torregaveta a SSW della spiaggia, la Foce Borbonica o Foce Nuova e la Foce di Mezza Chiaja che rispettivamente tagliano il cordone di dune litorali a NW e in direzione W. Queste tre foci dovrebbero assicurare il ricambio d'acqua della laguna con il mare antistante durante il flusso di alta marea assicurando la vivificazione delle acque del bacino ma attualmente solo la Foce di Mezza Chiaja è attiva, mentre le altre due sono interrates.



Fig 23. Campi Flegrei e dislocazione geografica del Lago Fusaro e dei laghi costieri flegrei.

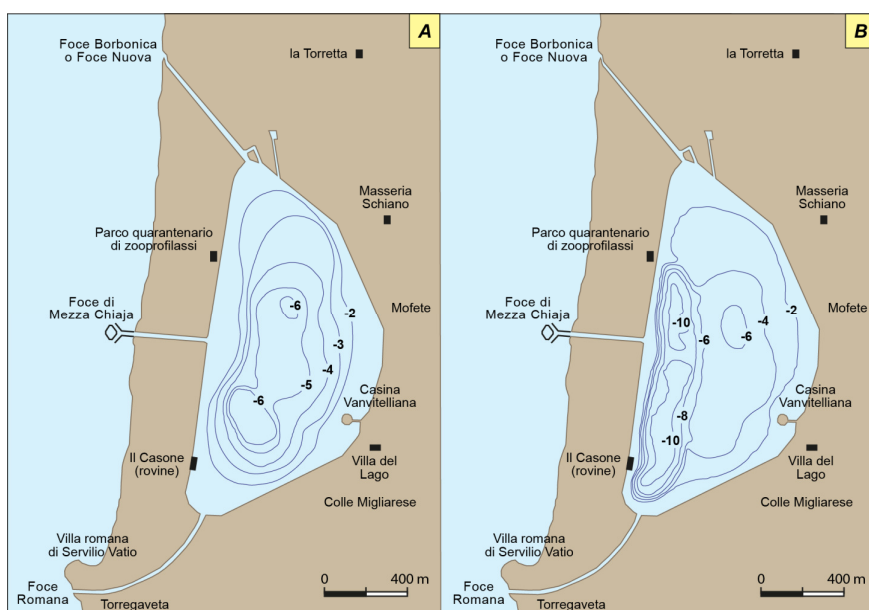


Fig. 24. Batimetrie del Lago Fusaro. A) Isobate antecedenti le operazioni di prelievo della sabbia degli anni 1985-1988 e (B) e conseguente modifica delle batimetrie.

Dagli anni '60 sono diventati importanti da un punto di vista qualitativo e quantitativo i numerosi scarichi di acque bianche, nere e industriali dislocati lungo il perimetro lagunare, il più importante dei quali è quello che convoglia nel Lago Fusaro le acque miste degli abitati di Torregaveta e Cappella e dello stabilimento industriale dell'Alenia (Fig. 3). Il regime idraulico del lago dipende dall'apporto di acqua marina, dall'incidenza dell'evaporazione, dalle acque piovane e gli apporti continentali. È molto importante il contributo dell'evaporazione, specialmente d'estate, ed è stato calcolato che durante la stagione estiva la laguna perda 825 tonnellate d'acqua (Leccese e Speziale, 1967).

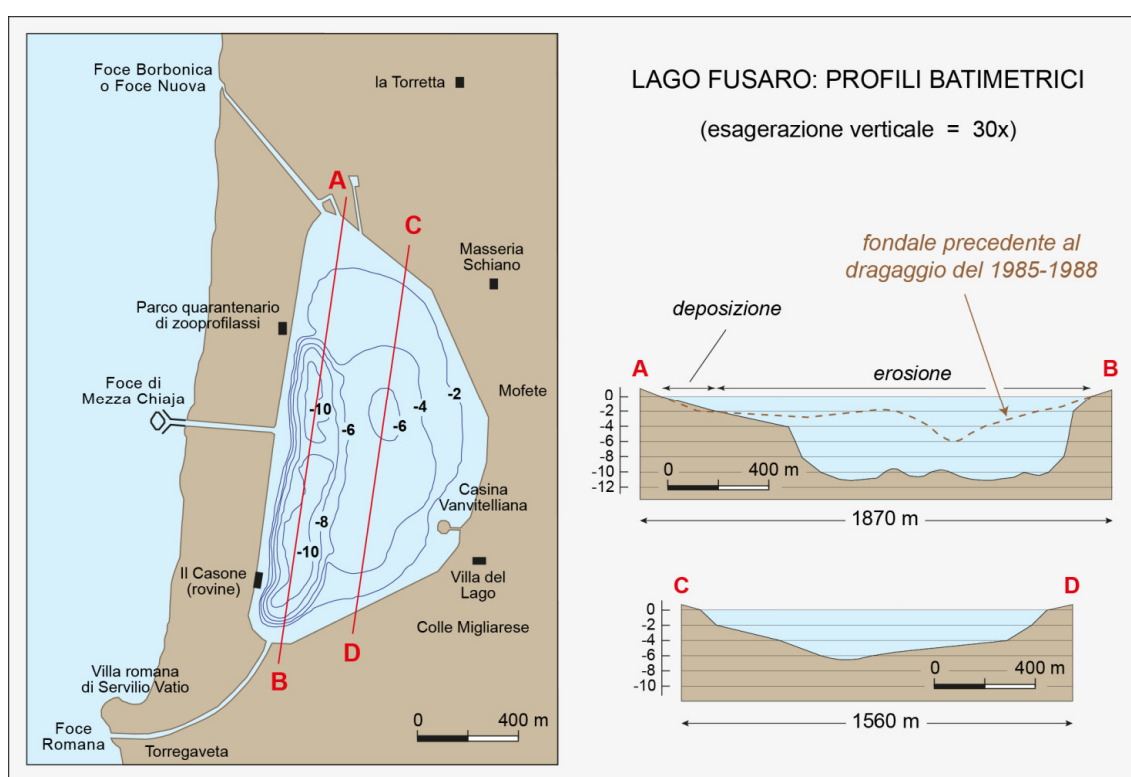


Fig. 25. Profili batimetrici del Lago Fusaro. Sezione A-B che evidenzia la differenza tra prima e dopo le operazioni di prelievo della sabbia dal fondo. Sezione C-D Corrispondente alla parte centrale del lago.

Come per tutti i bacini salmastri dell'area temperata mediterranea i valori della temperatura, della salinità e dell'ossigeno disciolto assumono un'importanza rilevante. È opportuno, quindi, dare un'idea del ciclo stagionale di questi importanti parametri. Inoltre, come tutte le lagune mediterranee il Lago Fusaro è un ambiente molto produttivo dal punto di vista ecologico. In termini generali, il Lago Fusaro è eurialino, è una laguna i cui valori di salinità sono simili a quelli marini e le oscillazioni di questo parametro possono variare da un minimo di 32.00 ‰ a un massimo di 38.15 ‰ e

eccezionalmente si è misurata una salinità del 41.50‰ nel settembre del 1967 (Carrada, 1973; Carrada *et al.*, 1991; Magazzù e Panella, 1969; Sacchi e Renzoni, 1962; Sarno *et al.*, 1993). La temperatura mostra anch'essa variazioni stagionali molto più ampie, essendo il corpo d'acqua laminare e quindi segue da vicino le temperature atmosferiche con variazioni che possono variare da un minimo di 6.0°C nel periodo dicembre-febbraio a un massimo di 30.1°C nel periodo luglio-agosto, evidenziando come nel corso delle stagioni l'escursione termica annua sia particolarmente rilevante rispetto all'andamento climatico locale (Carrada, 1973; Magazzù e Panella, 1969; Sacchi e Renzoni, 1962).

L'ossigeno disciolto raggiunge molto presto valori elevati e analogamente agli altri due parametri ha anch'esso valori con forti scarti stagionali. Dai dati disponibili si riportano valori estremi di 3.92 - 10.07 mgL⁻¹ con valori di saturazione corrispondenti a 82% - 226%. Si osserva in generale che l'ossigenazione, prossima ai valori di saturazione nei mesi autunnali e invernali, subisce notevoli incrementi durante la primavera, come conseguenza dell'aumento delle attività fotosintetiche, raggiungendo localmente valori di sovrasaturazione del 400% (Carrada, 1973; Magazzù e Panella, 1969; Sacchi e Renzoni, 1962).

Per quanto riguarda il ciclo annuale generale del Lago Fusaro esso può essere così schematizzato: la primavera corrisponde al maggiore rigoglio di tutta la laguna, dovuto alla ripresa, spesso rapidissima della vegetazione bentonica, al considerevole "bloom" di fitoplancton autoctono e all'ingresso di quello costiero attraverso le foci (Sarno *et al.*, 1993), per le quali rientrano anche le specie costiere e del benthos mobile e le larve di quello fisso (Russo e Ferro, 1980). Il rigoglio biologico della laguna raggiunge il suo massimo entro la metà di giugno e con il progredire dell'estate, e il conseguente aumento delle temperature, si passa rapidamente a secondo dell'andamento climatico alla facies che prelude alla crisi distrofica estiva. La facies estiva è caratterizzata da specie che sono in grado di tollerare gli aumenti di salinità e temperatura e il rapido abbassamento delle concentrazioni di ossigeno disciolto come il polichete *Capitella capitata* che indica un ambiente povero di ossigeno e elevato inquinamento organico (Sordino *et al.*, 1989; De Pippo *et al.*, 2004). Il Lago Fusaro è una laguna caratterizzata dalla variabilità dei valori estremi e non dai valori medi come accade in ambiente marino e dal loro verificarsi stagionale seguendo il clima come riportato in altri ambienti simili (Vázquez e Young, 2000). Durante questa fase inizia la moria delle

specie a più bassa valenza ecologica, la cui decomposizione *in loco* sottrae ulteriori concentrazioni di ossigeno all'ambiente aggravando la crisi che in pochi giorni può essere completa (Sacchi e Testard, 1980). Entro questo ciclo stagionale si inserisce un ritmo che regola la vita degli organismi e la loro presenza o assenza, poiché le ampie oscillazione dei parametri ambientali che covariano favoriscono specie ad ampia valenza ecologica, cioè organismi eurialini e euritermi adattati a tollerare ampie variazioni di salinità e temperatura. Inoltre la produzione di biomassa delle singole specie presenti è alta sia per la semplicità della catena trofica sia per la scarsa competizione interspecifica o l'assenza di predatori.

CAPITOLO IV

4.1. Risultati

I dati dei fattori ambientali e la loro mutevolezza nel tempo, in un ecosistema lagunare, hanno una grande influenza sul ciclo vitale di *C. intestinalis* sp A. La variabilità mesologica dipende dal clima, dagli apporti di marea e dall'interferenza dell'inquinamento antropico che rappresenta un fattore incontrollabile, e a volte determinante per la sua incisività sulla qualità delle acque del Lago Fusaro e sul ciclo naturale del bacino e della dinamica di popolazione della specie. Il set di parametri ambientali studiato include i fattori climatici, la temperatura, la salinità (S ‰), l'ossigeno disciolto e di saturazione percentuale (OD [O₂] mg l⁻¹; %O₂), e la torbidità (NTU) che pur essendo un importante fattore per la biologia delle ascidie non è mai stato misurato e mancano termini di paragone quantitativi per questa variabile. I parametri misurati influenzano gli andamenti della presenza o dell'assenza della specie determinandone il numero di generazioni, l'accrescimento, la longevità e la capacità riproduttiva della specie. I dati ambientali sono stati incrociati con la biomassa, il condition index (CI) e lo sviluppo ovarico per verificare come i fattori esogeni condizionano nel tempo il ciclo biologico di *C. intestinalis* sp A.

4.2. Fattori climatici

I fattori climatici, la temperatura e la piovosità in particolare, influenzano in modo diretto la mesologia del Lago Fusaro e le comunità bentoniche presenti nei punti studiati. Sono stati raccolti i dati climatici del biennio 2011 - 2012 per seguire le curve della temperatura e della piovosità incrociando questi due dati con gli altri parametri ambientali e relazionandoli alla dinamica di popolazione di *C. intestinalis* sp A nel Lago Fusaro. I risultati evidenziano che la curva delle temperature, ottenuta utilizzando i dati giornalieri della stazione meteo di Licola - Cuma, non evidenzia variazioni rilevanti a livello stagionale, mentre la curva della piovosità permette di apprezzare come l'incidenza delle precipitazioni cadute nel periodo di tempo considerato influenzano la salinità del bacino (Fig. 26 e 29).

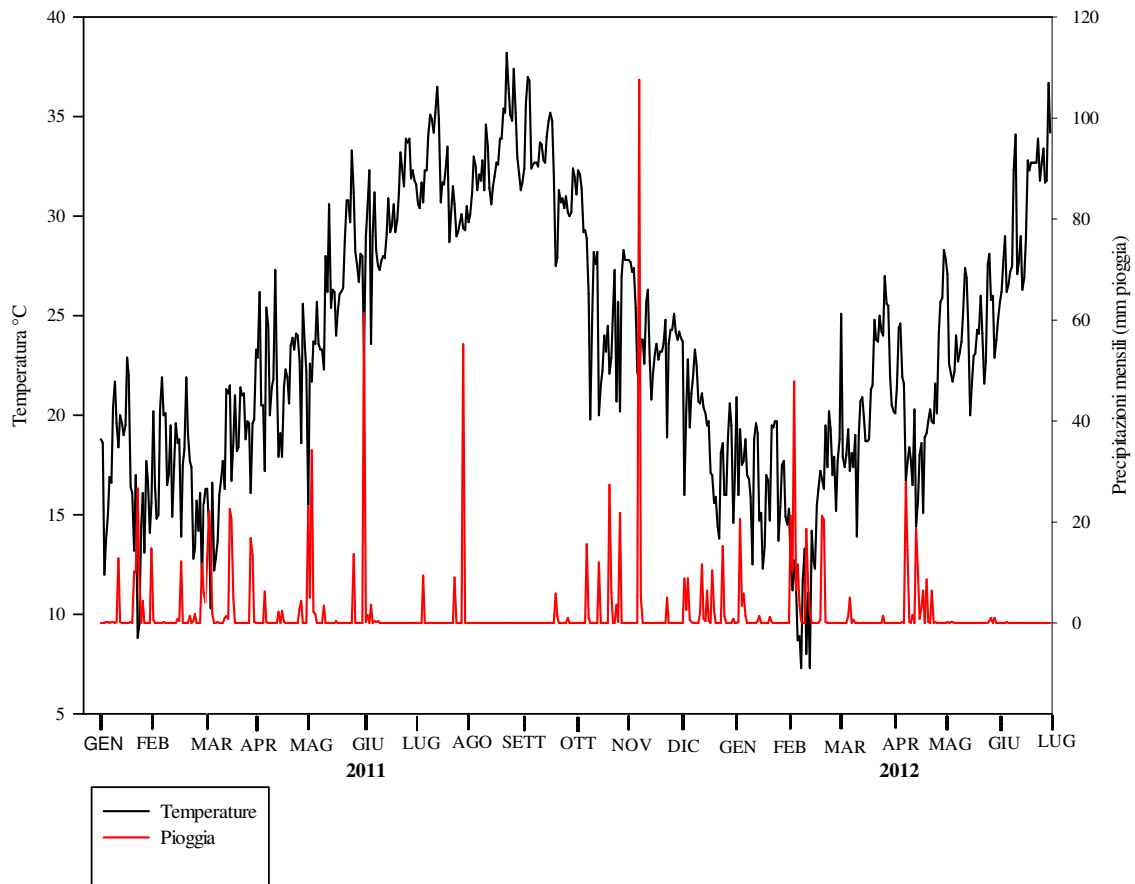


Fig. 26. Diagramma delle temperature (in nero) e della piovosità (in rosso) del biennio 2011-2012 coincidente con il periodo di campionamento

La temperatura è importante perchè influisce sull'evaporazione del volume d'acqua contenuto nel bacino, e la piovosità a sua volta per tamponare la perdita dei volumi d'acqua e influenzando sulla salinità (Carrada 1963; 1973) (Fig. 26). La piovosità dell'anno 2011 durante la stagione invernale rientra nella norma climatica locale, mentre durante il periodo primaverile e estivo si hanno picchi di piovosità superiori a quelli della prima parte dell'anno rappresentando una particolarità degna di nota (Fig. 26). Il periodo estivo secco dura solo da agosto alla fine di settembre, quando riprendono le precipitazioni del periodo autunno-inverno con un rimarchevole picco a novembre 2011 che coincide con i minimi di salinità (Fig. 29). La piovosità nell'arco di tempo da gennaio a giugno del 2012, coincidente con l'ultimo semestre di campionamenti, è stata sporadica ma intensa soprattutto in coincidenza di ripetuti abbassamenti termici (Fig. 26). Un secondo picco, inferiore al precedente in febbraio, si è avuto nel mese di aprile. Durante l'ultimo bimestre coincidente con i campionamenti gli apporti delle precipitazioni sono stati trascurabili, mentre i valori della temperatura sono aumentati

incrementando gli innalzamenti di temperatura dello specchio d'acqua facendo registrare i massimi misurati.

4.3. Temperatura

È stato più volte evidenziato quanto la temperatura dell'acqua sia una variabile importante sul ciclo vitale del taxon studiato, che vive adattandosi in ambienti con ampi scarti di questo parametro (Dybern, 1965). La temperatura dell'acqua del Lago Fusaro, come in tutti gli ambienti lagunari è direttamente influenzata da quella atmosferica, facendo registrare andamenti termici che non corrispondono a quelli stagionali del mare aperto (Fig. 27 e Tab. 4).

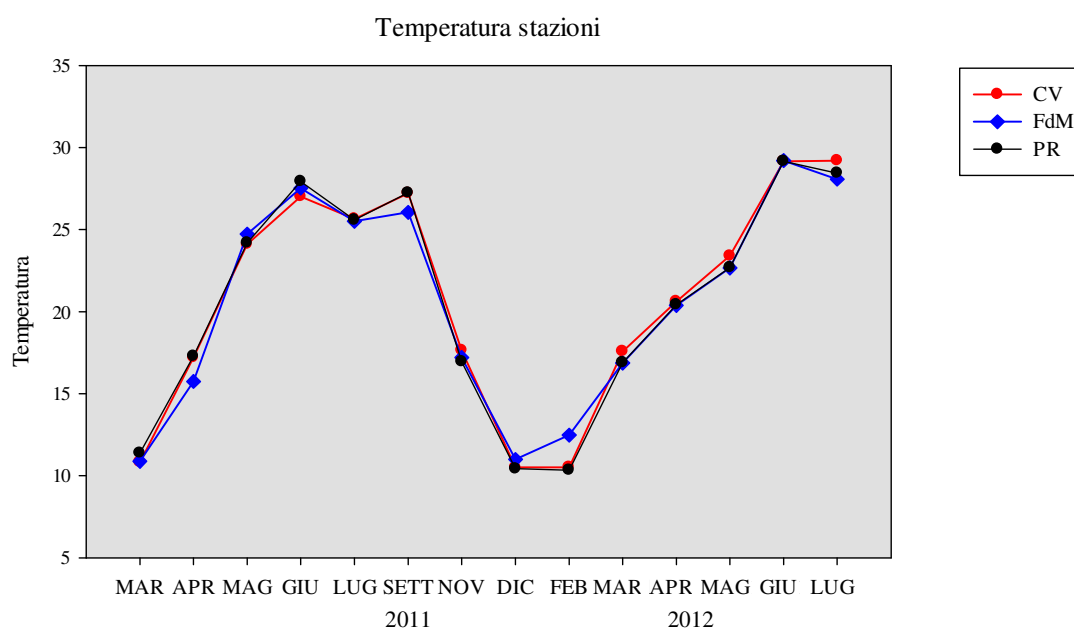


Fig. 27. Andamento delle temperature nei tre siti di campionamento.

I valori minimo e massimo di temperatura registrati sono rispettivamente di 10.34° C e 29.21° C, con uno scarto complessivo, relativo al periodo di studio, di circa 19°C e una temperatura media di circa 21°C (Tab. 4). I valori della temperatura non mostrano significative variazioni con i dati noti dalla letteratura (Magazzù e Panella, 1969; Sarno *et al.*, 1993). L'andamento termico delle tre stazioni di campionamento è quasi identico e non evidenzia importanti scarti dei valori, considerando la bassa quota batimetrica di raccolta degli organismi (0.50 m) tranne in FdM in coincidenza delle fasi di marea entrante. Ciò è evidente dalla Tab. 4 dove si riportano i singoli valori della temperatura

delle stazioni e le fasi di marea durante le misurazioni effettuate. Dalla primavera all'estate gli aumenti di temperatura sono progressivi e il fenomeno si inverte repentinamente nella stagione autunnale quando si registrano i minimi termici invernali (Fig. 27). L'unico abbassamento degno di nota della temperatura dell'acqua si è avuto nel luglio 2011, quando in coincidenza della data di campionamento sono caduti 55.20 mm di pioggia con un abbassamento di circa 2° C rispetto alle temperature del periodo estivo (Tab. 4).

Data Campionamento	Fase di marea	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011	Entrante	10.83	10,88	11.38
7 aprile 2011	Entrante	17.21	15.75	17.29
26 maggio 2011	Usciente	24.11	24.73	24.19
22 giugno 2011	Entrante	27.02	27.54	27.93
28 luglio 2011	Usciente	25.66	25.52	25.60
15 settembre 2011	Entrante	27.22	26.50	27.25
8 novembre 2011	Usciente	17.65	17.21	16.95
28 dicembre 2011	Usciente	10.50	10.99	10.42
22 febbraio 2012	Entrante	10.52	12.48	10.34
29 marzo 2012	Usciente	17.58	16.87	16.90
30 aprile 2012	Usciente	20.62	20.38	20.43
31 maggio 2012	Usciente	23.40	22.67	22.69
28 giugno 2012	Usciente	29.16	29.21	29.17
31 luglio 2012	Entrante	29.20	28.08	28.45
	Media	20.76	20.60	20.64
	Mediana	22.01	21.52	21.56
	SD	6.83	6.53	6.83
	Std err	1.82	1.75	1.82
	Min	10.50	10.88	10.34
	Max	29.20	29.21	29.17

Tab 4. Valori della temperatura registrati nei singoli siti di campionamento.

4.4. Salinità

I dati pregressi sulla salinità del Lago Fusaro indicano che il range di variazione annuale è compreso tra il 35-38 ‰ con abbassamenti fino al 32 ‰ durante i periodi di abbondanti precipitazioni invernali e primaverili e con tutte e tre le foci funzionanti (Magazzù e Panella, 1969; Sarno *et al.*, 1993). Le abbondanti piogge cadute durante il periodo di studio hanno influenzato la salinità dello specchio d'acqua, insieme con gli apporti degli scarichi dislocati lungo il perimetro lagunare la cui portata non è calcolabile, né trascurabile per l'apporto di inquinanti e altre sostanze in sospensione che si sommano al naturale run-off terrestre che interessa la laguna. L'insieme dei volumi d'acqua piovana e degli scarichi hanno tamponato l'evaporazione estiva e

influenzato la salinità degli strati superficiali del bacino (Fig. 29; Tab. 5). L'acqua meno salina e densa tende a stratificarsi in superficie rispetto agli strati d'acqua sottostanti più salini e densi e influenza direttamente le popolazioni di *C. intestinalis* sp A del Lago Fusaro. Questo parametro è quello che rispetto ai dati noti dalla letteratura ha evidenziato le maggiori differenze, perché su tre foci comunicanti con il mare solo la Foce di Mezza Chiaja è attiva (Fig. 3). Il mancato apporto dei volumi d'acqua marina entranti dalle altre due foci ostruite ha determinato questo cambiamento alino non trascurabile. I valori minimo e massimo registrati sono rispettivamente del 27.95‰ e di 35.30‰ e discostano da quelli precedentemente riportati (Tab. 5) (Magazzù e Panella, 1969; Sarno *et al.*, 1993).

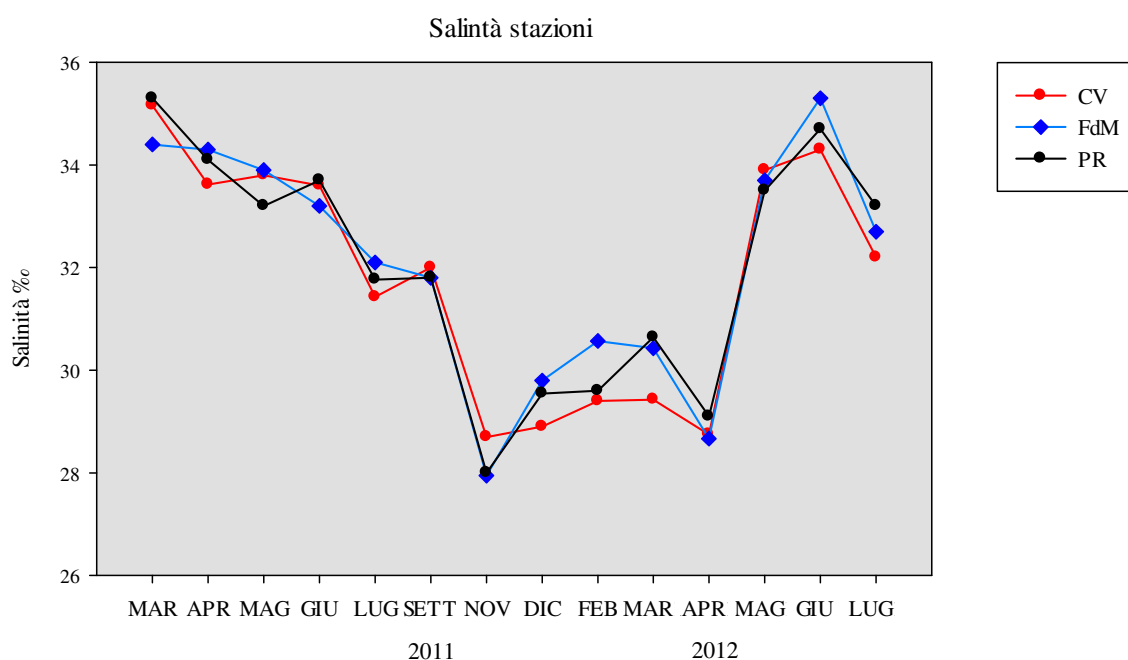


Fig 28. Andamento della salinità nei tre siti di campionamento.

Come per le temperature anche per questo parametro tra le stazioni c'è omogeneità dei valori tranne per il periodo di tempo compreso tra novembre 2011 e aprile 2012 quando i valori raggiungono i minimi in corrispondenza dei periodi più piovosi aumentando fino a giugno 2012 in assenza di precipitazioni (Fig. 28 e Tab. 5).

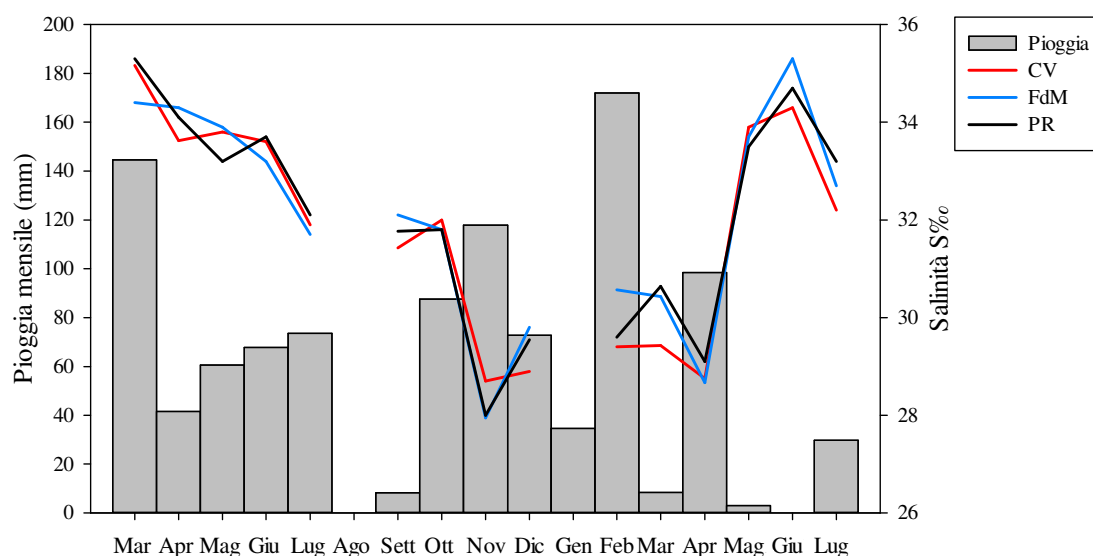


Fig. 29. Influenza stagionale delle quantità di precipitazioni meteoriche sulla salinità. Le linee sono interrotte in corrispondenza dei mesi per i quali mancano i dati parametrici.

Data Campionamento	Fase di marea	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011	Entrante	35.16	34.40	35.30
7 aprile 2011	Entrante	33.62	34.30	34.10
26 maggio 2011	Uscente	33.80	33.90	33.20
22 giugno 2011	Entrante	33.60	33.20	33.70
28 luglio 2011	Uscente	31.43	32.10	31.77
15 settembre 2011	Entrante	32.00	31.80	31.80
8 novembre 2011	Uscente	28.70	27.95	28.00
28 dicembre 2011	Uscente	28.90	29.80	29.55
22 febbraio 2012	Entrante	29.40	30.57	29.60
29 marzo 2012	Uscente	29.43	30.43	30.64
30 aprile 2012	Uscente	28.75	28.67	29.10
31 maggio 2012	Uscente	33.90	33.70	33.50
28 giugno 2012	Uscente	34.30	35.30	34.70
31 luglio 2012	Entrante	32.20	32.70	33.20
	Media	31.80	32,06	32,01
	Mediana	32.10	32,40	32,50
	SD	2.34	2.27	2.30
	Std err	0.63	0.61	0.61
	Min	28.70	27.95	28.00
	Max	35.16	35.30	35.30

Tab. 5. Valori della salinità registrati nei singoli siti di campionamento.

4.5. Ossigeno disciolto (DO) e ossigeno di saturazione (% O₂)

La concentrazione dell'ossigeno disciolto è anch'essa molto variabile nel tempo. Durante le nostre osservazioni sono stati rilevati valori estremi di 2.39 - 12.31 mg l⁻¹ con corrispondenti valori di saturazione percentuale di 35.60% - 141.49%. I valori

dell'ossigenazione durante il periodo di osservazioni tra marzo e giugno 2011 hanno avuto un andamento con repentini sbalzi dei valori (Fig. 30 e 31). I primi due valori mensili della serie registrati rientrano nella norma stagionale del Lago Fusaro, ma nel corso del terzo campionamento, a maggio 2011, si è registrato un drastico evento di anossia causato da un massiccio scarico di sostanza organica che ha avuto come effetto più macroscopico e immediato la moria dei pesci che si trovavano nell'area interessata. La stazione di campionamento maggiormente coinvolta dal fenomeno è stata CV dove si è appunto registrato il valore minimo del periodo di misurazioni. Le altre due stazioni, FdM e PR, pur essendo interessate non hanno evidenziato le severe conseguenze ambientali osservate nella stazione CV (Figs. 30 e 31). Il valore che si riscontra in FdM di 5.79 mg l^{-1} (= 92.31 %) è dovuto alla fase uscente di marea che ha trasportato presso la foce l'acqua sporca (Tab. 6). Questo fenomeno pur essendo stato transitorio ha avuto importanti conseguenze biotiche su tutta la comunità bentonica residente nell'area della stazione CV.

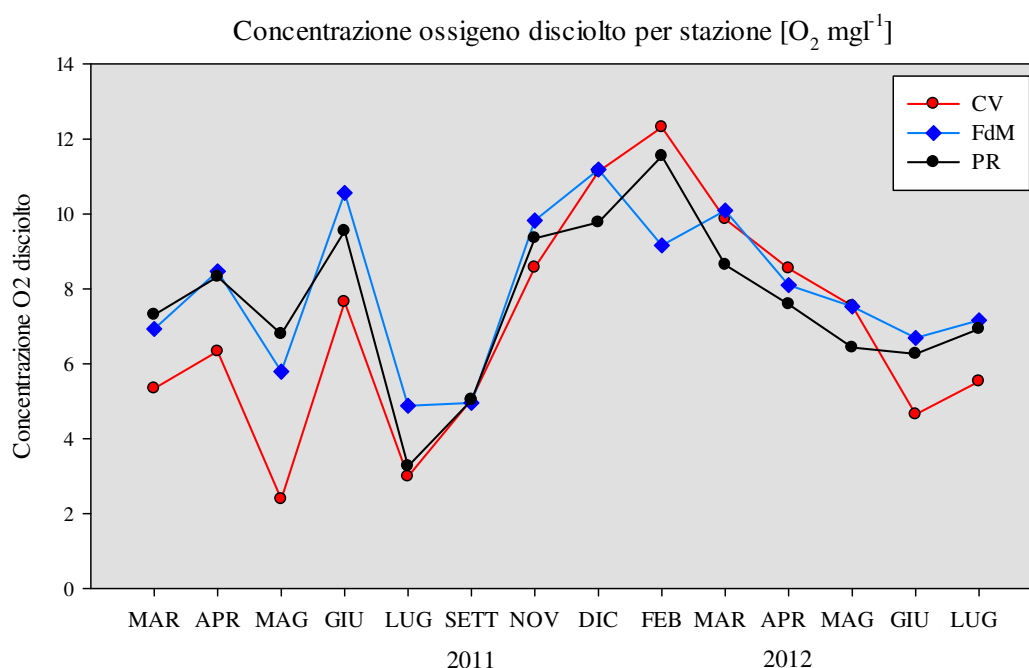


Fig. 30. Andamento dei valori dell'ossigeno disciolto nelle tre stazioni di campionamento.

Durante il periodo estivo i valori hanno subito un forte abbassamento raggiungendo valori di sottosaturazione, compatibili con gli andamenti del lago (Magazzù e Panella, 1969), che a luglio hanno raggiunto il minimo stagionale in tutte e tre le stazioni (Fig. 30 e 31; Tabelle 6 e 7). Da settembre a novembre l'aumento del DO è rapido, mentre in

FdM si ha un'inversione dei valori che si riprendono rapidamente, ma rispetto alle altre due stazioni sono sempre sfasati fino a marzo 2012. I valori procedono in modo più o meno simile fino maggio 2012. A giugno 2012 la stazione CV ha il valore di 4.65 mg l⁻¹ con il 77.38% mentre le stazioni FdM e PR hanno valori maggiori di 6 mg l⁻¹ con valori percentuali di saturazione che superano di poco il 100%.

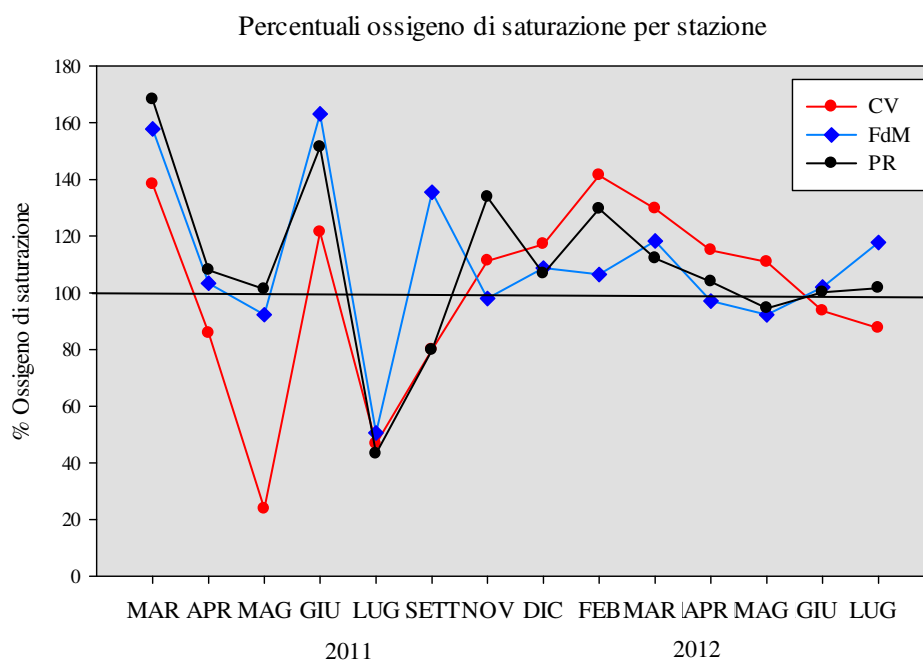


Fig. 31. Andamenti dei valori percentuali dell'ossigeno di saturazione nelle tre stazioni campionamento.

Data Campionamento	Fase di marea	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011	Entrante	5.34	6.93	7.31
7 aprile 2011	Entrante	6.33	8.47	8.32
26 maggio 2011	Uscente	2.39	5.79	6.79
22 giugno 2011	Entrante	7.65	10.50	9.54
28 luglio 2011	Uscente	2.99	4.88	3.27
15 settembre 2011	Entrante	5.04	4.96	5.03
8 novembre 2011	Uscente	8.57	9.82	9.35
28 dicembre 2011	Uscente	11.13	11.18	9.77
22 febbraio 2012	Entrante	12.31	9.16	11.54
29 marzo 2012	Uscente	9.86	10.09	8.64
30 aprile 2012	Uscente	8.40	8.10	7.59
31 maggio 2012	Uscente	7.54	7.53	6.43
28 giugno 2012	Uscente	4.65	6.69	6.26
31 luglio 2012	Entrante	5.53	7.16	6.93
	Media	6.98	7.95	7.62
	Mediana	6.93	7.81	7.45
	SD	2.92	2.02	2.12
	Std err	0.78	0.54	1.22
	Min	2.39	4.88	3.27
	Max	12.31	11.18	11.54

Tab. 6. Valori dell'ossigeno disciolto registrati.

Data Campionamento	Fase di marea	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011	Entrante	138.35	130.65	168.22
7 aprile 2011	Entrante	85.84	103.35	108.05
26 maggio 2011	Uscente	23.88	94.00	101.34
22 giugno 2011	Entrante	121.43	170.32	116.94
28 luglio 2011	Uscente	46.72	52.50	51.09
15 settembre 2011	Entrante	80.00	80.00	71.59
8 novembre 2011	Uscente	111.30	127.53	121.43
28 dicembre 2011	Uscente	127.93	108.74	109.78
22 febbraio 2012	Entrante	141.49	106.51	129.66
29 marzo 2012	Uscente	129.74	131.04	112.21
30 aprile 2012	Uscente	115.04	101.14	103.70
31 maggio 2012	Uscente	110.88	109.19	94.56
28 giugno 2012	Uscente	76.23	107.62	102.62
31 luglio 2012	Entrante	90.66	115.48	101.71
	Media	99.96	109.86	106.63
	Mediana	111.09	108.18	105.87
	SD	34.72	26.96	26.64
	Std err	9.28	7.20	7.12
	Min	23.88	52.50	51.09
	Max	141.49	170.32	168.22

Tab. 7. Valori dell'ossigeno di saturazione registrati.

Si nota che anche questi valori tra novembre 2011 e aprile 2012 hanno frequenti oscillazioni per poi diminuire progressivamente fino al giugno 2012, analogamente a quanto riscontrato per la salinità.

4.6. Torbidità (NTU)

La torbidità è un parametro considerato un fattore di stress ambientale, di cui mancano misure di confronto per estrapolare quali possano essere i valori soglia che creano un effettivo danno a *C. intestinalis* sp A o alle altre specie di ascidia solitaria (Millar, 1953; Lambert, 2005; Bates, 2005). Le misure di questo parametro, sono state condizionate dall'evento di scarico sostanza organica verificatosi nell'area della Casina Vanvitelliana. In corrispondenza di questa circostanza presso la stazione CV si è registrato un valore eccezionale di 204 NTU che nei due mesi successivi ha fatto registrare valori inferiori a giugno (12.8 NTU) e luglio (17.4 NTU) ma comunque più alti rispetto alle stazioni FdM e PR (Fig. 32 e Tab. 8). Quanto verificatosi presso la stazione CV ha avuto una grande influenza a livello locale causando la scomparsa per lungo tempo della specie e di altri organismi bentonici scompaginando il naturale evolvere temporale della comunità bentonica del sito. Superato il momento di crisi verificatosi in corrispondenza della stagione estiva, il periodo mesologico critico della

laguna, da settembre in poi i valori si sono attestati in un range di variabilità da un minimo di 0.32 (NTU) a un massimo di 3.85 (NTU) fra le tre stazioni durante il periodo settembre 2011-aprile 2012. Nei mesi successivi si nota un incremento dei valori che aumentano fino a 32.86 (NTU) a giugno presso il sito CV, quando la specie scompare progressivamente da tutti e tre i siti di campionamento. La mancanza di dati di confronto lascia ipotizzare che i valori ottimali della torbidità misurati possano essere individuati in un range $0 < \text{NTU} < 4.0$ corrispondenti al periodo novembre 2011- aprile 2012 ribadendo quanto già osservato per la salinità e i valori dell'ossigeno (Fig. 32).

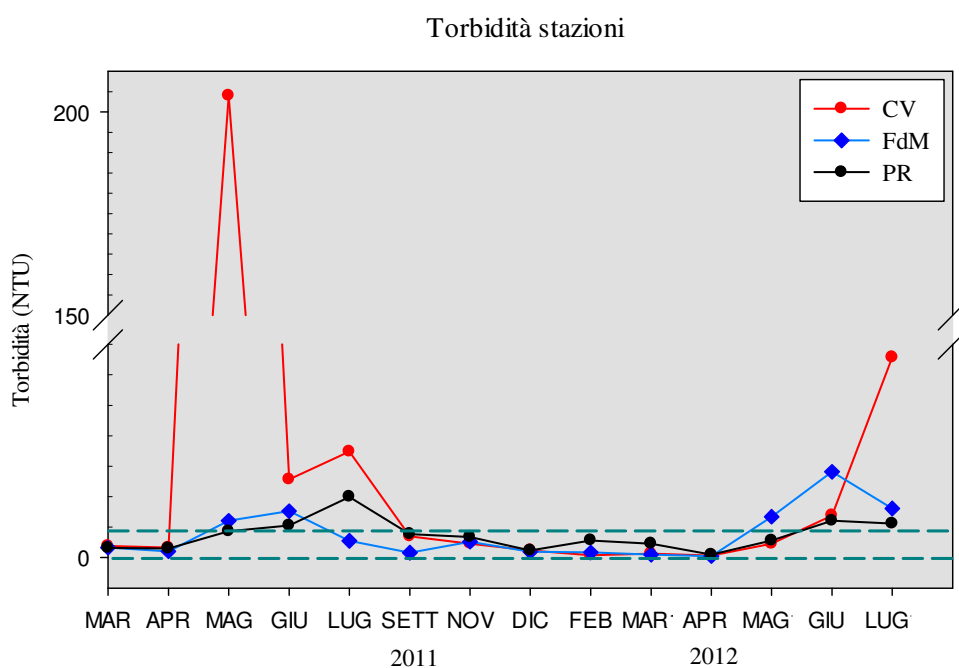


Fig. 32. Andamento della torbidità registrati nei siti di campionamento. Si nota il valore fuori scala e la sua influenza sul sito CV successivamente al picco di maggio 2011. Le linee tratteggiate indicano i valori del range $0 < \text{VTU} < 4$ del probabile optimum di torbidità di *C. intestinalis* sp A.

Data Campionamento	Fase di marea	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011	Entrante	1.89	1.63	1.58
7 aprile 2011	Entrante	1.62	1.03	1.47
26 maggio 2011	Uscente	204.00	6.03	4.31
22 giugno 2011	Entrante	12.80	7.61	5.23
28 luglio 2011	Uscente	17.40	2.75	9.95
15 settembre 2011	Entrante	3.49	0.80	3.85
8 novembre 2011	Uscente	2.28	2.61	3.37
28 dicembre 2011	Uscente	1.16	0.95	1.15
22 febbraio 2012	Entrante	0.34	0.83	2.81
29 marzo 2012	Uscente	0.64	0.46	2.27
30 aprile 2012	Uscente	0.32	0.24	0.46
31 maggio 2012	Uscente	2.25	6.69	2.77
28 giugno 2012	Uscente	6.89	14.07	6.03
31 luglio 2012	Entrante	32.86	8.04	5.58
	Media	20.57	3.84	3.63
	Mediana	2.26	2.12	3.09
	SD	53.58	4.07	2.49
	Std err	14.32	1.09	0.66
	Min	0.32	0.24	0.46
	Max	204.00	14.07	9.95

Tab. 8. Valori della torbidità registrati nei singoli siti di campionamento.
I valori della stazione CV sono condizionati dal massimo registrato come fuori scala.

4.7. Dinamica di popolazione

La dinamica di popolazione di *C. intestinalis* sp A al Lago Fusaro fa risaltare che tra le stazioni studiate non c'è un timing sincrono, le fluttuazioni numeriche dipendono dai parametri, e ci sono fattori di variabilità locale che influenzano anche la biomassa totale e la taglia media degli individui (Fig. 33A - C). Gli eventi antropici che hanno determinato la scomparsa accidentale della popolazione individuata presso il punto di campionamento CV non hanno permesso di confrontare il naturale evolvere delle popolazioni in tutti e tre i punti di campionamento. Le indicazioni fornite sono di grande interesse, soprattutto per gli andamenti eterocroni riscontrati nei siti dove l'azione di disturbo antropica non ha influito sul ciclo vitale della specie.

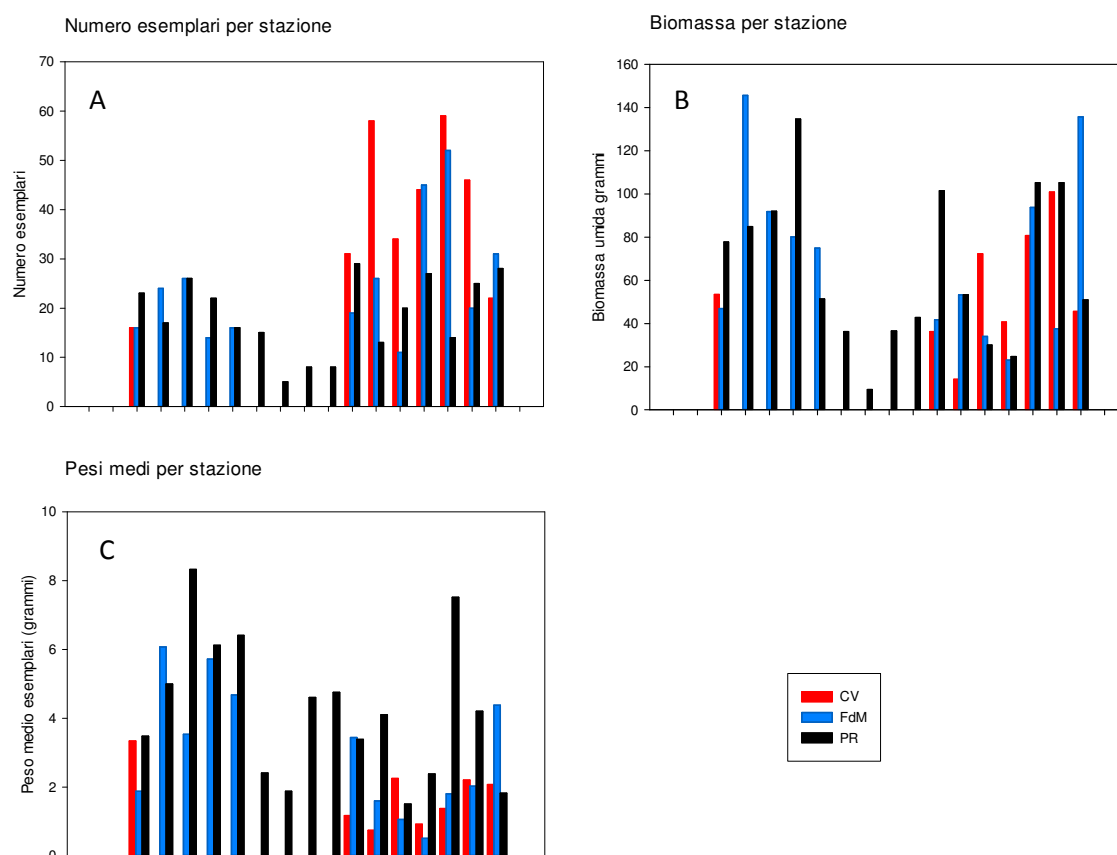


Fig. 33. A) Andamento del numero di individui nel tempo nei tre punti di campionamento; B) differenza di biomassa umida prodotta nei siti; C) variabilità dei pesi medi degli individui per ogni stazione. Stazione. CV = rosso; FdM = blu e PR = nero.

4.7.1. Casina Vanvitellina (CV)

In questo punto gli individui di *C. intestinalis* sp A vivono aggregati sui piloni dove formano densi clusters, a volte multigenerazionali, utilizzando come substrato l'intrico di tubi del polichete *Mercierella enigmatica* (Fig. 18A - B). Da 0.30 m di profondità fino a quasi il fondo (~ 1.20 m) gli individui del taxon colonizzano tutto lo spazio disponibile, talvolta monopolizzandolo, colonizzando tutti corpi rigidi di varia natura. Questa stazione di campionamento è quella che risente maggiormente degli scarichi circostanti ed è quella più interna al Lago Fusaro (Fig 3). Gli istogrammi di frequenza ponderale permettono di seguire come la dinamica di popolazione nell'area della Casina Vanvitelliana è stata condizionata dall'evento di anossia registrato nel maggio 2011 che ha provocato la scomparsa della specie ostacolando il naturale evolvere della popolazione nella stazione di campionamento qui collocata. Le immersioni dei mesi seguenti non hanno dato esito fino al mese di novembre 2011, quando la specie è ricomparsa con un primo evento di reclutamento ribadito il mese successivo con un primo picco numerico di individui molto più consistente e tutti di piccola taglia ponderale costituendo una seconda generazione annuale rispetto al periodo di tempo studiato (Fig. 34). Questo primo contingente rappresenta la generazione in grado di recuperare la stroncatura della popolazione dopo l'evento anossico precedente. Gli eventi di reclutamento si sono succeduti a novembre e dicembre, in corrispondenza della ripresa biologica della laguna nel periodo autunnale, quando le temperature dell'acqua diminuiscono da circa 27° C - 17° C (Fig.27), la salinità dai valori minimi aumenta al 32‰ (Fig. 28) e l'ossigenazione nella colonna d'acqua è in ripresa (Fig. 30 e 31). Questa generazione autunnale si accresce fino a febbraio 2012 strutturandosi in due classi modali in cui prevalgono ancora individui di piccola classe ponderale e una seconda classe di individui che si sono accresciuti fino al raggiungimento della maturità sessuale. Nel periodo marzo-aprile 2012 non c'è più traccia del gruppo precedente come conseguenza delle basse temperature di fine febbraio e della prima decade di marzo 2012 che sono risultate fatali al primo gruppo insediatosi (Fig. 34). Nel bimestre marzo-aprile si nota un secondo evento di reclutamento che con l'aumentare della temperatura favorisce l'accrescimento di questa nuova generazione. Il mese successivo si ha ancora una struttura unimodale della popolazione, ma anche una riduzione del numero di individui. A giugno 2012 si è constatato che almeno il 50% degli individui presenti era

moribondo e questo campionamento è stato l'ultimo in cui la specie è stata raccolta (Fig. 34). L'arco di tempo da novembre 2001 a giugno 2012 ha evidenziato che in questa stazione *C. intestinalis* sp A ha avuto una grande capacità di recupero in termini numerici nonostante la taglia media ponderale degli individui sia di 1.7 grammi (Fig. 33A - C). Nel periodo di tempo dei campionamenti si distingue una generazione tardo primaverile decimata dall'anossia di cui non si è potuto seguire l'evoluzione rispetto all'andamento stagionale. Le due generazioni successive si distribuiscono dalla ripresa constatata a novembre 2011 fino a febbraio 2012, e una seconda generazione da marzo 2012 con un periodo riproduttivo più lungo che scompare a giugno 2012. Si distinguono tre generazioni, la prima estintasi a maggio 2011 la cui longevità non è calcolabile, mentre le altre due generazioni hanno un periodo di vita rispettivamente di tre e quattro mesi durante il quale l'accrescimento non è vigoroso, ma si riproducono intensivamente finché le condizioni ambientali lo consentono.

Istogrammi di frequenza ponderale CV

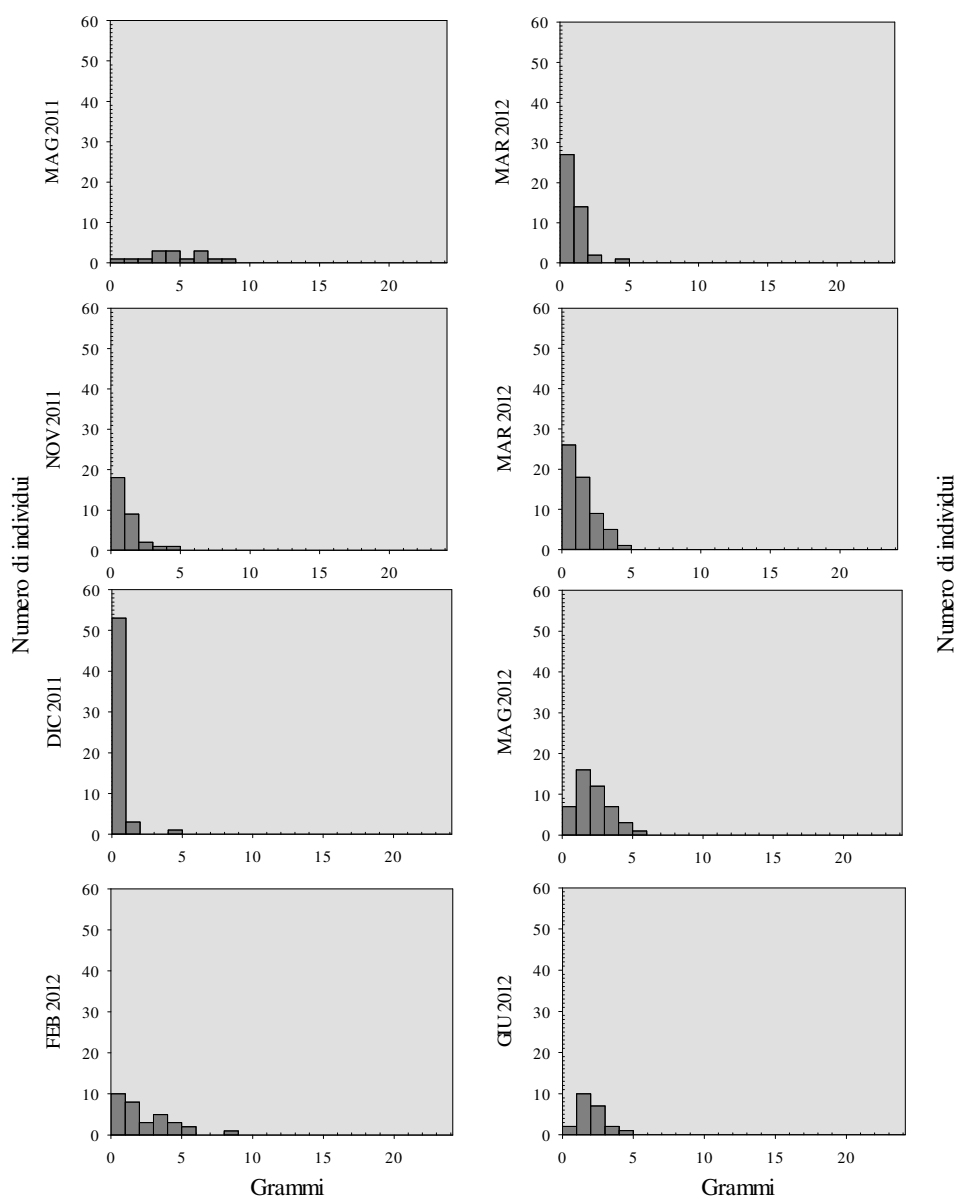


Fig. 34. Istogrammi di frequenza della stazione CV. Il campione di maggio 2011 è l'unico della stagione in seguito alla scomparsa della specie causato dall'evento di anossia coincidente con la campionatura. A novembre 2011 si ha la ripresa autunnale della popolazione e la sua successiva evoluzione temporale.

4.7.2. Foce di Mezza Chiaja (FdM)

In questo sito gli individui vivono anche loro da 0.30 m di profondità fino a quasi lambire la sabbia su una superficie verticale rappresentata dal banchinamento artificiale. In questo punto l'idrodinamismo è più forte e influenzato dai flussi e riflussi del ciclo di marea. Anche qui gli organismi si aggregano in clusters, ma meno densi di quanto rilevato alla stazione CV. Nella stazione collocata presso lo sbocco della Foce di Mezza Chiaja si è avuto un andamento della dinamica di popolazione più in sintonia con gli eventi stagionali della laguna (Fig. 35). Si individua un andamento dinamico corrispondente al periodo tardo primaverile ed estivo della popolazione qui insediata. A maggio 2011 si individuano due gruppi generazionali; un primo gruppo numericamente esiguo di individui con taglie ponderali comprese fra 5 - 7 grammi appartenenti ad una generazione precedente, mentre il gruppo più rappresentativo è costituito da individui di taglie ponderali inferiori che si strutturano in modo unimodale e rappresentano un insieme di organismi più giovani. Questi individui si accrescono rapidamente favoriti da valori di temperatura che rientrano nei limiti massimi ottimali per la specie (Marin et al., 1987). Infatti, la struttura della popolazione è unimodale e un aumento di taglia ponderale è testimoniato dal raddoppio del peso medio degli individui (Fig. 34B; Tab. 9). Dal tardo giugno a luglio 2011, invece la tendenza si inverte, la biomassa complessiva e i pesi medi diminuiscono e si ha una contrazione numerica degli individui che culmina nel mese di luglio quando si hanno i massimi di temperatura e i minimi di ossigeno disciolto e gli individui della prima classe ponderale sono mancanti. La stagione estiva segna la scomparsa anche in questo punto della specie che ricompare nel novembre 2011 ribadendo quanto avvenuto presso la Casina Vanvitelliana (Fig. 34A e 35). La generazione di novembre pur segnando la ripresa in termini numerici e di biomassa è effimera e viene sostituita da un'altra generazione quando un nuovo contingente di individui si insedia a dicembre e resiste fino a febbraio come testimonia l'abbassamento numerico, dei pesi medi e della biomassa dovuti alle basse temperature (Fig. 33B e C). A marzo 2012 si ha un picco di presenze di giovani individui che sostituiscono gli individui morti, analogamente a quanto riscontrato presso la stazione di campionamento CV (Fig. 35). Questa nuova generazione si accresce rapidamente fino ad aprile. Il bimestre aprile-maggio 2012 è caratterizzato dalla diminuzione numerica degli individui, ma la biomassa è quasi uguale perchè il peso medio degli esemplari è

quasi raddoppiato (Fig. 33C). Tra maggio e giugno gli individui si accrescono rapidamente e anche in questo caso l'arrivo dell'estate coincide con la scomparsa di *C. intestinalis* sp A dal sito come conseguenza dell'aumento di temperatura dell'acqua da 22.67° C - 29.21° C (Fig.35; Tab. 4). La prima generazione individuata è quella che da maggio a luglio 2011 si accresce, ma non si riproduce estinguendosi in estate vivendo tre mesi. La popolazione ricompare a novembre e nonostante l'esiguo numero di individui, si accrescono e si riproducono incrementando il contingente di dicembre che si esaurisce a febbraio 2012 e anche la seconda generazione scompare. La terza generazione si accresce da marzo a giugno 2012 e si nota che il periodo riproduttivo dura fino a maggio con una graduale diminuzione dei reclutanti fino alla scomparsa di questo ultimo contingente. Complessivamente si distinguono tre generazioni con una durata della vita variabile da tre a quattro mesi.

Istogrammi di frequenza ponderale FdM

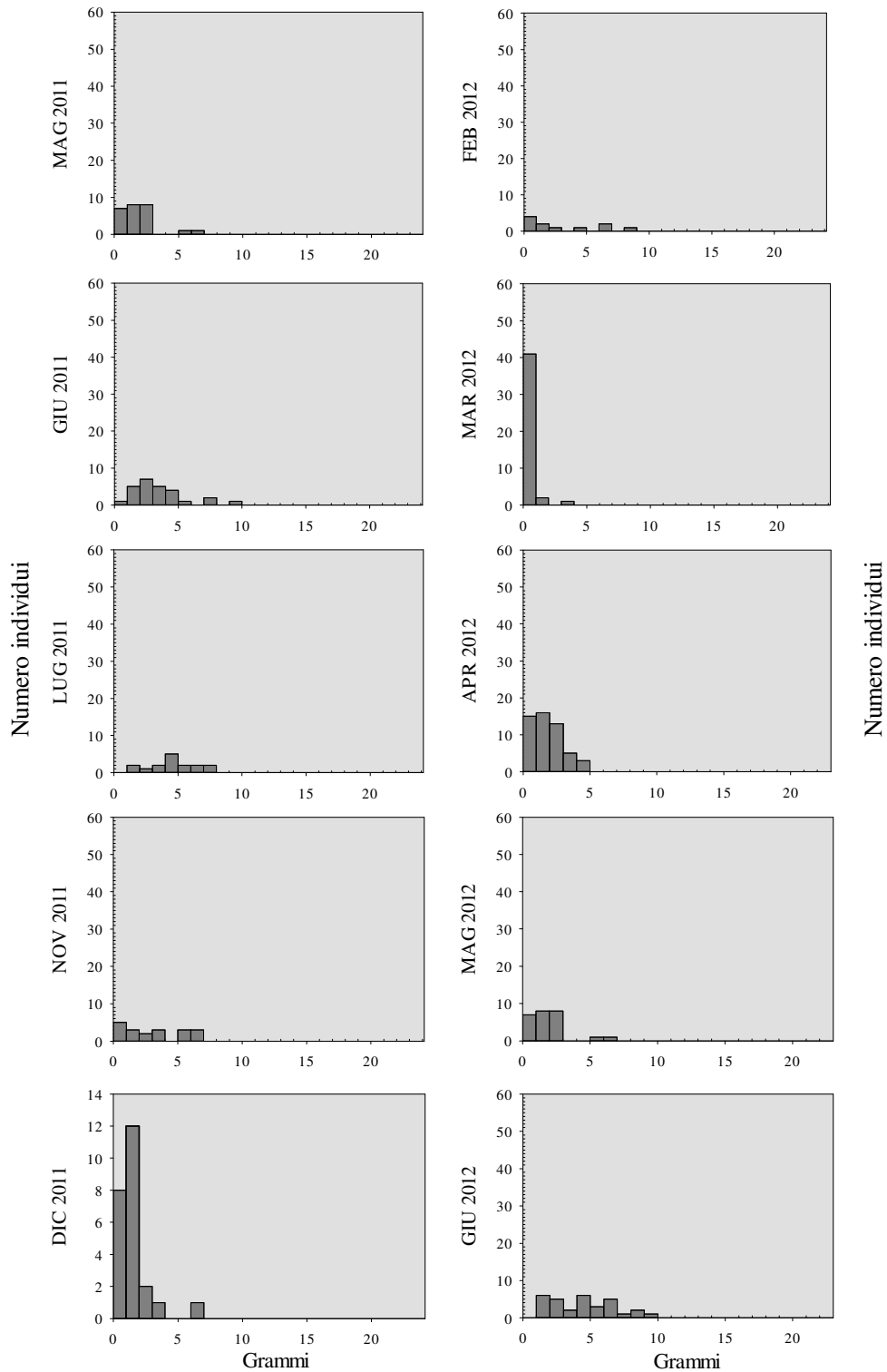


Fig. 35. Istogrammi delle frequenze ponderali in FdM.

4.7.3. Peschiera Romana (PR)

La popolazione che vive in questo punto forma i clusters meno addensati e con individui di taglia media più grande rispetto ai due siti precedenti (Fig. 33C). È stato possibile verificare in poche circostanze, con buona visibilità, che in questo sito *C. intestinalis* sp A vive fino a circa 6 m di profondità nei periodi di maggiore abbondanza e colonizza sia la parete che le pietre formanti la franata sottostante (Fig. 36A). sp. A Durante il periodo estivo le anemonie sono prevalenti e gli individui di *C. intestinalis* ancora residenti sono pochi, di grandi dimensioni e fra loro isolati (Fig. 36 B). La stazione situata presso la Peschiera Romana è l'unico punto dove si è avuta continuità temporale della popolazione residente, che pur diminuendo numericamente non è mai del tutto scomparsa (Fig. 33A e 37). Il primo gruppo generazionale presente nel periodo tardo primaverile-estivo è caratterizzato dalla presenza più o meno costante di individui (Fig. 37). Questa generazione si accresce rapidamente fino a giugno quando si sono registrati i pesi medi più alti di 8.02 grammi per individuo e il massimo mensile di biomassa di 208.47 grammi, in assoluto i valori più alti registrati (Fig. 33B; Tab. 9 e 10).

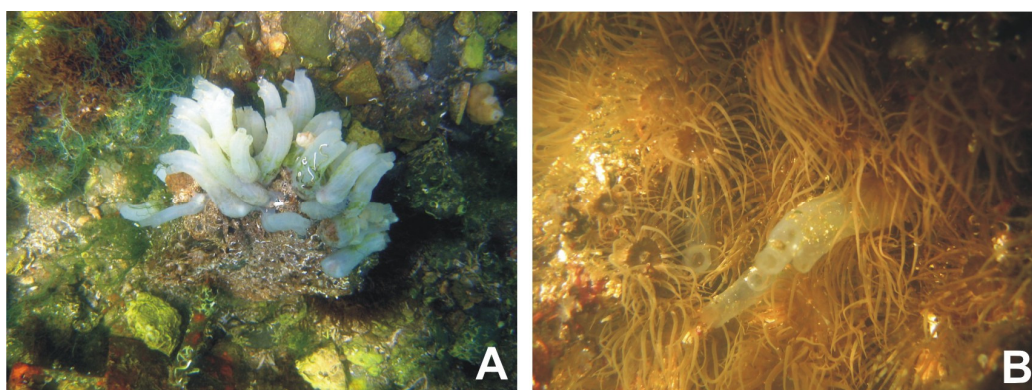


Fig. 36. A) Pietra isolata colonizzata a circa 6 m di profondità; B) Individui isolati di *C. intestinalis* sp A e copertura prevalente del substrato di anemonie durante il periodo estivo.

A luglio si assiste alla riduzione numerica degli individui che resistono alle alte temperature e sono compresi tra le classi ponderali di 3 - 9 grammi e mancano individui delle classi di grandezza inferiori a 3 grammi. Questo dato rispetto alle precedenti stazioni è in controtendenza perchè la maggior parte degli individui presenti sono tutti di grande taglia ponderale e non sono morti per le alte temperature. Da notare in questa stazione la presenza di uno sparuto gruppo di reclutanti ad agosto, evidenza che un

ultimo sforzo riproduttivo di luglio ha consentito ad un minimo contingente di insediarsi e crescere insieme con gli adulti della precedente generazione. Il minimo di presenze, in questo sito, si ha in settembre ed è rappresentato da pochi sopravvissuti del mese precedente. Questo campione rappresenta il minimo stagionale sia di biomassa sia di taglia ponderale media degli individui raccolti in questo sito (Fig. 33B - C e 37). Da settembre a ottobre non si hanno incrementi numerici degni di nota, ma gli esemplari si accrescono rapidamente fino ad ottobre (Fig. 33A e C). A novembre si ha un incremento autunnale di presenze inferiore rispetto alle precedenti stazioni, che in ogni caso evidenzia le apprezzabili differenze di biomassa e di taglia media che si hanno tra i siti di campionamento nel tempo (Fig. 33B). Tra dicembre 2011 e febbraio 2012 il numero di individui tende ad aumentare, ma anche in questo caso il periodo freddo blocca l'accrescimento che a marzo è più rapido grazie all'attenuarsi delle basse temperature. A marzo 2012 si ha una nuova generazione che si accresce fino al successivo maggio che è caratterizzato da un secondo picco di biomassa e a giugno si ha un'ultima generazione prima del crollo della popolazione come accade nelle altre stazioni. In questo punto di raccolta gli individui di *C. intestinalis* sp A sono quelli con le taglie ponderali medie sempre più alte e hanno dato il maggior contributo in termini di biomassa pur non essendo mai numerosi. Questa stazione si caratterizza per la mancanza di consistenti picchi di reclutamento riscontrati presso gli altri due punti di campionamento (Fig. 33A e 38). Nel complesso le generazioni individuate sono quattro e con un andamento dinamico differente dai precedenti. La prima generazione ribadisce quanto osservato in FdM con la prima generazione che da maggio a luglio 2011 si accresce, e ha una coda riproduttiva ad agosto con un piccolo gruppo di reclutanti che si accresce lentamente insieme con un contingente generazionale più grande fino ad ottobre 2011 (Fig. 37). A novembre sono ancora presenti due gruppi, uno di reclutanti e uno di individui della generazione precedente che persiste e nel frattempo si sono accresciuti. Con l'arrivo del periodo freddo il gruppo di individui più grandi scompare e la terza generazione si accresce fino a febbraio 2012. A marzo si nota che i reclutanti precedenti sono cresciuti e si sono riprodotti e la popolazione è suddivisa nuovamente in due gruppi generazionali. A maggio gli individui di taglia ponderale maggiore scompaiono e a giugno si ha un ultimo evento di reclutamento e la popolazione scompare come per le altre due stazioni. Le quattro generazioni individuate vivono tre mesi circa con un gap riproduttivo tra agosto e ottobre, mentre durante il periodo di

tempo seguente si succedono differenti ondate di reclutanti, non particolarmente numerose, che assicurano continuità alla popolazione finchè non si instaurano condizioni che non consentono di ribadire l'evoluzione estiva della popolazione dell'anno precedente.

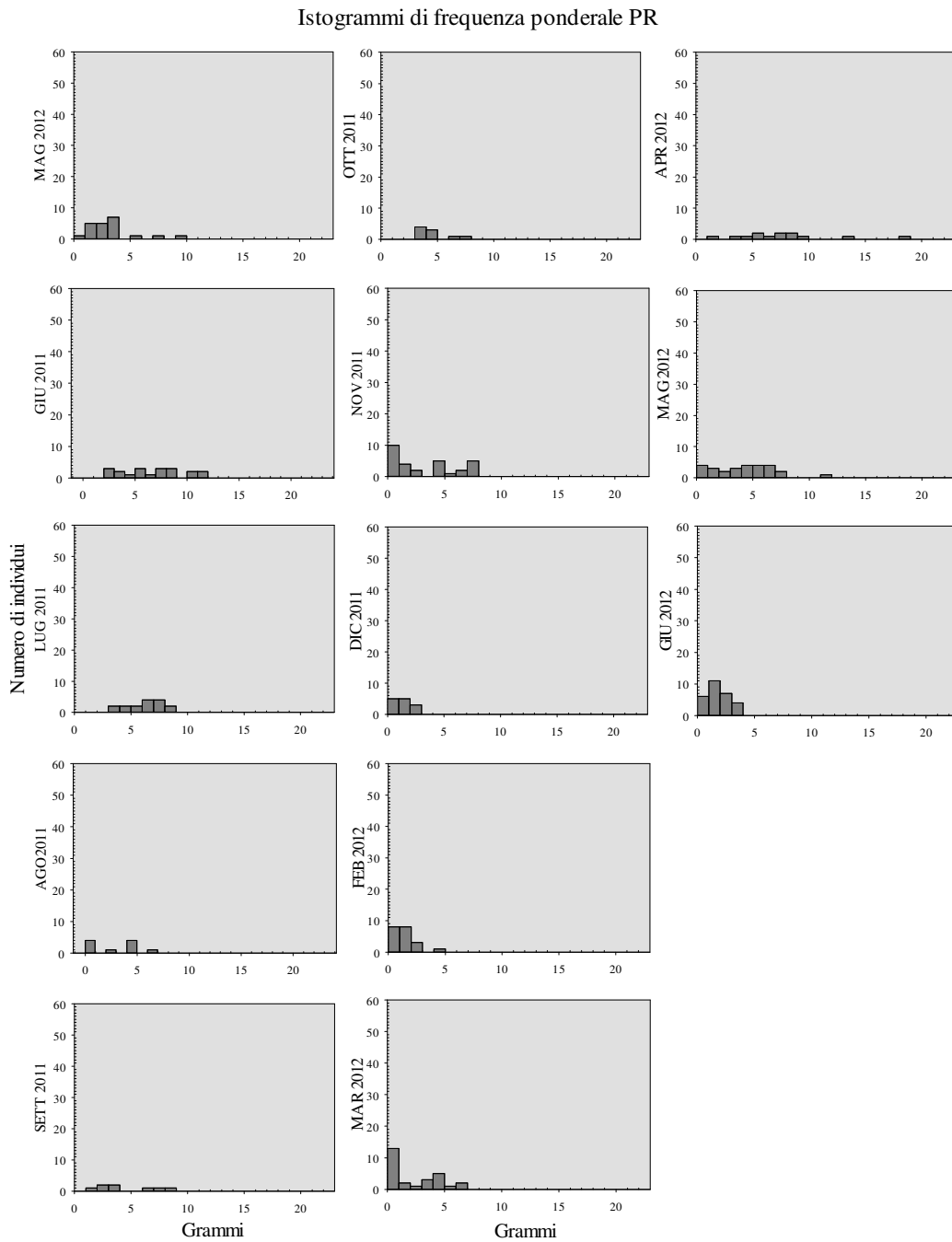


FIG. 37. Istogrammi di frequenza ponderale della stazione PR.

4.8. Biomassa

La stima della biomassa di *Ciona intestinalis* sp A è stata calcolata per tutti gli individui raccolti in ogni stazione, separando la tunica dalla parte somatica e sommando i valori delle due porzioni (Fig. 33A, Tab. 9). Non sono stati considerati i pesi in toto di ogni individuo campionato, perché il contenuto di acqua e liquido fissativo trattenuto fra la tunica e il soma è molto variabile e non corrispondente al reale peso sgocciolato dei singoli individui e pertanto non è stato considerato. Si sono ottenuti due dataset, il primo relativo ai pesi umidi e il secondo riguardante i pesi secchi per valutare l'effettiva sostanza organicata privando il tessuto primario del contenuto acquoso corrispondente in media a circa il 95% del peso totale di ogni individuo di *C. intestinalis* sp A (Tab. 10). Le stime del peso umido e secco seguono le differenze temporali fra le stazioni, in termini di massa globale prodotta e come variano i pesi medi degli individui raccolti per ogni stazione. La differenza è correlata alla differente modalità di evolvere nel tempo dei popolamenti studiati.

Data Campionamento	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011			
7 aprile 2011			
26 maggio 2011	53.56	46.91	77.21
22 giugno 2011		91.92	208.47
28 luglio 2011		74.96	51.34
18 agosto 2011			36.22
15 settembre 2011			36.63
12 ottobre 2011			42.81
8 novembre 2011	36.29	65.46	101.48
28 dicembre 2011	17.60	41.85	51.97
22 febbraio 2012	72.26	33.99	30.04
29 marzo 2012	40.77	23.02	64.41
30 aprile 2012	80.71	93.72	105.28
31 maggio 2012	100.84	40.60	105.22
28 giugno 2012	45.55	135.81	50.89
31 luglio 2012			
Media	55.95	64.82	73.99
Mediana	49.55	56.18	51.97
SD	26.98	34.71	48.44
Std err	9.54	10.98	13.43
Min	17.60	23.02	30.04
Max	100.84	135.81	208.47

Tab. 9. Biomassa umida prodotta per stazione (in grammi).

La misura ponderale di tunica e soma consente di verificare come il rapporto tra le due porzioni varia nel tempo e aiuta ad individuare i periodi stagionali di investimento somatico dell'organismo rispetto alla tunica che costituisce la massa inerte

dell'organismo e si possono distinguere i periodi di accrescimento somatico positivo o negativo. Le variazioni temporali di biomassa sono notevoli e rispecchiano come cambiano e si strutturano i trends di presenza e di frequenza ponderale delle tre stazioni. Un primo sguardo ai valori della biomassa (Fig. 33B) fa risaltare l'eterocronia di produttività riscontrata tra i punti di campionamento. Si osserva, inoltre, come a parità di condizioni stagionali la biomassa prodotta non uguaglia quella dell'anno precedente nonostante valori parametrici ambientali simili (Fig. 33B). I trends della biomassa e le differenze tra soma e tunica assumono, per il periodo considerato, scarti non trascurabili correlati all'influenza dei parametri ambientali.

Data Campionamento	Stazione CV	Stazione FdM	Stazione PR
10 marzo 2011			
7 aprile 2011			
26 maggio 2011	2.04	3.37	4.01
22 giugno 2011		6.03	11.26
28 luglio 2011		4.33	3.15
18 agosto 2011			2.68
15 settembre 2011			1.55
12 ottobre 2011			1.94
8 novembre 2011	3.19	5.44	6.19
28 dicembre 2011	1.62	3.16	3.22
22 febbraio 2012	4.99	4.14	2.88
29 marzo 2012	3.88	2.06	4.90
30 aprile 2012	6.03	8.09	6.23
31 maggio 2012	7.92	4.12	8.59
28 giugno 2012	3.83	3.83	4.14
31 luglio 2012			
Media	4.19	4.66	4.67
Mediana	3.85	4.12	4.01
SD	2.08	1.80	2.78
Std err	0.74	0.50	0.77
Min	1.62	2.06	1.55
Max	7.92	8.09	11.26

Tab. 10. Biomassa secca prodotta per stazione (in grammi).

4.8.1. Casina Vanvitelliana (CV)

Gli eventi che hanno condizionato questo punto di raccolta permettono di confrontare accuratamente gli andamenti della biomassa soltanto nel periodo successivo alla ripresa della popolazione dal novembre 2011 fino alla successiva crisi del giugno 2012 che segna la scomparsa dal punto della specie. La popolazione che viveva in questo punto è stata decimata dall'anossia del maggio 2011 durante un periodo favorevole sia di presenze che di biomassa (Fig. 33A - B e Tab. 9 - 10) e colpisce per la rapida ripresa,

non solo numerica, ma in termini di produzione di biomassa che da novembre a giugno 2012 è stata rapida, soprattutto nel periodo marzo - maggio 2012, per poi crollare a giugno in corrispondenza di alte temperature dell'acqua (Fig. 33A - B e Tab. 10). Da notare che il confronto tra i valori della biomassa del maggio 2011 e del maggio 2012 evidenziano che questo periodo stagionale favorisce la specie in corrispondenza di valori di temperatura e salinità simili, ma il paragone con gli altri parametri non è possibile essendo condizionato dai valori di torbidità e ossigenazione dell'evento di anossia. L'andamento globale evidenzia che il primo picco di reclutamento consistente avvenuto a dicembre (Fig. 34) alla ripresa della popolazione corrisponde a un valore di biomassa più basso rispetto agli altri due punti di campionamento, seguito da un minimo durante il periodo più freddo dell'anno a febbraio (Fig. 33A - B e Tab. 9 - 10). Il reclutamento di marzo 2012 con una nuova generazione e il successivo accrescersi degli individui confermano il trend positivo della biomassa che dura fino a maggio 2012. La curva cumulativa di frequenza di questa popolazione (Fig. 38) permette di notare come la taglia ponderale media degli individui di questa stazione rispecchia la prevalente presenza di individui di grandezza ponderale piccola.

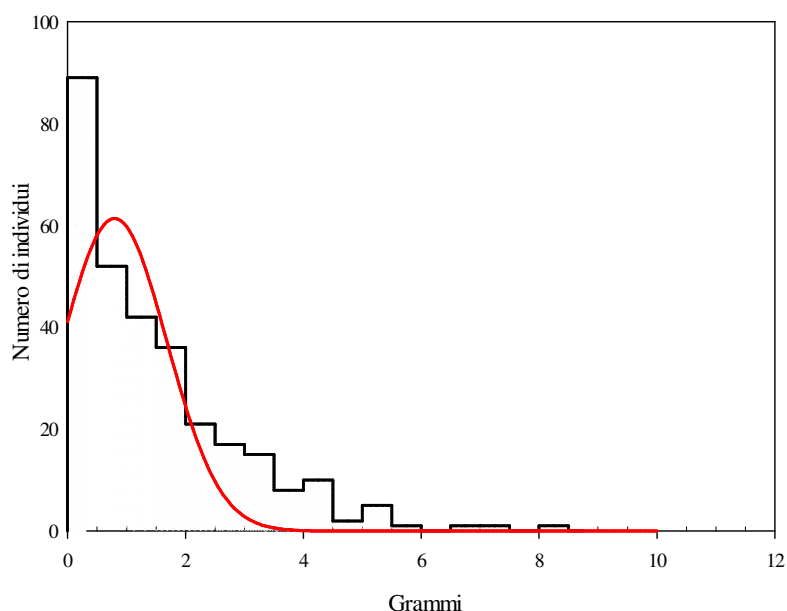


Fig. 38. Distribuzione delle classi di frequenza ponderale della stazione CV.

Le correlazioni tra peso umido e secco del soma in funzione della tunica dimostrano che tra le due porzioni c'è una discreta correlazione ($R^2 = 0.6799$ e $R^2 = 0.5494$) (Fig. 39A -

B), ma osservando l'asse di regressione riguardante la frazione secca si nota che è asimmetrico con una chiara influenza di un gruppo di punti a favore della tunica.

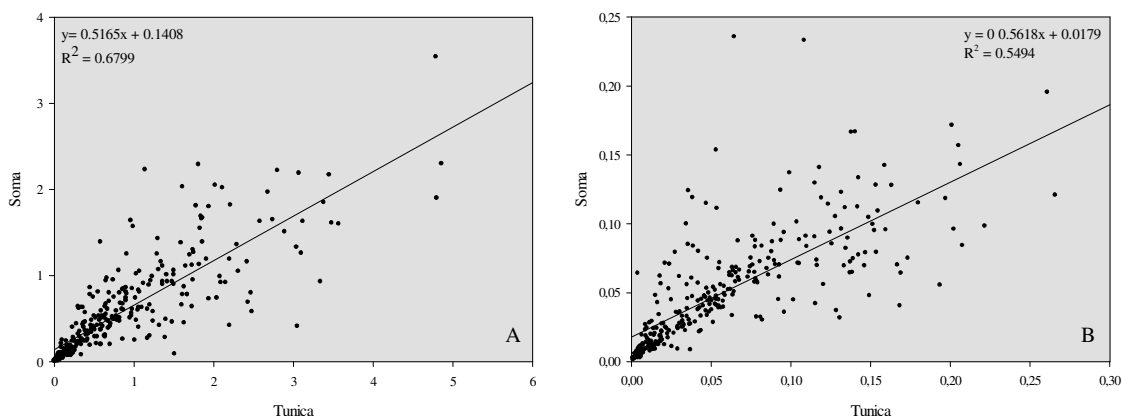


Fig. 39.A) Correlazione tra peso somatico/peso tunica umido; B) correlazione tra peso somatico/peso tunica secco.

4.8.2. Foce di Mezza Chiaja (FdM)

La popolazione di questo sito va considerata in due momenti stagionali differenti, riguardanti la dinamica numerica estiva e della produzione di biomassa per il periodo maggio-luglio 2011 e la seconda parte attinente il periodo novembre 2011 - giugno 2012 (Fig. 33A - B). La biomassa prodotta rispecchia l'andamento della dinamica di popolazione con un massimo stagionale a giugno 2011, quando la popolazione ha un picco numerico ed è strutturata con individui accresciutisi dal mese precedente (Fig. 33A - B e Tab. 9 - 10). Anche in questo punto il range stagionale dei parametri misurati è nel complesso favorevole alla specie che scompare il mese successivo. Il recupero della popolazione si ha anche qui a novembre 2011 con una prima generazione autunnale la cui biomassa coincide con i valori medi che caratterizzano il punto (Tab. 9 - 10). I due mesi successivi, quelli più freddi, determinano fino a febbraio 2012 un abbattimento dei valori di biomassa prodotta (Fig. 33B; Tab. 9 - 10). A marzo 2012 il valore della biomassa rappresenta quello più basso registrato per la stazione, ma in coincidenza del massimo picco di reclutamento primaverile della stazione, quando una seconda generazione inizia il suo accrescimento raggiungendo ad aprile un primo massimo di biomassa stagionale dopo la ripresa della popolazione (33A - B; Tab. 9 - 10). A maggio il numero di individui diminuisce e con esso il valore della biomassa che nel giugno

2012 raggiunge il valore più alto riscontrato e coincidente con l'accrescimento degli individui e la scomparsa della specie dal sito (33A - B e 35; Tab. 9 - 10). La distribuzione delle frequenze in questa stazione è sbilanciata su classi ponderali più grandi (Fig. 40), e le correlazioni del rapporto soma umido e secco rispetto alla tunica sono alte ($R^2 = 0.5278$ e $R^2 = 0.508$) e anche in questo caso sono sbilanciate a favore della tunica come si nota osservando l'asse di regressione della frazione secca (Fig. 41A-B).

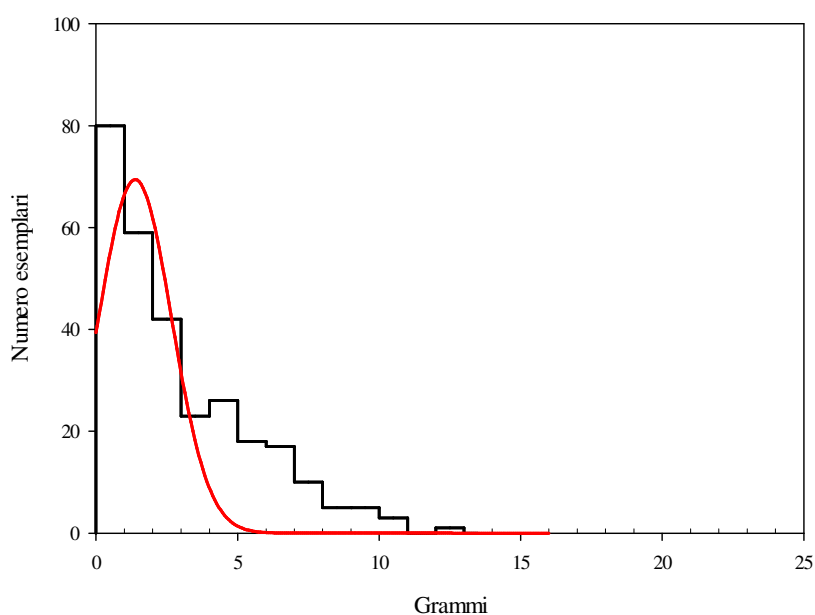


Fig. 40. Distribuzione delle classi di frequenza ponderale nella stazione FdM.

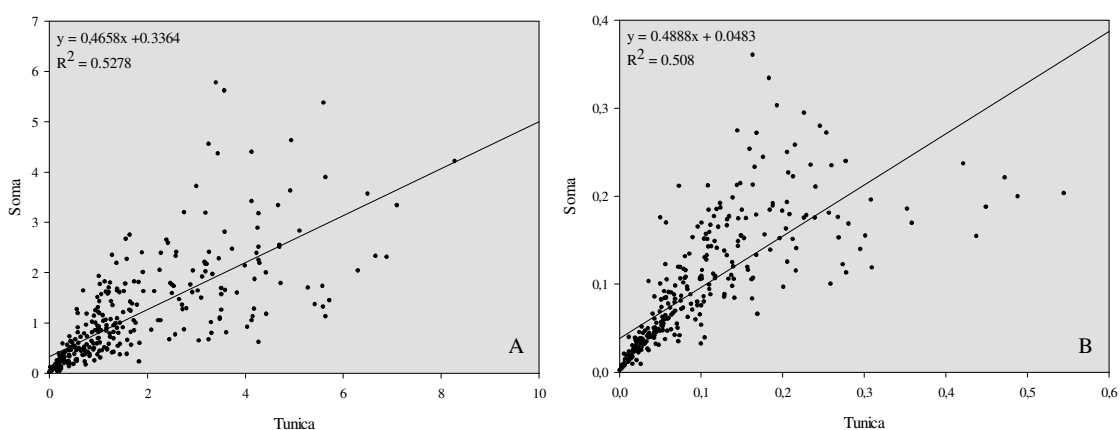


Fig. 41. A) Correlazione tra peso somatico/peso tunica umido; B) correlazione tra peso somatico/peso tunica secco.

4.8.3. Peschiera Romana (PR)

La continuità temporale di questa popolazione presenta l'opportunità di verificare cosa accade quando gli individui della specie non sono più presenti nelle altre due stazioni di campionamento. Il calcolo della biomassa del periodo estivo colpisce a luglio 2011, che rappresenta il massimo registrato in tutto il Lago Fusaro, insieme con la taglia ponderale media degli individui (Fig. 33B e Tab. 9 - 10). Dagli istogrammi di frequenza ponderale si nota come alcuni degli individui della popolazione dal maggio precedente si siano accresciuti, contribuendo quasi a triplicare il valore della biomassa e avendo un peso medio più che doppio rispetto a quelli del primo campionamento (Fig. 33B e 37; Tab. 9 - 10). Il valore massimo è seguito per tutto il periodo estivo da valori di biomassa che rispecchiano la progressiva diminuzione numerica degli individui raggiungendo i valori minimi stagionali di biomassa ad agosto e settembre (Fig. 33A - B e Tab. 9 - 10). Tra settembre e ottobre il numero di esemplari si mantiene stabile, ma l'incremento ponderale di biomassa locale è apprezzabile (Fig. 33A e Tab. 9 - 10). A novembre 2011 si ha una situazione molto diversa dalle precedenti stazioni, perché gli individui residenti che hanno resistito alla stagione estiva si sono accresciuti e sommano la loro biomassa ai reclutanti della nuova generazione autunnale così che si individua un primo picco di biomassa seguito da una diminuzione che corrisponde alla scomparsa degli individui delle classi ponderali più grandi durante il periodo freddo da dicembre 2011 a febbraio 2012 (Fig. 33A - B; Tab. 9 - 10). A marzo 2012 si individua un nuovo aumento di biomassa in corrispondenza di una nuova ondata di reclutanti della stagione primaverile che raggiunge valori massimi tra aprile e maggio (Fig. 33B e 37). Da notare che i valori registrati in quest'ultimo bimestre non rappresentano una continuità della popolazione. Infatti, nel mese di aprile si nota una diminuzione numerica degli individui che si accrescono strutturandosi in varie classi di taglia ponderale piuttosto grandi (Fig. 37), mentre le presenze di maggio fanno registrare un risibile nuovo contingente di reclutanti dell'ultima generazione che si insedia in questo sito prima della definitiva scomparsa a giugno 2012. La popolazione di questa stazione aiuta a evidenziare che pur ristabilendosi condizioni di vita idonee al taxon anche qui a parità di condizioni ambientali stagionali i valori della biomassa non uguagliano quelli dell'anno precedente (Fig. 33B e Tab. 9 - 10). La distribuzione cumulativa delle taglie ponderali in questo

sito è diversa dai due precedenti siti e si nota una maggiore variabilità delle classi ponderali. Inoltre, le correlazioni ponderali tra soma umido e soma secco rispetto alle corrispondenti frazioni di tunica sono particolarmente alte per questo sito ($R^2 = 0.6268$ e $R^2 = 0.7215$) e non si ha sbilanciamento dei punti a favore di una delle due frazioni.

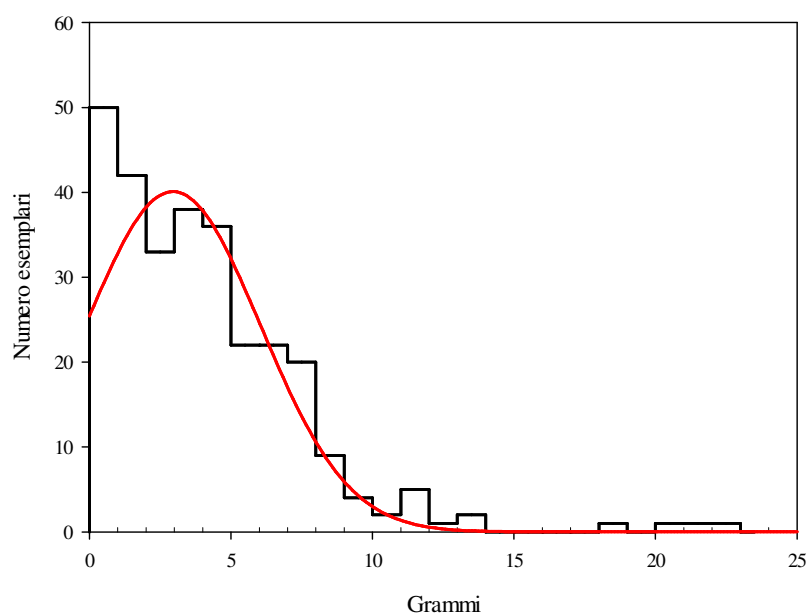


Fig 42. Distribuzione delle classi ponderali di frequenza nella stazione PR.

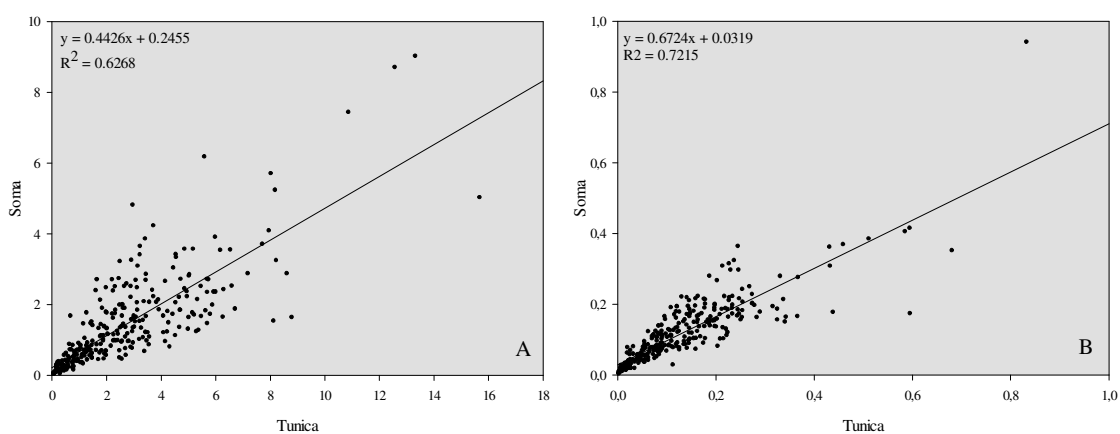


Fig 43. A) Correlazione tra peso somatico/peso tunica umido; B) correlazione tra peso somatico/peso tunica secco.

4.9. Condition Index (CI)

Per seguire gli andamenti eterocroni delle tre popolazioni della specie si è calcolato il Condition Index (CI) utilizzato da Carver et al. (2003) per *C. intestinalis* sp B. Questo indice si ottiene dal rapporto peso secco somatico/peso secco totale di ogni individuo per confrontare l'accrescimento netto del soma rispetto alla tunica relazionando la percentuale somatica ai parametri ambientali e alla dinamica di popolazione. Si è notato che con questo indice corporeo quando i valori somatici si approssimano al 40% rappresentano un segnale di sofferenza o di fase pre-letale della specie, quando la porzione somatica raggiunge e supera valori corrispondenti al 50% in poi l'organismo è prossimo o pronto alla deposizione e si trova in condizioni ambientali favorevoli (Fig. 44A - C). Questo rapporto è asincrono tra le stazioni e rimarca ulteriormente la differenza tra i punti campionati e soprattutto evidenzia la variabilità stagionale della sostanza organica localmente da *C. intestinalis* sp A.

Il profilo ottenuto del CI degli esemplari raccolti alla Casina Vanvitelliana (Fig. 44A) è stato valutato dal novembre 2011 al giugno 2012. Dal primo campione in poi si nota una tendenza alla diminuzione di peso che va correlata alla piccola taglia media degli individui che sono prevalentemente di ridotte dimensioni e spesso reclutanti in accrescimento come si nota nella curva cumulativa di frequenza ponderale (Fig. 38). A novembre, in coincidenza del picco di presenze con temperature e ossigenazione dell'acqua favorevoli si registra il valore massimo per questo sito corrispondente in media al 67% quando la popolazione è costituita da giovani in accrescimento (Fig. 44A). A dicembre 2011, in coincidenza del picco di presenza l'abbassamento del valore percentuale è determinato dalla prevalente presenza di giovani che in seguito alle temperature basse del periodo si riducono numericamente e perdono peso somatico e la maggior parte di essi scompaiono. La tendenza a perdere peso somatico continua da marzo fino a maggio, anche se più lentamente, nonostante le temperature siano favorevoli per poi raggiungere il valore minimo del 28% a giugno in coincidenza dell'evento di mortalità riscontrato e il 50% degli individui *in situ* era già morto.

Presso la Foce di Mezza Chiaja si può seguire cosa accade alla generazione che si estingue nel primo periodo estivo di studio (Fig. 44B). Da maggio 2011 al mese successivo gli individui si accrescono e successivamente subiscono l'influenza negativa delle alte temperature scomparendo a luglio quando il valore del CI coincide con la

soglia critica del 40% di peso secco somatico. A novembre il valore del CI somatico, quando la specie ricompare, è di poco più basso di quello registrato alla Casina Vanvitelliana e rappresenta anche in questo caso il massimo valore rilevato (Fig. 44B). La tendenza successiva è simile a quella precedentemente descritta fino a febbraio 2012. A marzo gli individui fanno rilevare un valore di poco inferiore al 40% e sono prevalentemente nuovi individui che hanno rimpiazzato quelli morti durante i due mesi precedenti insieme con i reclutanti. Ad aprile si assiste ad una rapida ripresa delle percentuali somatiche e la popolazione è costituita da individui che nel frattempo si sono accresciuti. Da maggio si osserva il brusco abbassamento che tende a raggiungere valori prossimi al 40% e la stroncatura dell'ultima generazione a giugno.

Il profilo della Peschiera Romana si caratterizza per una tendenza generale differente dai due precedenti siti di campionamento (Fig. 44C). Dal maggio al luglio 2011 la popolazione risente delle alte temperature perdendo peso somatico, e i valori non diminuiscono al di sotto del 40%. Da agosto si ha un lento e costante aumento di peso, nonostante il numero di individui diminuisca fino a settembre, e raggiunge progressivamente il suo picco a novembre come accade per CV e FdM e il valore del CI a PR è del 60% (Fig. 44C). Nei mesi successivi, fino a marzo 2012, la situazione è più o meno stabile e i valori somatici del CI sono mediamente attestati intorno al 50%. Da aprile il valore del CI diminuisce, confermando il trend negativo per i tre siti (Fig. 44C).

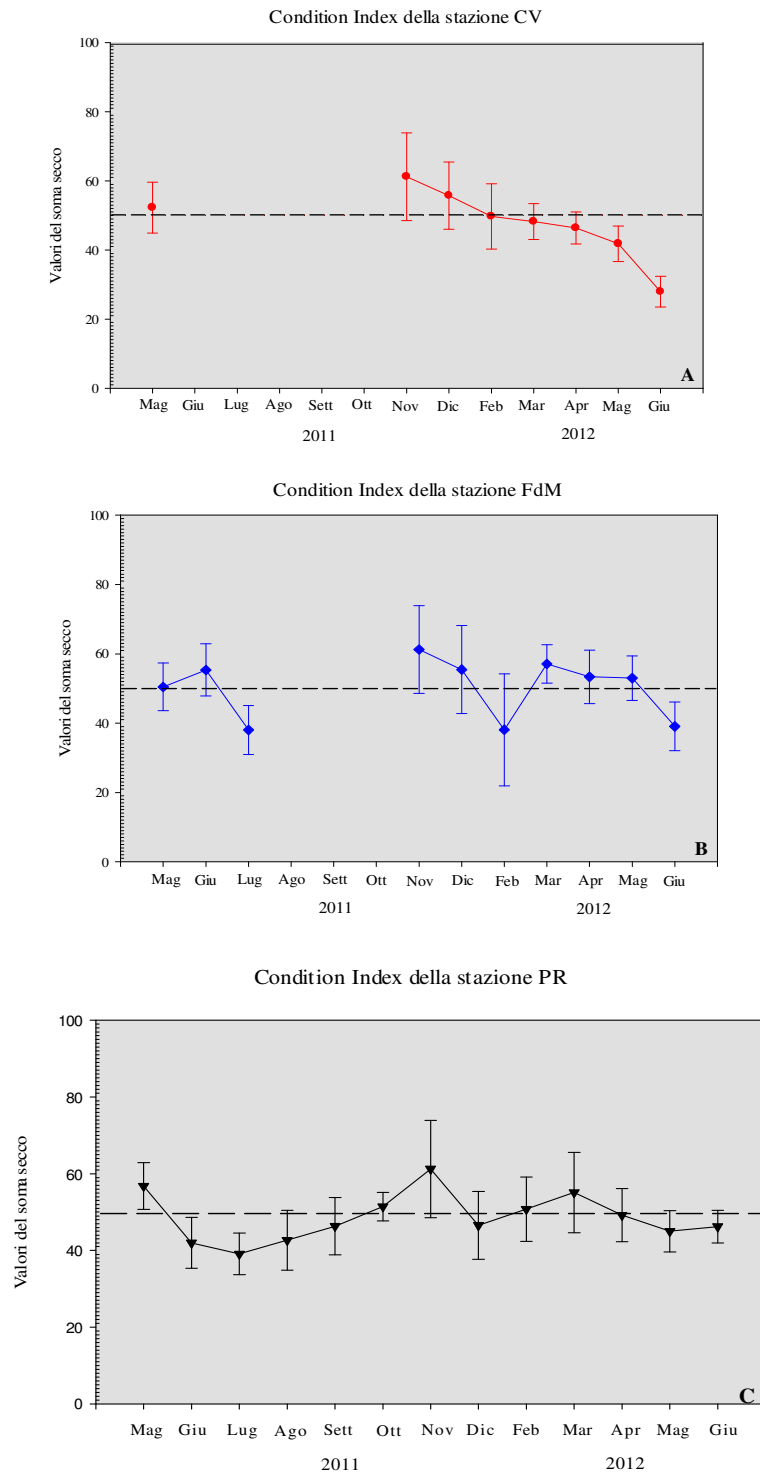


Fig. 44. A - C. Condition Index delle tre stazioni di campionamento

4.9.1. Stadi di maturazione degli ovari

L'ovario di *C. intestinalis* sp A ha, nel suo aspetto tipico, una morfologia reniforme ma può assumere forme diverse da quella tipica. Si trova attaccato all'ansa intestinale, sul lato sinistro dello stomaco, restringendosi nel punto in cui comunica con l'ovidotto (Fig. 45). Negli individui immaturi ha l'aspetto di un semplice sacchetto e mano a mano che

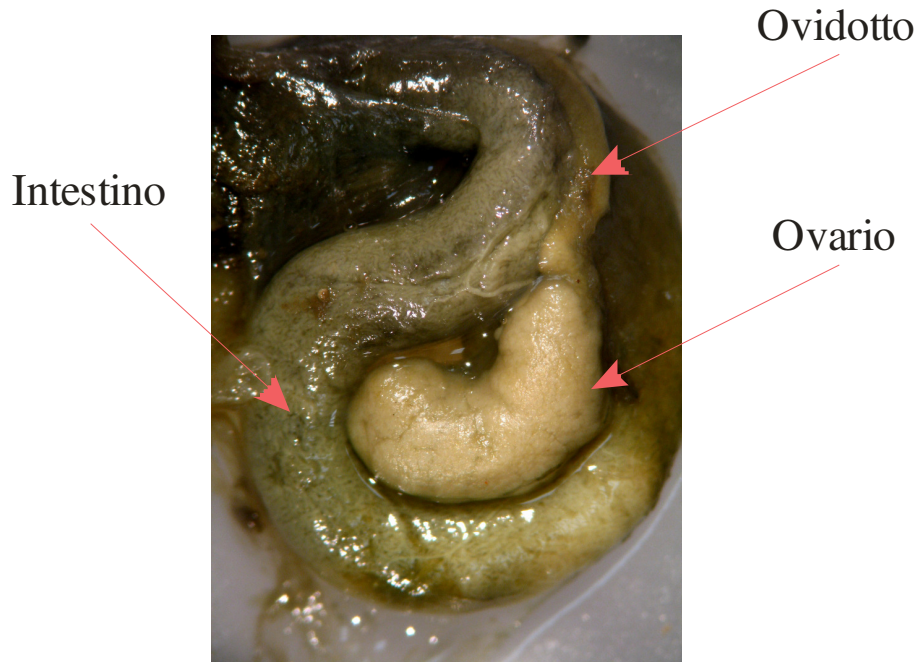


Fig. 45. Morfologia di un ovario maturo e sua posizione.

si raggiunge la maturità la parete dell'ovario si ripiega a formare i follicoli germinativi dove si osservano gli oociti immaturi dai quali si formano gli oociti pre-vitellogeni e vitellogeni e infine le uova mature che vengono collocate all'interno di lacune comunicanti con l'ovidotto (Millar, 1953) (Fig. 46, 47C e 47bis). La capacità riproduttiva di *C. intestinalis* sp B è indipendente dall'età e varia tra differenti popolazioni e si stima che gli individui delle popolazioni scandinave viventi lungo la costa atlantica del Nord America maturino sessualmente quando raggiungono la taglia di 50-80 mm producendo gameti fino a quando i valori della temperatura coincidono con il range della fase riproduttiva della regione sub artica (Carver *et al.*, 2006). Le osservazioni effettuate sugli ovari di *C. intestinalis* sp A nel Lago Fusaro indicano, invece che la maturità sessuale viene raggiunta rapidamente e sono stati raccolti esemplari di 30 - 35 mm che in condizioni ambientali coincidenti con il periodo riproduttivo avevano ovari maturi.

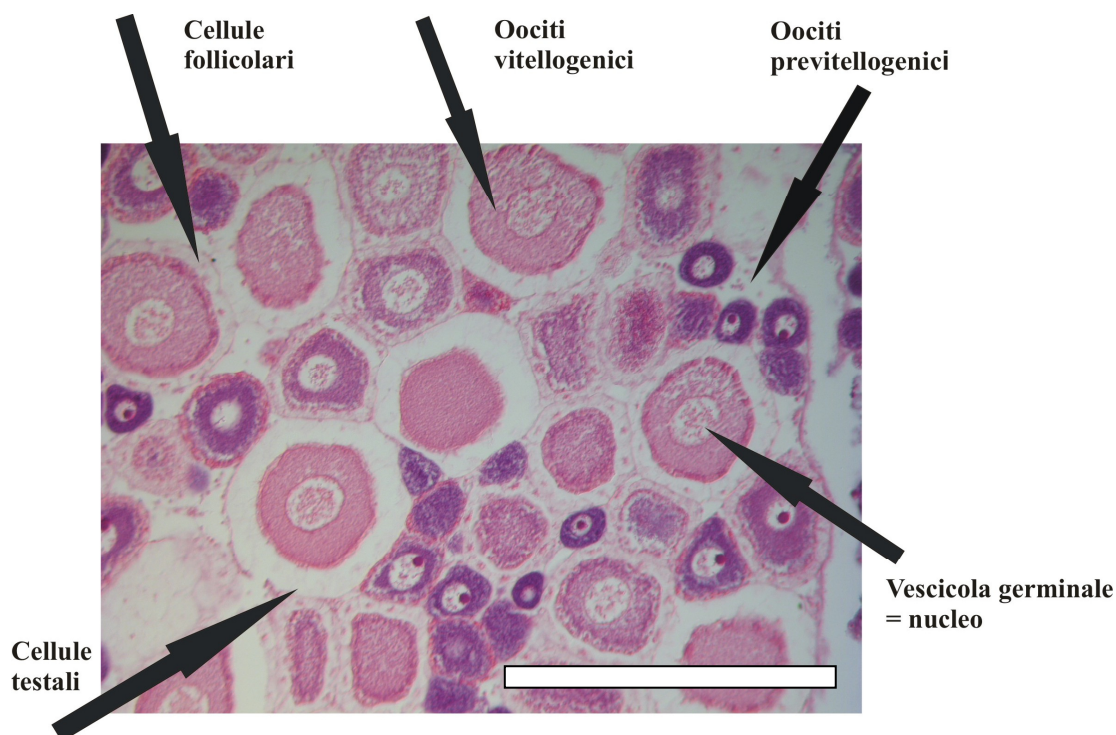


Fig. 46. Stadi di maturazione degli oociti. Scale bar 200 μ m.

Si sono stimati gli stadi di maturazione ovarica rispetto al tempo e ai parametri ambientali, in particolare la temperatura, confrontando i risultati ottenuti con quelli di una popolazione del porto vecchio di Marsiglia (Francia meridionale, costa mediterranea; Pérès, 1952), della Laguna di Venezia (Sabbadin, 1958), dal Mar Piccolo di Taranto (Scalera Liaci *et al.*, 1977) e da Yang e Lee (1978) dalla Corea del Sud. In tutti i casi citati la temperatura è stata genericamente riportata come alta o bassa rispetto alle stagioni senza fornire ulteriori dettagli per confrontare i dati ambientali esclusi i riscontri per il Mar Piccolo di Taranto. Gli individui per lo studio degli ovari sono stati raccolti in modalità random vicino ai singoli punti di campionamento, seguendo il metodo di Becerro e Turon (1992). Di ogni ovario sono state osservate le sezioni sagittali lungo l'asse maggiore che sono state misurate per osservare le variazioni di grandezza (Fig. 48). Lo stato riproduttivo di ogni ovario è stato seguito osservando lo sviluppo degli oociti e delle uova e la loro risposta alla colorazione con l'ematossilina – eosina che nei primi stadi di sviluppo appare prevalentemente viola, mentre mano a mano che gli oociti e le uova maturano assume un colore rosaceo. Gli ovari sono stati suddivisi, rispetto al loro stato, in quattro categorie di ranking: I) in proliferazione; II) maturi; III) a riposo; IV) in degenerazione e sono rappresentati come distribuzioni

percentuali per ogni campione analizzato (Fig. 49A - C). La prima valutazione effettuata è stata quella di confrontare le fasi dello stato riproduttivo con le misure degli ovari delle singole stazioni nel tempo (Fig. 48 e 49).

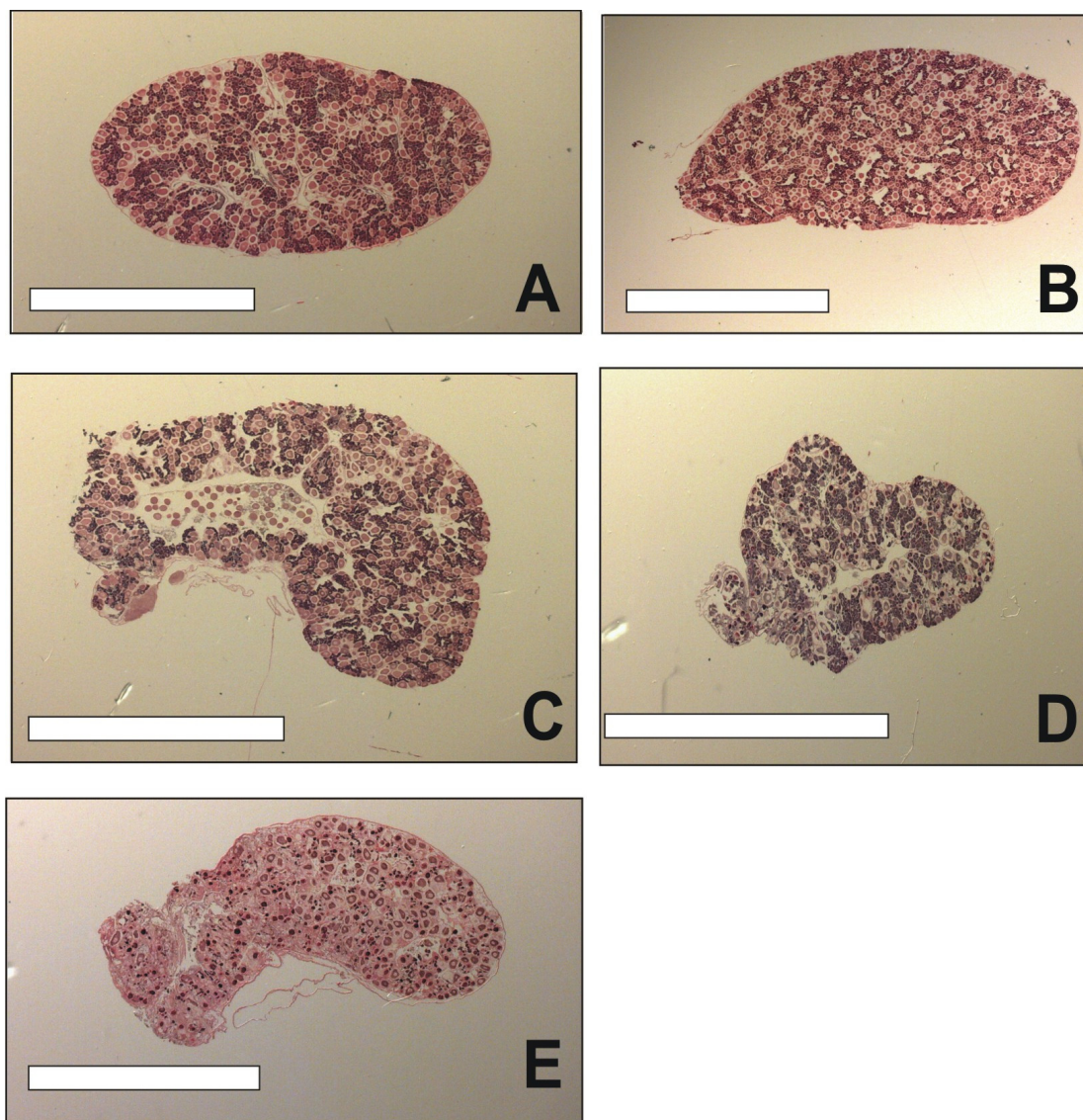


Fig. 47. A) Ovario in proliferazione con oociti in varie fasi di sviluppo (scale bar 5 mm); B) Ovario maturo (scale bar 5 mm); C) Ovario maturo in fase di deposizione con lacuna piena di uova (scale bar 4 mm); D) Ovario in fase di pausa (scale bar 3 mm); E) Ovario in degenerazione (scale bar 3 mm).

I risultati anche in questo caso evidenziano la variabilità tra le stazioni e che, il range di grandezza degli ovari funzionali varia mediamente tra 3 - 7 mm di lunghezza e segue l'andamento della distribuzione delle taglie ponderali individuate per la dinamica di popolazione. Gli ovari raccolti in CV sono mediamente più piccoli (Fig. 49), confermando che in questa stazione si ha una prevalenza di individui con una taglia ponderale media piccola (1.7 g), ma che raggiungono rapidamente la maturità sessuale.

I reclutanti di novembre 2011 sono in piena fase riproduttiva grazie alle condizioni mesologiche favorevoli del Lago Fusaro. Il mese successivo si osserva che gli esemplari della classe ponderale compresa tra 4 - 5 g sono in pausa, mentre i reclutanti sono in piena attività poliferativa (Fig. 49A).

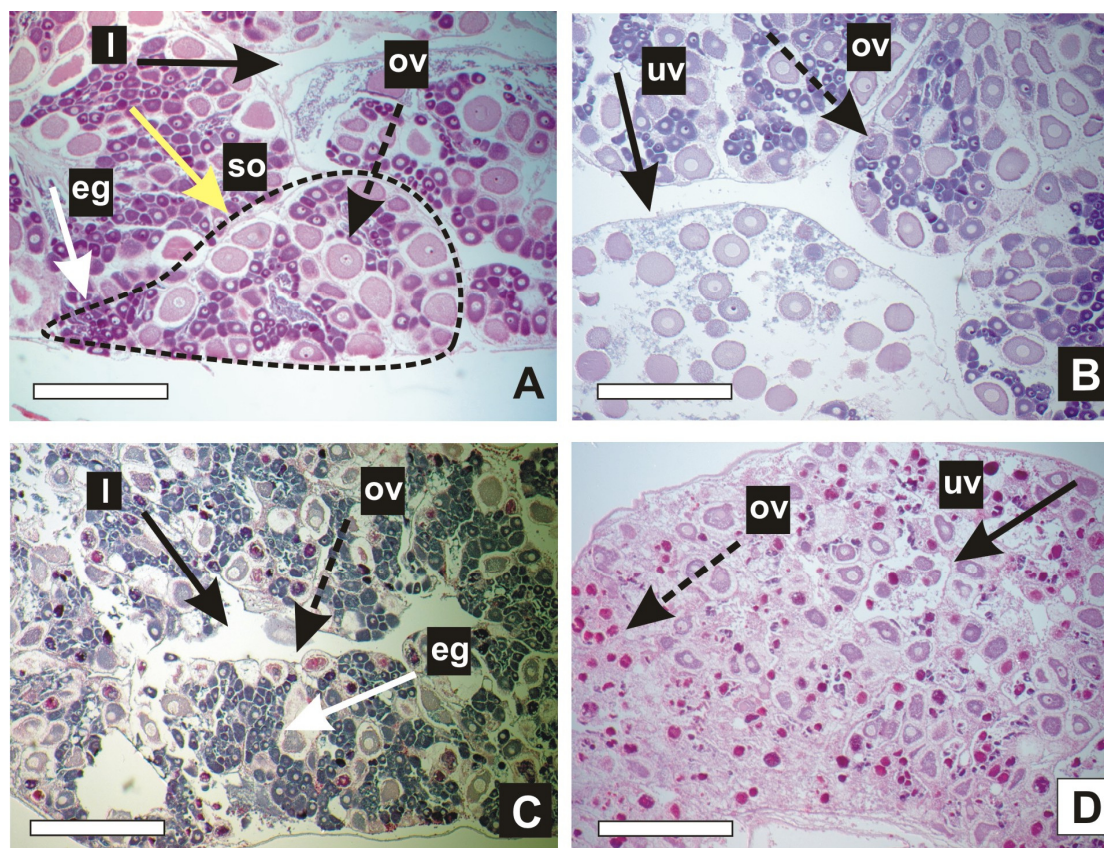


Fig. 47bis. A) Ovario in proliferazione (Mag. 2012) e oociti in vario stadio di maturazione in uno dei sacchi ovarici della gonade (so, freccia gialla). Epitelio germinativo con oociti pre-vitellogenici (eg, freccia bianca) e oociti vitellogenici (ov, freccia nera tratteggiata) e lacuna vuota (l, freccia nera); B) Dettaglio di una sezione di ovario in fase di deposizione (Feb. 2012). Si nota, nei sacchi ovarici, la prevalenza di oociti vitellogenici (ov, freccia nera tratteggiata) e uova pronte per la deposizione alloggiata in una lacuna (uv, freccia nera); C) Aspetto dell'ovario in fase di riposo estivo (Giu. 2012). Si notano le lacune prive di uova (l, freccia nera), la prevalenza di oociti pre-vitellogenici (eg, freccia bianca) e oociti in incipiente fase di degenerazione (ov, freccia nera tratteggiata); D) Stadio di degenerazione ovarica estiva (Giu. 2012). È evidente l'assenza di epitelio germinativo, mentre gli oociti vitellogenici (ov, freccia nera tratteggiata) e le uova (uv, freccia nera) sono in progressivo regresso. Scale bar 500 µm.

Da febbraio ad aprile 2012 la specie è in piena attività riproduttiva e gli ovarii variano in media tra 4.7 - 4.9 mm di lunghezza per poi diminuire a maggio, fino a quando il deteriorarsi delle condizioni ambientali implica la fine della stagione riproduttiva segnalata dalla degenerazione degli ovarii che coincidono con le cattive condizioni di vita degli individui che a giugno scompaiono (Fig. 49A). La stazione FdM permette di osservare che durante il periodo estivo del 2011 la popolazione tra giugno e luglio

blocca l'attività riproduttiva e gli ovari subiscono una riduzione dimensionale evidente che prelude alla scomparsa stagionale dal punto (Fig. Fig. 48 e 49B). A novembre il ripristino di condizioni ambientali favorevoli avvia la ripresa riproduttiva, che si continua da marzo a giugno 2012 seguendo un pattern molto simile a quello della stazione CV e le differenze dimensionali sono dovute alla presenza di reclutanti già maturi. A giugno si ha una prevalenza di individui che bloccano l'attività riproduttiva o di proliferazione degli ovari prima di scomparire anch'essi (Fig. 49B).

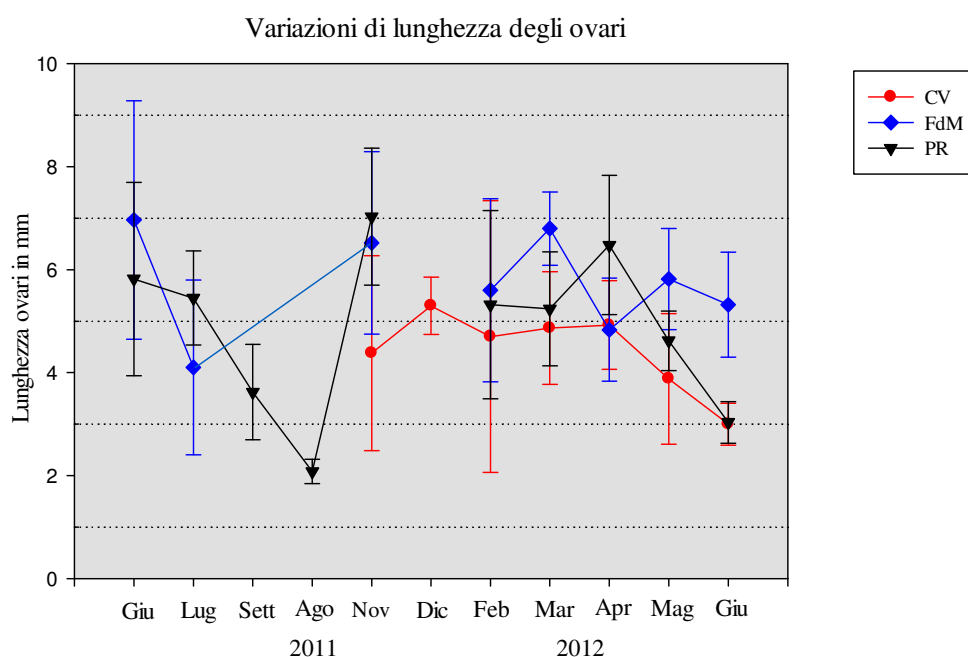


Fig. 48. Andamento delle variazioni di grandezza degli ovari nei tre siti di campionamento.

La stazione PR permette di seguire un pattern più lungo di osservazioni per la continuità di campionamento rispetto alle precedenti stazioni. Nel periodo giugno - luglio 2011 gli individui residenti sono ancora in grado di riprodursi nonostante le condizioni estive (Fig. 49C). La riproduzione ad agosto comincia a bloccarsi, con gli ovari che raggiungono la dimensione minima riscontrata, e l'esiguo numero di individui più piccoli ha gli ovari in fase proliferativa. A settembre anche lo stato ovarico rispecchia la presenza di due contingenti di individui di classi ponderali differenti che resistono alla situazione estiva (Fig. 49C). Gli individui compresi nelle classi di 1 - 4 g hanno gli ovari sviluppati e in pausa, mentre gli individui compresi nelle classi ponderali di 6 - 9 g hanno gli ovari in degenerazione e muoiono scomparendo dalla popolazione (Fig. 37). A novembre il sito si ripopola e si riscontra ancora la presenza di due contingenti di

differenti grandezze ponderale che contribuiscono al reclutamento successivo (Fig. 37), che non uguaglia quello delle altre due stazioni pur avendo gli ovari in piena attività riproduttiva (Fig. 33A e 49C). Anche nella stazione PR il periodo febbraio-aprile 2012 segue l'andamento stagionale delle altre stazioni, ma anticipa il periodo di pausa degli

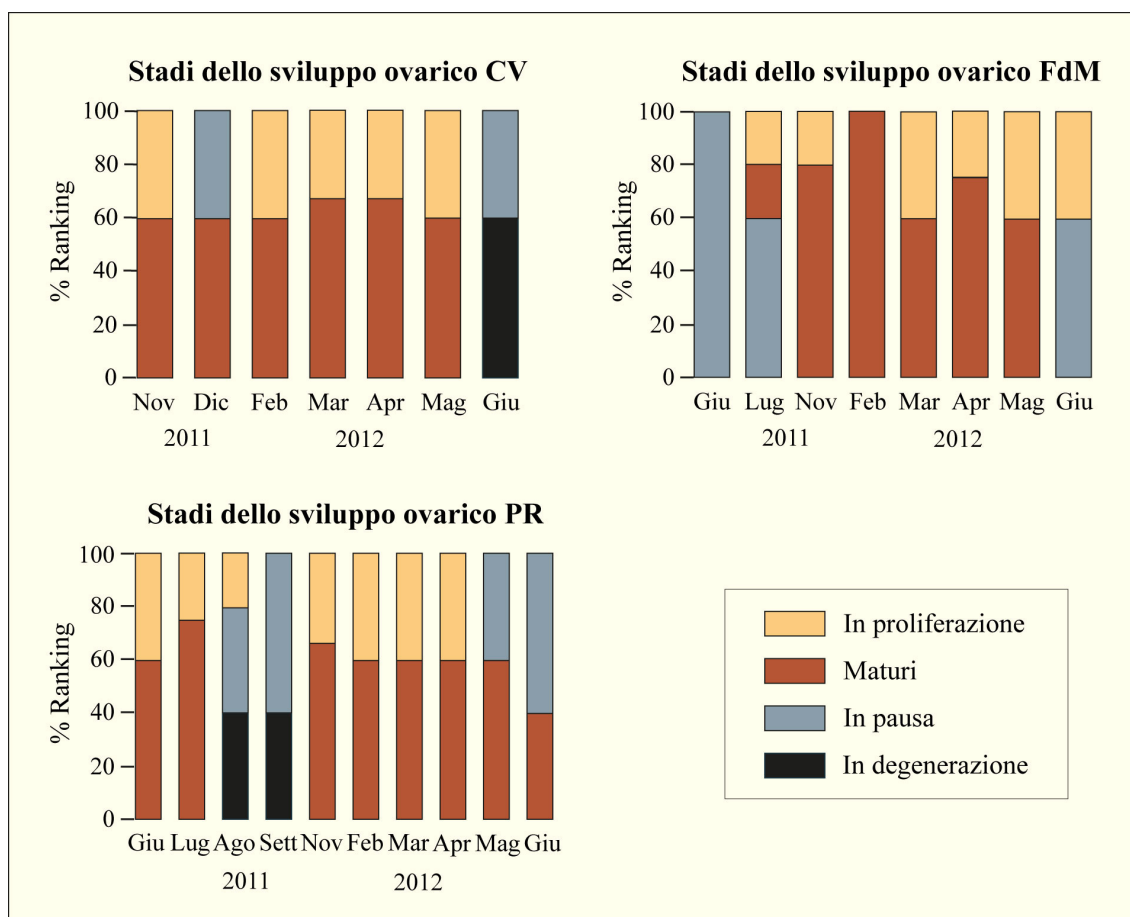


Fig. 49. Variazioni stagionali degli stadi di sviluppo degli ovari nelle tre stazioni.

ovari a maggio rispetto alle altre due stazioni evidenziando che ad aprile la mancanza di individui più giovani e la presenza di individui ponderalmente più grandi incide sulla capacità riproduttiva e che l'ultima ondata di reclutanti di maggio 2012 non resiste alle condizioni estive come accaduto l'anno precedente (Fig 37 e 49C).

Le osservazioni sugli ovari confermano quanto riscontrato da Pérès (1952) per Marsiglia che tra novembre e dicembre *C. intestinalis* sp A blocca l'attività riproduttiva durante i periodi freddi dell'anno e che gli individui di taglie differenti reagiscono in modo diverso ai cambiamenti di temperatura (Marin *et al.*, 1987).

I dati raccolti al Lago Fusaro sugli stadi di maturazione degli ovari sono molto simili a quelli riportati per la Laguna di Venezia da Sabbadin (1958) e da Scalera Liaci *et al.* (1977) per il Mar Piccolo di Taranto. La stazione che maggiormente aiuta a seguire questi andamenti è quella PR dove si può notare che gli esemplari delle generazioni primaverili a luglio hanno esaurito il ciclo riproduttivo e c'è una coda riproduttiva che si esaurisce ad agosto con un primo minimo a settembre e un picco a novembre seguito dalla pausa invernale di dicembre come indicato da Pérès (1952), quando si notano evidenze di pausa o involuzione delle gonadi che dipendono dalla taglia degli individui presenti (Fig. 39; 47C - D e 49C). La differente distribuzione di taglie ponderali della stazione PR nel periodo estivo 2011 ha riscontro a proposito della differente sensibilità termo-alina degli individui di *C. intestinalis* sp A che Marin *et al.* (1987) hanno individuato sperimentalmente (Fig. 39).

CAPITOLO V

5.1. Discussione

Lo studio della dinamica di popolazione di *C. intestinalis* sp A, sviluppato per questo progetto, negli anni 2011 - 2012 presso il Lago Fusaro, corredato dalle misurazioni dei parametri ambientali fornisce interessanti indicazioni su come le variabili esogene influenzano le popolazioni studiate in uno specchio d'acqua chiuso, eutrofico e disturbato da attività antropiche. Un unico ciclo di osservazioni non è conclusivo, ma può rappresentare l'inizio di una serie di indagini da cui trarre spunti interdisciplinari per implementare le notizie già esistenti di altri approfondimenti. La ricerca è stata sviluppata dopo la crisi demografica che ha coinvolto la specie studiata nel biennio 2009 - 2010 (Caputi et al., in preparazione) e costituisce un primo set di informazioni sul ciclo vitale di *C. intestinalis* sp A vivente nel Lago Fusaro osservando popolazioni naturali. Il ciclo biologico di *C. intestinalis* è influenzato da fattori ambientali esogeni, temperatura, salinità, ossigenazione dell'acqua e torbidità, e i parametri fondamentali sono la temperatura e la salinità (Dybern, 1965; 1967; Gulliksen, 1972; Marin *et al.*, 1987; Bates, 2005; Lambert, 2005; Carver *et al.*, 2006), ma l'influenza dell'ossigenazione e della torbidità non sono trascurabili. I risultati sono stati confrontati con i dati esistenti riguardanti la specie vivente nell'area mediterranea, per inquadrare la tipologia di trends temporali generali del taxon rispetto alla variabilità dei fattori ambientali e quali differenze esistono tra le diverse località studiate, tutte di ambiente lagunare o portuale. Le informazioni raccolte per la dinamica di popolazione, il ciclo riproduttivo e l'influenza dei fattori ambientali sono esigue e non sempre corredate con i dati ambientali (Pèrès, 1952; Sabbadin, 1958; Relini, 1964; Brunetti e Menin, 1977; Scalera Liaci *et al.*, 1977; Marin *et al.*, 1987).

5.2. Tolleranza termo-alina

Il primo confronto dei dati sperimentali disponibili concerne il range di tolleranza termo-alina di *C. intestinalis* sp A individuato da Marin *et al.* (1987) utilizzando organismi riprodotti in vitro provenienti dalla Laguna di Venezia. Questi autori hanno studiato gli effetti delle combinazioni di temperatura e salinità individuando degli

ottima di tolleranza e la loro influenza sui giovani bentonici post-metamorfici e gli adulti. Marin *et al.* (1987) hanno notato che per gli esemplari bentonici post-metamorfici il range di temperatura compreso tra 10° - 20°C corrisponde a minimi di mortalità se associati a valori di salinità variabili tra il 29‰ - 37‰ (Tab. 11). Ciò concorda con quanto osservato nella Laguna di Venezia anche da Sabbadin (1958), quando l'autore ha constatato che a 10°C gli adulti diventano poco reattivi e muoiono a temperature inferiori, mentre i giovani persistono superando le basse temperature invernali. L'optimum di tolleranza termo-alina degli adulti, infatti, varia tra 17° - 25°C con valori di salinità variabili tra il 29‰ - 37‰. Marin *et al.*, (1987) riportano che le basse temperature rallentano la velocità metabolica degli individui giovani attenuando gli effetti sfavorevoli della temperatura e che l'optimum sperimentale condiviso tra gli individui giovani e quelli adulti si sovrappone a 17°C per la temperatura e 37‰ di salinità.

	Temperatura (°C)					Salinità (‰)
	10°	15°	20°	25°	30°	
Numero di individui	33	34	33	35	38	21‰
Mortalità (%)	100 %	93.9%	47.1%	94.3%	100%	
Numero di individui	33	69	37	36	37	29‰
Mortalità (%)	0%	43.5%	0%	2.8%	100%	
Numero di individui	38	73	31	46	37	37‰
Mortalità (%)	0%	19.1%	0%	0%	100%	
Numero di individui	35	71	69	78	37	45‰
Mortalità (%)	28.6%	9.9%	7.2%	33.3%	100%	

Tab. 11. Valori termo-alini di tolleranza per i giovani post-metamorfici di *C. intestinalis* sp A (Secondo Marin et al., 1987, modificato).

Gli autori concludono che la sensibilità termo-alina degli individui cambia con gli stadi ontogenetici e gli individui più giovani resistono meglio al freddo, mentre gli adulti sono più resistenti alle alte temperature. Anche Scalera Liaci *et al.* (1977) riportano per il Mar Piccolo di Taranto la scomparsa degli adulti quando la temperatura si abbassa tra 8°-10°C superando la soglia critica <10°C e il valore della salinità è di 36.40‰.

		Temperatura (°C)			Salinità (‰)	
7°	10°	18°	25°	30°		
100%	84%	56%	56%	100%	21‰	
100%	28%	20%	68%	100%	29‰	
72%	4%	0%	32%	64%	37‰	
92%	12%	17.4%	80%	100%	45‰	

Tab. 12. Percentuali della mortalità utilizzando 25 individui adulti di *C. intestinalis* sp A, per esperimento, in differenti condizioni termoaline (Marin et al., 1987, modificato).

5.3. Dinamica di popolazione e ciclo ovarico a Venezia e Taranto

Sabbadin (1958) e Scalera Liaci *et al.* (1977) hanno seguito la dinamica di popolazione e il ciclo ovarico di *C. intestinalis* sp A, in una sola stazione di campionamento, rispettivamente nella Laguna di Venezia e nel Mar Piccolo di Taranto, individuando dei trends generali di presenze stagionali e di maturazione degli ovari che evidenziano eterocronie temporali rispetto alla stagionalità dei parametri ambientali. Sabbadin (1958) riporta indicazioni ambientali generalizzate, invece Liaci *et al.* (1977) corredano le loro osservazioni con i parametri ambientali e la loro influenza stagionale su *C. intestinalis* sp A. Sabbadin (1958) riscontra che la popolazione di Venezia subisce ampie fluttuazioni numeriche interannuali e stagionali, il reclutamento è lungo e difficile e in alcuni anni manca del tutto; gli individui raccolti durante la primavera si accrescono rapidamente fino alla stagione estiva raggiungendo velocemente la maturità riproduttiva che dura fino alla stagione autunnale, quando l'accrescimento si blocca per le basse temperature. Questo autore ha notato che quando le temperature invernali sono inferiori a 10°C gli individui residenti scompaiono dalla laguna, ma non ci sono ulteriori indicazioni a proposito del contingente generazionale coinvolto. Il trend della dinamica di popolazione riportato da Sabbadin (1958) si evolve nel tempo con una generazione primaverile, due generazioni estive e un'ultima generazione autunnale distribuite in un ciclo annuale di quattro generazioni la cui lunghezza della vita non è stata riportata. L'autore riporta che in laguna gli individui raggiungono rapidamente la maturità sessuale e che un singolo individuo ha più cicli riproduttivi; la principale stagione

riproduttiva dura dalla primavera all'estate bloccandosi durante la stagione invernale come riportato da Pérès (1952).

I dati di Scalera Liaci *et al.* (1977) consentono di valutare come la popolazione cambia numericamente nel tempo rispetto ai parametri ambientali e se i valori degli optima termo-alini determinati in vitro da Marin *et al.* (1987) hanno riscontro in un ambiente naturale. Scalera Liaci *et al.* (1977) riportano per *C. intestinalis* sp A del Mar Piccolo di Taranto che la specie si riproduce nel periodo primavera - estate con successivi eventi sporadici fino a bloccare la riproduzione durante l'inverno confermando le osservazioni precedenti sul ciclo riproduttivo (Pérès, 1952; Sabbadin, 1958). Questi autori confermano che il massimo riproduttivo si ha nel periodo primavera - estate quando la temperatura del sito varia da 15.50° - 24° C e la salinità varia da 35.91‰ - 37.50‰, come confermano i picchi di presenza della specie. I minimi di presenza degli individui coincidono con le basse temperature invernali 10° - 8°C (gennaio- febbraio) e con salinità del 34.83‰ - 34.72‰ (Fig. 50 - 51).

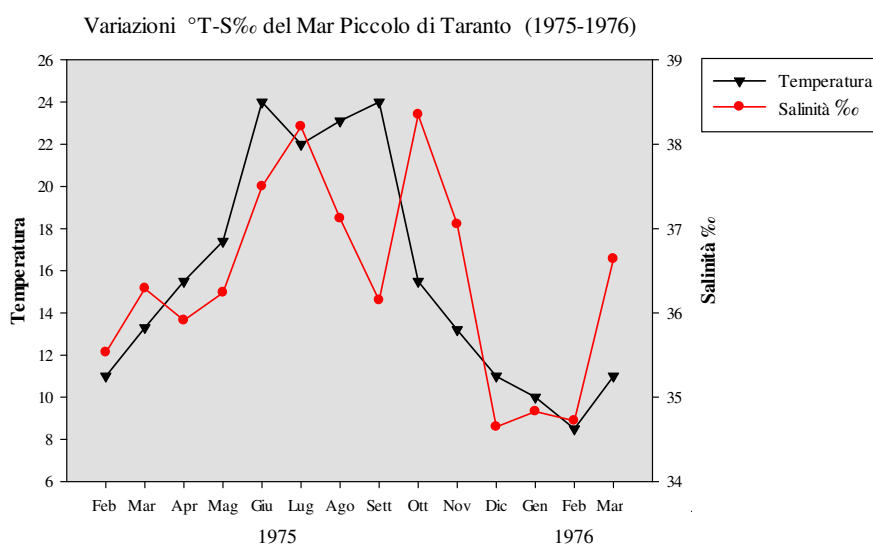


Fig.50. Valori della temperatura e della salinità del Mar Piccolo di Taranto (Secondo Scalera Liaci *et al.*, 1977 modificato).

È possibile individuare un trend generale delle presenze correlato alla variabilità stagionale termo-alina, come indicato da Marin *et al.* (1987), che influenza in modo differente gli individui residenti rispetto al loro stadio ontogenetico. Confrontando la popolazione di Venezia con quella di Taranto, anche se ci sono differenze ambientali, la

diminuzione o scomparsa della specie rispetto alle stagioni sfavorevoli segue un andamento sia dinamico che riproduttivo molto simile. Sabbadin (1958) riferisce per la laguna di Venezia fluttuazioni generiche di temperatura che variano da $<10^{\circ}$ a 30°C e riporta per la salinità fluttuazioni annuali che variano da 32.10‰ - 35.80‰ , mentre gli intervalli di temperatura riferiti per il Mar Piccolo di Taranto variano da 8.5° - 24°C (febbraio-giugno) e la salinità da 34.83‰ - 38.21‰ (gennaio-luglio) (Fig. 50 e 51).

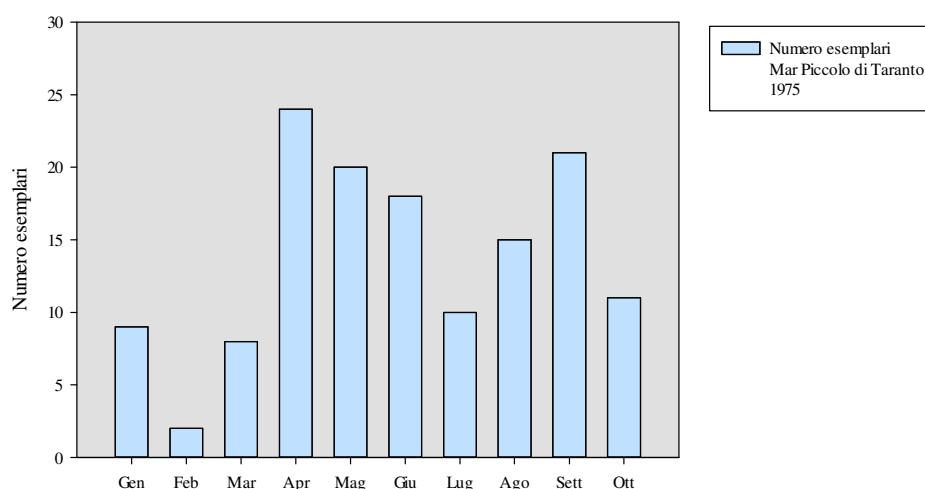


Fig. 51. Variazioni temporali del numero di esemplari di *C. intestinalis* sp A nel Mar Piccolo di Taranto (secondo Scalera Liaci et al., 1977 modificato).

Le popolazioni di Venezia e del Mar Piccolo di Taranto mostrano un trend generale del ciclo biologico simile, ma con picchi di presenza e di reclutamento non coincidenti temporalmente, ma correlati ai fattori ambientali che influenzano l'attività ovarica.

5.4. Eterocronie tra i tre siti del Lago Fusaro

La dinamica di popolazione del Lago Fusaro di *C. intestinalis* sp A è stata studiata confrontando tre differenti punti di campionamento e i risultati ottenuti propongono interessanti spunti potendo osservare andamenti eterocroni della specie nei tre siti studiati (Fig. 3 e 34). Il periodo di studio sul campo è stato condotto da marzo 2011 a luglio 2012, e il primo record della specie nel Lago Fusaro nel maggio 2011 coincide con la fine della crisi demografica che tra il 2009 - 2010 nel Golfo di Napoli che ha causato la scomparsa della specie (Caputi *et al.*, in preparazione).

Il primo punto preso in considerazione è la stazione CV, quella più interna, vicina a diversi scarichi e maggiormente influenzata dall'antropizzazione (Fig. 3). È stato già evidenziato che gli andamenti di questa stazione di campionamento sono stati condizionati da eventi antropici che hanno inciso sui riscontri ottenuti. Si considera, quindi, per primo il set di dati più breve della serie ottenuta. In questo sito la specie, dopo la crisi anossica avvenuta nel maggio 2011, è stata ritrovata nel novembre successivo con individui rappresentati prevalentemente da reclutanti e un esiguo numero di individui in grado di riprodursi. Infatti, dicembre è caratterizzato da un picco di reclutanti e da pochi individui che resistono alle basse temperature invernali. In questo periodo i valori termo-alini sono variati da 10.50° - 17.65° C e da 28.70‰ - 28.90‰ e si è riscontrato che la popolazione è prevalentemente costituita da individui di taglia che di rado supera la classe ponderale di 5 g (Fig. 34), le basse temperature hanno quasi del tutto eliminato gli individui di taglia maggiore come riportato per Venezia e il Mar Piccolo di Taranto (Sabbadin, 1958; Scalera Liaci, *et al.* 1977), e gli ovari sono nello stato di pausa invernale o in proliferazione (Pérès, 1952; Sabbadin, 1958) (Fig. 49A). A febbraio, la popolazione è bimodale e strutturata in due gruppi, il primo compreso tra le taglie ponderali 0 - 3 g e un secondo gruppo, di taglia compresa tra 3 - 6 g, costituito dai reclutanti accresciutisi, la maggior parte dei quali già maturo sessualmente. Il periodo marzo-aprile segnala un periodo riproduttivo costante con un massimo di maturità ovarica (Fig. 49A). In questo periodo le temperature e la salinità variano rispettivamente da 17.58°C - 20.62°C e da 29.43‰ - 28.75‰ e i valori termo-alini corrispondono alla sovrapposizione degli optima termo-alini individuati da Marin *et al.* (1987) per i giovani e gli esemplari più grandi (Tab. 11 - 12). Il bimestre successivo evidenzia un rallentamento dell'accrescimento e il progressivo diminuire del numero di individui,

oltre a una diminuzione dell'attività riproduttiva che si blocca e si ha la degenerazione degli ovari (Fig. 49A). In questo bimestre il rapido innalzarsi della temperatura da 23.40° - 29.16°C e della salinità da 33.90‰ - 34.30‰ (maggio - giugno 2012) rappresenta il momento stagionale in cui la soglia della temperatura massima critica di 25°C viene superata come dimostrato da Marin *et al* (1987), inoltre i valori della concentrazione di ossigeno diminuiscono da 7.45 - 4.65 mg l⁻¹, in corrispondenza di aumenti dei valori della torbidità da 2.25 - 6.89 e si ha la scomparsa dal punto della popolazione. Il numero di generazioni censite in questo sito sono tre, la prima è quella stroncata dall'anossia di maggio 2011 la cui longevità non è calcolabile, mentre la generazione autunnale vive quattro mesi, da novembre 2011 a febbraio 2012 quando viene sostituita dalla terza insediatasi a marzo 2012. Questa generazione primaverile perdura fino a giugno 2012 sopravvivendo quattro mesi.

Gli individui della stazione FdM hanno seguito la dinamica naturale imposta dalle condizioni ambientali del Lago Fusaro e sono disturbati da uno scarico di acque domestiche collocato nella foce (Fig. 3). Il primo gruppo di individui campionati nel maggio 2011 era costituito da individui di piccola taglia ponderale e da un piccolo gruppo di individui più grandi accresciutisi fino a luglio e nei quali si nota la graduale scomparsa o riduzione degli individui delle classi ponderali comprese tra 0 - 3 g e una prevalenza di quelli compresi tra 4 - 8 g. In questo periodo dell'anno il valore massimo della temperatura era di 27.02°C (giugno 2011), la temperatura media del periodo è stata di poco maggiore a 25°C, mentre la salinità è variata da 33.90‰ - 32.10‰ (maggio - luglio). In questo lasso di tempo la popolazione si è accresciuta, ma non si è riprodotta e gli ovari esaminati a giugno 2011 erano tutti in pausa per l'alta temperatura, mentre la situazione del mese di luglio mostra una prevalenza di blocco riproduttivo, ma un esiguo numero di individui aveva gli ovari in proliferazione o pronti a deporre in seguito all'abbassamento di temperatura registrato (25.66°C). I valori dell'ossigeno disciolto variano da 5.79 - 4.88 mg l⁻¹. Questo dato è in controtendenza rispetto a quanto riportato da Sabbadin (1958) e Scalera Liaci *et al.* (1977) che hanno trovato individui in grado di riprodursi fino a luglio-agosto e con Pèrès (1952) e Sabbadin (1952) che collocano il periodo di "riposo" ovarico solo tra novembre e dicembre in coincidenza della stagione invernale. A luglio gli individui di *C. intestinalis* sp A non sono più presenti nel sito fino al successivo novembre, analogamente a quanto osservato per la stazione CV. In questo punto la ripresa autunnale della popolazione è più lenta e si

individuano due contingenti di taglie ponderali corrispondenti a un gruppo di reclutanti compreso nelle classi 0 - 4 g e un gruppo di adulti nelle classi di 5 - 7 g. La variabilità della taglia è poco significativa da un punto di vista riproduttivo (Sabbadin, 1958) e, in coincidenza di condizioni favorevoli per la vita del taxon, gli individui si riproducono con il risultato della deposizione osservabile a dicembre, con l'arrivo di reclutanti che resistono alle basse temperature fino a febbraio, ma si riducono di numero in modo più evidente di quanto riscontrato a CV (Fig. 33A). La riduzione numerica degli individui e della taglia si manifestano con una prevalente attività proliferativa degli ovari a febbraio 2012. Come notato alla stazione CV, a marzo si ha un nuova ondata di reclutanti, che rimpiazza gli individui morti durante il periodo più freddo e dotati di ovari maturi e in proliferazione (Fig. 49B). Anche in questo caso, i valori termo-alini del periodo coincidono con il range di valori ambientali favorevoli alla specie, con 16.87°C, 30.43‰ di salinità e la concentrazione di ossigeno disciolto di 10.09 mg l⁻¹. Gli individui si accrescono rapidamente fino ad aprile in condizioni ambientali simili e le condizioni riproduttive degli ovari sono paragonabili. A maggio in corrispondenza di un aumento dei valori di temperatura e salinità (22.67°C e 33.70‰), il numero di individui diminuisce, e questi non si accrescono, ma la maturità ovarica non ne risente (Fig. 49A). A giugno 2012 gli esemplari si sono accresciuti, ma l'inizio dell'estate si palesa soprattutto sullo stato riproduttivo degli ovari che sono prevalentemente in pausa; infatti i valori termo-alini sono di 29.21°C e del 35.30‰, più alti rispetto all'anno precedente, e gli individui scompaiono a giugno 2012 (Fig. 33B). In questo sito si individuano tre generazioni, la prima si esaurisce nel periodo estivo del 2011 in tre mesi (Fig. 35) in coincidenza del blocco riproduttivo (Fig. 49B). La generazione autunnale vive da novembre 2011 a febbraio 2012 sostituita da quella primaverile che perdura anch'essa quattro mesi fino alla scomparsa stagionale a giugno 2012.

La stazione PR è quella dove la specie è stata presente con continuità temporale, rispetto alle altre due stazioni campionate, rispondendo in modo differente all'evolvere dei parametri ambientali. Anche in questo sito si individua una prima generazione che si accresce rapidamente e completa il suo ciclo a luglio 2011 (Fig. 37). Gli individui hanno gli ovari maturi e il numero dei presenti è uguale a quello di FdM con andamenti delle classi di frequenza abbastanza simili (Fig. 33B - 50C). In questa stazione il periodo di crisi estiva si manifesta con una diminuzione del numero di individui, ma senza scomparire dal punto (Fig. 33B). I valori della temperatura superano i 25°C

mentre la salinità progressivamente si abbassa da 33.20‰ - 31.80‰ (Fig. 27 - 28). Gli ovari, rispetto alla stazione FdM a giugno e luglio, sono ancora maturi o in proliferazione (Fig. 50C). Da agosto il numero degli esemplari diminuisce raggiungendo il minimo di presenze a ottobre (Fig. 33B). In questo periodo la temperatura raggiunge i valori massimi del periodo estivo 27.25°C (settembre), raffreddandosi progressivamente con l'inizio dell'autunno (Fig. 27), mentre il valore della salinità è più basso rispetto ai mesi precedenti (~ 32‰ settembre-ottobre). È da notare che nella stazione PR ad agosto si individua una nuova generazione e un gruppo di individui più grandi che resistono agli aumenti di temperatura di settembre e al progressivo abbassamento della salinità strutturandosi in due gruppi generazionali compresi tra le classi ponderali di 1 - 4 g e 6 - 9 g (Fig. 37). Gli individui presenti non si riproducono tra agosto e settembre, gli ovari sono in pausa o degenerano (Fig. 49C). Anche questa osservazione coincide con le notizie riportate da Scalera Liaci *et al.* (1977) per i quali solo pochi esemplari sono in grado di riprodursi sporadicamente, dopo luglio, con eventi di reclutamento random di piccola entità. I sopravvissuti a ottobre recuperano rapidamente l'attività riproduttiva, stimolati dal raffreddamento dell'acqua la cui temperatura è in media di 20°C con una salinità di circa il 32‰. A novembre si notano ancora due generazioni distinte, i reclutanti e quelli presenti in precedenza si sono accresciuti e i valori termo-salini erano di 16.95°C e 28.00‰. Anche in questa stazione le basse temperature invernali (~ 10.50°C in media) causano lo "svecchiamento" della popolazione e gli individui sono prevalentemente rappresentati da giovani fino a febbraio 2012. A marzo, con il repentino aumento della temperatura (16.90°C), gli individui si accrescono rapidamente; si individua un secondo picco di reclutanti e la popolazione è strutturata in due gruppi generazionali che si accrescono contestualmente fino a maggio grazie alle condizioni ambientali favorevoli. A maggio gli individui cominciano a manifestare la tendenza degli ovari ad andare in riposo, anche se i valori ambientali sono ancora favorevoli (Fig. 49C). La popolazione studiata nel punto PR a giugno scompare quando si raggiunge la temperatura di 29.17°C e le condizioni ambientali non differiscono da quelle dell'anno precedente (Fig. 27 - 28). Questo sito si distingue dai precedenti per la mancanza di un gap estivo di presenze e soprattutto per essersi riprodotto nel periodo meno favorevole dell'anno.

Le generazioni individuate sono cinque e tendono a convivere formando classi generazionali distinte (Fig. 37). La prima generazione è quella che da maggio a luglio

2011 esaurisce un primo ciclo trimestrale, seguito da una seconda generazione estiva di individui che perdura da agosto a novembre. Questa generazione è presente insieme ai reclutanti di novembre che formano la generazione autunnale. È da notare che gli individui della seconda generazione estiva con taglie ponderali $> 5g$ scompaiono durante il periodo freddo che svecchia la popolazione, come si nota da dicembre e la loro vita si esaurisce in quattro mesi (Fig. 37). La generazione autunnale sopravvissuta al periodo freddo di dicembre 2011 - febbraio 2012 si sovrappone a quella primaverile di marzo 2012 e si ha anche in questo caso la presenza di due gruppi generazionali che si sovrappongono finché la popolazione a giugno non scompare (Fig. 37). Tutte le generazioni di questo sito hanno una vita media di circa tre mesi.

5.5. Conclusioni

Da quanto esposto la temperatura è il parametro con l'influenza più evidente sul ciclo vitale di *C. intestinalis* sp. A, mentre la salinità non sembra esercitare un'influenza altrettanto incisiva. È già stato fatto notare che questo è il parametro che maggiormente si discosta dai trends riportati in passato per il Lago Fusaro (Magazzù e Panella, 1969; Sarno *et al.*, 1993). Questo cambiamento della mesologia lagunare si è manifestato con una progressiva dissalazione dell'ambiente causata dalle precipitazioni e degli apporti degli scarichi per tutto il 2011, con andamenti sfasati durante il periodo invernale, e la salinità è progressivamente aumentata nel 2012 per poi riattestarsi a valori simili a quelli dell'anno precedente (Fig. 28). Se si confronta la situazione termo-alina del Lago Fusaro con gli intervalli di tolleranza calcolati da Marin *et al.*, (1987) (Tab. 11 - 12), la dinamica della popolazione e la maturità ovarica sono correlate alla variabilità temporale dei valori dei due parametri e al ciclo mesologico lagunare. Infatti, si può constatare che i massimi di reclutamento e di maturità ovarica degli adulti hanno una buona corrispondenza con gli optima descritti da Marin *et al.* (1987) che sono per gli individui post-metamorfici di $10^{\circ} - 20^{\circ}C$ e per gli esemplari adulti di $17^{\circ} - 25^{\circ}C$ in un intervallo alino di $29\text{‰} - 37\text{‰}$ e un optimum termico condiviso tra $17^{\circ} - 20^{\circ}C$ (Fig. 52). Il dato relativo alla persistenza della popolazione di *C. intestinalis* sp A alla stazione PR sembra verosimilmente collegata alla taglia degli esemplari che in questa stazione, è sempre stata mediamente più alta rispetto a CV e FdM la cui popolazione ha beneficiato di una migliore capacità di resistenza fisiologica rispetto alle variazioni termo-aline.

Infatti, il contingente di giugno 2012 del sito PR non uguaglia le taglie dell'anno precedente e la popolazione del sito non ribadisce il ciclo precedente.

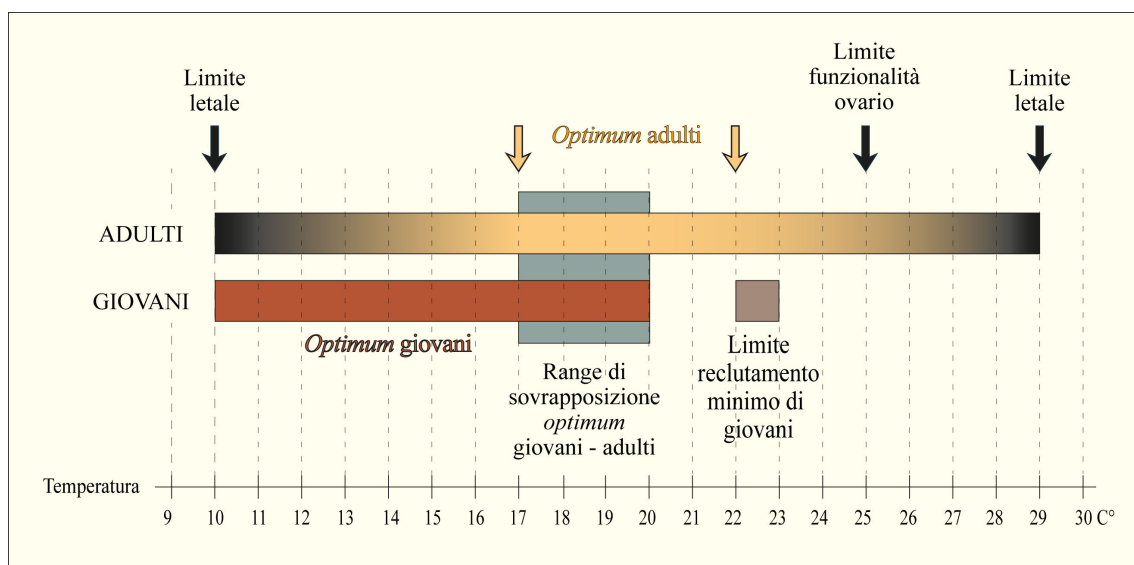


Fig. 52. Diagramma di sintesi degli optima termici per gli individui giovani e adulti di *C. intestinalis* sp A nel lago Fusaro derivato da Marin *et al.*, 1987.

I picchi riproduttivi e una buona funzionalità ovarica nelle tre stazioni studiate sono stati osservati tutti in un periodo stagionale in cui l'intervallo termico è compreso tra 17° - 22°C, con salinità variabile da 28‰ - 33‰, una buona ossigenazione dell'acqua e bassi valori della torbidità (Fig. 32). Inoltre, il superamento dei 25°C si conferma come la soglia critica ambientale per la buona funzionalità fisiologica degli adulti e come limite termico del successo riproduttivo e l'inizio di una fase vitale critica per la specie. Osservazioni personali annotate durante gli esperimenti di screening dei mutanti ottenuti con la tecnica dell'autofecondazione condotti alla Stazione Zoologica confermano che quando si raggiungevano e superavano 25°C di temperatura la fecondazione delle uova non aveva luogo. Questo limite termico si manifesta anche come perdita ponderale della porzione somatica dell'organismo calcolata con il CI (condition index) (Fig. 44) e di grandezza degli ovarii (Fig. 49) che si manifestano tra le stazioni in modo eterocrono. Va notato che gli individui delle tre stazioni studiate scompaiono contemporaneamente nel giugno 2012 in corrispondenza delle temperature massime registrate pur in presenza di valori di salinità simili a quelli dell'anno precedente, condizioni corrispondenti a un intervallo di alta mortalità individuato da Marin *et al.* (1987). Un ulteriore riscontro si ha con i dati di Caputi *et al.* (in preparazione) i quali notano, durante il ciclo settennale di presenze della specie, che il

periodo primavera - estate coincide con il massimo riproduttivo, seguito da un picco minore autunnale in condizioni termiche simili a quelle sopra descritte.

La principale differenza riscontrata con i dati di questo lavoro riguarda il periodo riproduttivo che non concorda con quanto riportato da Lo Bianco (1909) che considera *C. intestinalis* sp A matura tutto l'anno, mentre Péres (1952) e Sabbadin (1958) individuano nei mesi di novembre e dicembre l'unico momento di riposo o di degenerazione degli ovari, mentre Scalera Liaci *et al.* (1977) riscontrano che il massimo di attività ovarica nel Mar Piccolo di Taranto si ha da giugno a ottobre con una fase di riposo invernale. Runnström (1936) invece nota che a Napoli la specie si riproduce nel periodo invernale dato più coincidente con i riscontri ottenuti al Lago Fusaro. L'eterocronia della dinamica delle popolazioni studiate si esprime anche sulla loro periodicità riproduttiva che è legata alle differenze di taglia media degli individui presenti nei siti e alle condizioni mesologiche locali che li influenzano. Gli individui della stazione PR evidenziano che, in caso di persistenza della specie nei periodi dell'anno ad essa meno favorevoli, la presenza di un piccolo gruppo di individui è in grado di assicurare la discendenza della specie finché in grado di riprodursi. Il riscontro ottenuto consente di affermare che il periodo di pausa riproduttiva o di degenerazione ovarica nel Lago Fusaro coincide prevalentemente con l'estate, mentre il periodo autunno-inverno coincide con il periodo reclutamento anche se in CV si ha una pausa invernale degli ovari. Lo sforzo riproduttivo della specie nel Lago Fusaro è concentrato nel periodo novembre - maggio quando tutti i valori delle variabili ambientali sono favorevoli ma le tre popolazioni studiate non si comportano tutte allo stesso modo. Le tolleranze ontogenetiche termo-aline sembrano avere un ruolo determinante nella stagionalità delle specie come meccanismo selettivo che nel periodo successivo alla riproduzione autunnale favorisce gli individui più giovani e resistenti al freddo rispetto a quelli più grandi che invece scompaiono. La temperatura si conferma di per sé il fattore ambientale più rimarchevole e in corrispondenza dei suoi minimi e massimi nel Lago Fusaro si hanno periodi di crisi della specie che si manifestano sul potenziale riproduttivo e regolano la dinamica delle popolazioni con stimoli estrinseci che agiscono sull'adattamento alle variazioni ambientali dipendente dalla taglia degli organismi. Il numero di generazioni per punto studiato varia da tre a quattro, dipende dalla taglia degli individui presenti nei siti e dalla loro capacità di adattarsi alle variazioni termo-aline locali. La specie ha il suo periodo più florido in corrispondenza

dei periodi di maggiore covariazione dei parametri da novembre 2011 fino a maggio 2012, quando la temperatura si approssima al valore critico di 25°C. Ciò è confermato dall'inizio della pausa degli ovari che dipende dalle taglie degli individui presenti nei tre siti del Lago Fusaro (Fig. 48 e 49) e da quanto riportato nel Mar Piccolo di Taranto dove la popolazione di *C. intestinalis* sp A (Scalera Liaci *et al.*, 1977) pur diminuendo numericamente persiste ed è ancora in grado di riprodursi grazie alle temperature che non superano i 24°C (giugno), il valore della salinità è 38.21‰, mentre quello dell'ossigeno disciolto è di 3.4 mg l⁻¹. È quindi evidente che la variabilità mesologica può essere determinante per la sua incisività sul ciclo naturale della dinamica di popolazione della specie rispetto al luogo dove viene studiata. Nel Lago Fusaro si è constatato che all'aumentare della temperatura e della salinità da aprile a giugno i valori del CI (Fig. 44A - C) e in parallelo lo stesso trend viene seguito dalla dimensione media degli ovari che progressivamente diminuisce (Fig. 48) incidendo sullo stato riproduttivo della specie che tende a bloccare la riproduzione (Fig. 49A - C). Il periodo da novembre 2011 a aprile 2012 è importante perché coincide con buoni valori di ossigeno disciolto e soprattutto i valori della torbidità, periodo coincidente con le fasi del ciclo migliori di *C. intestinalis* sp A che precedono l'arrivo del ciclico momento di crisi estivo.

Le caratteristiche ecologiche della specie, come evidenziato da Procaccini *et al.* (2011), la rendono un valido organismo modello per lo studio del potenziale evolutivo delle popolazioni naturali che vivono in condizioni ambientali variabili. Il progetto è stato portato avanti per fornire un primo dataset da incrociare con lo studio concernente il flusso genico e la complessità della genetica di popolazioni naturali in ambienti chiusi, nell'ottica dei processi EvoDevo per indagini di genetica quantitativa, dell'evoluzione della specie e la loro relazione con le variazioni ambientali.

Bibliografia

Abbruzzese D. e D'Argenzio C., 2012. *Indagini su acque, sedimenti e biota del Lago Fusaro*. Tesi Sperimentale in Chimica dell'ambiente, Facoltà di Scienze MM. FF. NN., Corso di Laurea in Scienze Ambientali, pp. 1-150.

Ardizzone G.D., Mazzola A. e Riggio S., 1977. Modificazioni nelle comunità incrostanti del Porto di Palermo in relazione a diverse condizioni ambientali. *Atti del IX Congresso della Società Italiana di Biologia Marina, Lacco Ameno d'Ischia, 19-22 maggio 1977* Cinelli F., Fresi E. e Mazzella L. (Eds), pp.: 151-159.

Becerro M.A e Turon X., 1992. Reproductive cycles of the ascidians *Microcosmus sabatieri* and *Halocynthia papillosa* in the Northwestern Mediterranean. *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.*, **13**: 363-373.

Bates W.R., 2005. Environmental factors affecting reproduction and development in ascidians and other protochordates. *Can. J. Zoolog.* , **83**: 51-61.

Becheikh S., Thomas F., Raibaut A., e Renaud F. 1996. Some aspects of the ecology of *Pachypygus gibber* (Copepoda), an associated organism of *Ciona intestinalis* (Urochordata). *Parasite*, **3**: 247-252.

Bellas J., Vazquez E. e Beiras R.. 2001. Toxicity of Hg, Cu and Cr on early developmental stages of *Ciona intestinalis* (Chordata, Ascidiacea) with potential application in marine water quality assessment. *Water Res.*, **35**: 2905-2912.

Bellas J., Beiras R. e Vázquez E. 2004. Sublethal effects of trace metals (cd, cr, cu, hg) on embryogenesis and larval settlement of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **46**: 61-66.

Berrill N.J. 1947. The development and growth of *Ciona*. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **26**: 616-625.

Berrill N.J., 1950. *The Tunicata with an account of the British species*. Ray Society, London.

Brambati A., 1988. Lagune e stagni costieri: due ambienti a confronto. In: “*Le lagune costiere ricerca e gestione*”, Carrada G.C, Cocogna F. e Fresi E. (eds), CLEM, Massalubrense, pp.: 9-33.

Bohadsh J.B., 1761. De quibusdam animalibus marinis, eorumque proprietatibus, orbi litterario vel nondum vel minus notis, liber. Dresdae.

Brunetti R. e Menin F., 1977. Ascidiens of the Laguna Veneta. II. Distribution and ecological observations. *Boll. Zool.*, **44**: 337-352.

Brunetti R., Beghi L., Marin M.G. e Bressan M., 1985. Survival and growth of *Molgula socialis* Alder, 1863 at different temperature-salinity combinations. *Vie Milieu*, **35**: 43-47.

Bullard S.G, Whitlatch R.B. e Osman R.W. 2004. Checking the landing zone: Do invertebrate larvae avoid settling near superior spatial competitors? *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **280**: 239-247.

Byrd J. e Lambert C.C., 2000. Mechanism of the block to hybridization and selfing between the sympatric ascidians *Ciona intestinalis* and *Ciona savignyi*. *Mol. Reprod. Dev.*, **55**:109-116.

Carballo J.L., 2000. Larval ecology of an ascidian tropical population in a Mediterranean enclosed ecosystem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**: 159-167.

Carman M. R., Bullard S.G. e Donnelly J.P., 2007. Water quality, nitrogen pollution, and ascidian diversity in coastal waters of southern Massachusetts, USA. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **342**: 175–178.

Caputi L., Andreakis N., Mastrototaro F., Cirino P., Vassillo, e Sordino P., 2007. Cryptic speciation in a model invertebrate chordate. *PNAS*, **104**: 9364-9369.

Caputi L., Toscano F., Crocetta F., Sordino P., Cirino P., (In preparazione). Long-term demographic and reproductive trends in *Ciona intestinalis* sp A.

Carrada G.C., 1963. I Briozoi del lago Fusaro (Napoli). *Annuario dell'Istituto e Museo di Zoologia della Università di Napoli*, **15**: 1-9.

Carrada G.C., 1973. Profilo ecologico di una laguna salmastra flegrea: il Lago Fusaro. *Archo. Oceanogr. Limnol.*, **18** (Supplemento): 145-164.

Carrada G.C., Casotti R., Modigh M. e Saggiomo V., 1991. Presence of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) in a coastal Mediterranean lagoon. *J. Plank. Res.*, **13**: 229-238.

Carver C.E., Chisholm A. e Mallet A.L., 2003. Strategies to mitigate the impact of *Ciona intestinalis* (L.) biofouling on shellfish production. *J. Shellfish Res.*, **22**: 621-631.

Carver C.E., Mallet A.L. e Varcaemer B., 2006. Biological synopsis of the solitary tunicate *Ciona intestinalis*. *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2746, pp. i-v + 1-55.

Cayer D., MacNeil M. e Bagnall A.G., 1999. Tunicate fouling in Nova Scotia aquaculture: a new development. *J. Shellfish Res.*, **18**: 327.

Cheney M.A., Berg J.R. e Swinehart J.H., 1997. The uptake of vanadium (V) and other metals by the isolated branchial sacs of the ascidians *Ascidia ceratodes*, *Ciona intestinalis*, and *Styela montereyensis*. *Comp. Biochem. Physiol. C*, **116**: 149-154.

Cirino P., Toscano A., Caramiello D., Macina A., Miraglia V. e Monte A., 2002. Laboratory culture of the ascidian *Ciona intestinalis* (L.): a model system for molecular

developmental biology research. *Mar. Mod. Elec. Rec.* [serial online]. Available: <http://www.mbl.edu/html/BB/MMER/CIR/CirTit.html>

Cognetti G., 1982. Adaptive strategy of brackish-water fauna in pure and polluted waters. *Mar. Pollut. Bull.*, **13**: 247-250.

Cognetti G. e Maltagliati F., 2000. Biodiversity and adaptive mechanisms in brackish water fauna. *Mar. Pollut. Bull.*, **40**: 7-14.

Cohen B.F., McArthur M.A. e Parry G.D., 2000b. Exotic marine pests in Westernport. *Mar. Freshwater Res. Inst. Rep.*, **22**, pp. 1-17.

Cusimano Carollo T. e Canicattì C., 1983. Effects of cadmium on the development of ascidian eggs. *Acta Embryol. Morphol. Exper. n.s.*, **4**: 59-71.

Cutter A.D. e Agrawal A.F., 2010. The evolutionary dynamics of operon distributions in eukaryote genomes. *Genetics*, **185**: 685-93

Dehal P., Satou Y., Campbell R.K., 2002. The draft genome of *Ciona intestinalis*: insights into chordate and vertebrate origins. *Science*, **298**: 2157-67.

Delsuc F., Brinkmann H., Chourrout D. e Hervé F, 2006. Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature*, **439**: 965-968.

De Pippo T., Donadio C., Grottola D. e Pennetta M., 2004. Geomorphological evolution and environmental reclamation of Fusaro Lagoon (Campania Province, southern Italy). *Environment International*, **30**: 199– 208.

Dybern B.I., 1965. The life cycle of *Ciona intestinalis* (L.) f. *typica* in relation to the environmental temperature. *Oikos*, **16**: 109-131.

Dybern B.I., 1967. The distribution and salinity tolerance of *Ciona intestinalis* (L.) f. *typica* with special reference to the waters around southern Scandinavia. *Ophelia*, **4**: 207-226.

Ekman S., 1953. "*Zoogeography of the sea*". Sidgwick and Jackson limited, London. pp. i-xiv + 1-417.

Ferrier D.E., 2011. Tunicates push the limits of animal evo-devo. *BMC Biology*, **9**: 1-3.

Ferro G.F. e Russo R., 1980. Le biocenosi bentoniche del lago Fusaro. I. — Osservazioni faunistiche. *Boll. Soc. Nat. Napoli*, **89**: 1-13.

Fiala-Médioni A., 1974. Ascidiées du benthos rocheux de Banyuls-sur-Mer. Inventaire faunistique et notes écologiques. *Vie Milieu*, **24**: 193-207.

Fiala-Médioni A., 1978. Filter-feeding ethology of benthic invertebrates (Ascidiées). 4. Pumping rate, filtration rate, filtration efficiency. *Mar. Biol.*, **48**: 243-249.

Flood P.R. e Fiala-Médioni A., 1981. Ultrastructure and the food trapping mucous film in benthic filter-feeders (Ascidiées). *Acta Zool.*, **62**: 53-65.

Gallo A., Silvestre F., Cuomo A., Papoff F. e Tosti E., 2011. The impact of metals on the reproductive mechanisms of the ascidian *Ciona intestinalis*. *Mar. Ecol.*, **32**: 222-231.

Goodbody I., 1962. The biology of *Ascidia nigra* (Savigny). I. Survival and mortality in an adult population. *Biol. Bull.*, **122**: 40-51.

Goodbody I., 1963: The biology of *Ascidia nigra* (Savigny). II. The development and survival of young ascidians. *Biol. Bull.*, **124**: 31-44.

Goldberg E.D., McBlair W., Taylor e K.M., 1951. The uptake of vanadium by tunicates. *Biol. Bull.*, **101**: 84-94.

Granmo A., Havenhand J., Magnusson K. e Svane I., 1988. Effects of the planktonic flagellate *Chrysochromulina polylepis* Manton et Park on fertilisation and early development of the ascidian *Ciona intestinalis* (L.) and the blue mussel *Mytilus edulis* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **124**: 65-71.

Gulliksen B., 1972. Spawning, larval settlement, growth, biomass, and distribution of *Ciona intestinalis* L. (Tunicata) in Borgenfjorden, North-Trøndelag, Norway. *Sarsia*, **51**: 83-96.

Gulliksen B., 1973. The vertical distribution and habitat of the ascidians in in Borgenfjorden, North-Trøndelag, Norway. *Sarsia*, **52**: 21-28.

Gulliksen B. e Skaeveland S.H., 1973. The sea-star, *Asterias rubens* L., as predator of the ascidian, *Ciona intestinalis* (L.) in Borgenfjorden, North-Trøndelag, Norway. *Sarsia*, **52**: 15-20.

Gunnerus J.E., 1765. Se-Pungen, (*Thetyum sociabile*) fuld staendig beskreven. *Skr. Selsk. Trondheim*, **3**: 81-102, tav. 2.

Harnat D. e Vernières P., 1933. Tuniciers, Fasc. 1: Ascidies in Faune de France, **27**: 1-99.

Hayward P.J. e Ryland J.S., 1998. "Handbook of the marine fauna of North-West Europe". Oxford University Press, pp: 1-800.

Holmstroem C., Rittschof D. e Kjelleberg S. 1992. Inhibition of settlement by larvae of *Balanus amphitrite* and *Ciona intestinalis* by a surface-colonizing marine bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**: 2111-2115.

Hoshino Z. e Nishikawa T., 1985. Taxonomic studies of *Ciona intestinalis* (L.) and its allies. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, **30**: 61-79.

Jackson A., 2005. *Ciona intestinalis*. A sea squirt. *Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Sub-programme* [on-line]. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom. [citato il 03/02/2006]: <http://www.marlin.ac.uk/species/Cionaintestinalis.htm>.

Jackson A.D. e Smith V.J., 1993. LPS-sensitive protease activity in the blood cells of the solitary ascidian *Ciona intestinalis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**: 505-512.

Jackson A.D., Smith V.J. e Peddie C.M., 1993. In vitro phenoloxidase activity in the blood of *Ciona intestinalis* and other ascidians. *Devel. Comp. Immunol.*, **17**: 97-108.

Johnson P.T. e Chapman F.A., 1970. Comparative studies on the in vitro response of bacteria to invertebrate body fluids. II. *Aplysia californica* and *Ciona intestinalis*. *J. Invertebr. Pathol.*, **16**: 259-267.

Joly J.-S., Kano S., Matsuoka T., Auger H., Hirayama K., Satoh N. e Awazu S., 2007. Culture of *Ciona intestinalis* in closed systems. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, **236**: 1832-40.

Jorgensen C.B. e Goldberg E.D., 1953. Particle filtration in some ascidians and lamellibranch. *Biol. Bull.*, **105**: 477-489.

Jorgensen C.B., Kioerboe T., Moehlenberg F. e Riisgård H.C., 1984. Ciliary and mucus-net filter feeding, with special reference to fluid mechanical characteristics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **15**: 283-292.

Keough M.J., 1983. Patterns of recruitment of sessile invertebrates in two subtidal habitats. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **66**: 213-245.

Kano S., Satoh N. e Sordino P., 2006. Primary genetic linkage maps of the ascidian, *Ciona intestinalis*. *Zool. Sci.*, **23**: 31-39.

Kocak F. e Kucuksezgin F., 2000. Sessile fouling organisms and environmental parameters in the marinas of the Turkish Aegean coast. *Ind. J. Mar. Sci.*, **29**: 149-157.

Kocak F., Ergen Z. e Cinar M.E., 1999. Fouling organisms and their development in a polluted and an unpolluted marina in the Aegean Sea (Turkey). *Ophelia*, **50**: 1-20.

Koechlin N., 1977. Settlement of epifauna of *Spirographis spallanzani*, *Sycon ciliatum* and *Ciona intestinalis* in the harbor of Lezardrieux. *Cah. Biol. Mar.*, **18**: 325-337.

Kott P., 1990. The Australian Ascidae part 2, Aplousobranchia. *Memoirs of the Queensland Museum*, **29**: 1-298.

Lambert G., 1968. The general ecology and growth of a solitary ascidian, *Corella willmeriana*. *Biol. Bull.*, **135**: 296-307.

Lambert G., 2005. Ecology and natural history of the protochordates. *Can. J. Zoolog.*, **83**: 34-50.

Lambert G., 2007. Invasive sea squirts: A growing global problem. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **342**: 3-4.

Lambert C.C. e Lambert G., 1998. Non-indigenous ascidians in southern California harbors and marinas. *Mar. Biol.*, **130**: 675-688.

Lambert, C.C. and Lambert G., 2003. Persistence and differential distribution of non indigenous ascidians in harbors of the Southern Californian Bight. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **259**: 145-161.

Leccese A. e Speziale V., 1967. "I laghi Fusaro e Miseno e l'inquinamento delle loro acque". Jonica Editrice, Taranto, pp. 1-84.

Lemaire P., Smith W.C. e Nishida H., 2008. Ascidiaceans and the plasticity of the chordate developmental program. *Current Biology*, **18**: 620-31.

Liaci Scalera L., Tursi A. e Sciscioli M., 1977. Relazione fra insediamento e riproduzione di *Ciona intestinalis* (L.). *Mem. Biol. Mar. Ocean.*, **7**: 61-74.

Linnaeus, 1767. *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species*. Editio duodecima, Holmiae Impensis Direct. Laurentii Salvi. Pars I, p. 1-532; pars II, p. 533-1327 + [35].

Lo Bianco S., 1909. Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del Golfo di Napoli. *Mittheillungen a. d. Zool. Station zu Neapel*, **19**: 657-664.

Lundälv T., 1971. Quantitative studies on rocky-bottom biocoenoses by underwater photogrammetry. A metodological study. *Thalassia Jugosl.*, **7**: 201-208.

Lundälv T. e Christie H., 1986. Comparative trends and ecological patterns of rocky subtidal communities in the Swedish and Norwwegian Skagerrak area. *Hydrobiologia*, **142**: 71-80.

MacDonald J., 2004. The invasive pest species *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767) reported in a harbour in southern Western Australia. *Mar. Pollut. Bull.*, **49**: 868-870.

Magazzù G. e Panella S., 1969. Cicli di osservazioni chimico-fisiche nel Lago Fusaro. *Boll. Pesca Piscicol. Idrobiol.*, **24**: 171-183.

Mack M.C. e D'Antonio C.M., 1998. Impacts of biological invasions on disturbance regimes. *Trends Ecol. Evol.*, **13**: 195-198.

Marshall D.J. e M.J. Keough. 2003. Effects of settler size and density on early postsettlement survival of *Ciona intestinalis* in the field. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **259**: 139-144.

Marin M.G., Bressan M., Beghi L. e Brunetti R., 1987. Thermo-aline tolerance of *Ciona intestinalis* (L., 1767) at different developmental stages. *Cah. Biol. Mar.*, **28**: 47-57.

Matsumoto J., Dewar K., Wasserscheid J., Wiley G.B., Macmil S.L., Roe B.A. e Zeller R.W., 2010. High-throughput sequence analysis of *Ciona intestinalis* SL trans-spliced mRNAs: Alternative expression modes and gene function correlates. *Genome Research*, **20**: 636-45.

Mazzola A. e S. Riggio 1977. Fouling of Palermo harbour. 2nd Contribution. *Mem. Biol. Mar. Oceanogr.*, **6** (Supplemento): 41-43.

Mazouni N., Gartner J.-C. e Deslou-Paoli J.M., 2001. Composition of fouling communities on suspended oyster cultures: an *in situ* study of their interactions with the water column. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **214**: 93-102.

Michibata H. 1984. Comparative study on amounts of trace elements in the solitary ascidians, *Ciona intestinalis* and *Ciona robusta*. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, **78A**: 285-288.

Michibata H., Uyama T., Ueki T. e Kanamori K., 2001. The mechanism of accumulation and reduction of vanadium by ascidians. In: “*The biology of ascidians*”, Sawada H., Yokosawa H., and Lambert C.C.(eds.), Springer-Verlag, Tokyo. pp. 363-373.

Millar R.H., 1952. The annual growth and reproductive cycle in four ascidians. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **31**: 41-61.

Millar R.H., 1953. *Ciona*. L.M.B.C. Memoirs on typical British marine plants and animals, XXXV, pp i-iv + 184, XIX tavole.

Millar R.H., 1966. “*Ascidaceae*”. Scandinavian University Books. Oslo, Norway. pp: 1-123.

Millar, R.H. 1970. British Ascidians: Ascidiacea: keys and notes for the identification of species. *Linnean Society of London*. pp. 3-5.

Millar R.H., 1971. The biology of ascidians. *Adv. mar. Biol.*, **9**: 1-100.

Monniot C., Monniot F. e Laboute P., 1991. “*Coral reef ascidians of New Caledonia*”. Coléction faune tropicale XXX. ORSTOM Editions, Paris.

Naranjo S.A., Carballo J.L. e Garcia-Gomez J.C., 1996. Effects of environmental stress on ascidian populations in Algeciras Bay (southern Spain). Possible marine bioindicators? *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **144**: 119-131.

Naylor E., 1965. Effects of heated effluents upon marine and estuarine organisms. *Adv. mar. Biol.*, **3**: 63-103.

Nicol E., 1935. The ecology of a salt-marsh. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **20**: 203-261.

Nydam M.L. e Harrison R.G., 2011. Genealogical relationships within and among shallow-water *Ciona* species (Ascidiacea). *Mar. Biol.*, DOI 10.1007/s00227-007-0617-0

Ooishi S. e O'Reilly, M. G. 2004. Redescription of *Haplostoma eruca* (Copepoda: Cyclopoida: Ascidicolidae) living in the intestine of *Ciona intestinalis* from the Clyde Estuary, Scotland. *J. Crustacean Biol.*, **24**: 9-16.

Oliveira Marins de, da Silva Oliveira, Vieira Maciel e Skinner, 2009. Reinclusion of *Ciona intestinalis* (Ascidiacea: Cionidae) in Brazil—a methodological view. *JMBA2 – Biodivers. Rec.*, 1-5.

Osman R.W. e Whitlatch R.B., 2004. The control of the development of a marine benthic community by predation on recruits. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **311**: 117-145.

Parrinello N., Arizza V., Cammarata M., e Parrinello D.M., 1993. Cytotoxic activity of *Ciona intestinalis* (Tunicata) hemocytes: Properties of the in vitro reaction against erythrocyte targets. *Dev. Comp. Immunol.*, **17**: 19-27.

Papadopoulou C. e Kania G.D., 1977. Tunicate species as marine pollution indicators. *Mar. Pollut. Bull.*, **8**: 229-231.

Pastore M., 2001. Copepods associated with *Phallusia mamillata* and *Ciona intestinalis* (Tunicata) in the area of Taranto (Ionian Sea, southern Italy). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **81**: 427-432.

Peddie C.M. e Smith V.J., 1994. Mechanism of cytotoxic activity by hemocytes of the solitary ascidian, *Ciona intestinalis*. *J. Exp. Zool.*, **270**: 335-342.

Pérès J.M., 1952. Recherches sur le cycle sexuel de *Ciona intestinalis* (L.). *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **41**: 153-183.

Pérès J.M. e Picard J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranéenne. *Recl. Trav. Stn. Mar. Endoume*, **31**: 5– 137.

Petersen J.K., Mayer S. e Knudsen M.A., 1999. Beat frequency of cilia in the branchial basket of the ascidian *Ciona intestinalis* in relation to temperature and algal cells concentration. *Mar. Biol.*, **133**: 185-192.

Petersen J.K. e Riisgård H.U., 1992. Filtration capacity of the ascidian *Ciona intestinalis* and its grazing impact in a shallow fjord. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **88**: 9-17.

Petersen J.K. e Svane. I., 1995. Larval dispersal in the ascidian *Ciona intestinalis* (L.): evidence for a closed population. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **186**: 89-102.

Pignatelli S., 2010. *Caratterizzazione chimico-fisica delle acque e dei sedimenti della Laguna di Fusaro in vista di uno studio su Ciona intestinalis quale potenziale organismo bioindicatore*. Tesi Sperimentale in Chimica dell'Ambiente, Facoltà di Scienze MM. FF. NN., Corso di Laurea in Scienze Ambientali, pp. 1-83.

Procaccini G., Affinito O., Toscano F., e Sordino P., 2011. A new animal model for merging ecology and evolution. In: *Evolutionary Biology - Concepts: Biodiversity, Macroevolution and Genome Evolution*. pp. 91-106, Berlin Heidelberg:Springer-Verlag, doi: DOI: 10.1007/978-3-642-20763-1_6.

Randlov A. e Riisgård H.U., 1979. Efficiency of particle retention and filtration rate in four species of ascidians. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **1**: 55-59.

Relini G., 1964. Andamento stagionale degli organismi sessili del porto di Genova. *Archo. Oceanogr. Limnol*, **13**: 281-296.

Rhinehart K.L., 2000. Antitumour compounds from tunicates. *Med. Res. Rev.*, **20**: 1-27.

Riisgård H.U., Jensen A.S. e Jurgensen C., 1998. Hydrography, near-bottom currents, and grazing impact of the filter-feeding ascidian *Ciona intestinalis* in a Danish Fjord. *Ophelia*, **49**: 1-16.

Riisgård, H.U., Jurgensen C. e Clausen T., 1996. Filter-feeding ascidians (*Ciona intestinalis*) in a shallow cove: implications of hydrodynamics for grazing impact. *J. Sea Res.*, **35**: 293-300.

Rittmann A., 1950. Rilievo Geologico dei Campi Flegrei. *Boll. Soc. Geol. It.*, **69**: 117-128.

Robbins I.J., 1983. The effects of body size, temperature, and suspension density on the filtration and ingestion of organic particulate suspensions by ascidians. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **70**: 65-78.

Robbins I.J., 1984. The regulation of ingestion rate, at high suspended particulate concentrations, by some phlebobranchiate ascidians. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **82**: 1-10.

Robbins I.J., 1985a. Food passage and defaecation in *Ciona intestinalis* (L.); the effects of suspension quantity and quality. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **89**: 247-254.

Robbins, I.J. 1985b. Ascidian growth and survival at high inorganic particulate concentrations. *Mar. Pollut. Bull.*, **16**: 365-367.

Rosati F. e de Santis R. 1978. Studies on fertilization in the ascidans. 1. Self-sterility and specific recognition between gametes of *Ciona intestinalis*. *Exp. Cell Res.*, **112**: 111-119.

Runnström S., 1929. Weitere Studien über die Temperaturanpassung der Fortpflanzung und Entwicklung mariner Tiere. *Bergens Mus. Årbok Naturv.*, rekke N. 10.

Runnström S., 1936. Die Anpassung der Fortpflanzung und Entwicklung mariner Tiere an die Temperaturverhältnisse verschiedener. *Bergens Mus. Årbok Naturv.*, rekke N. 3.

Sabbadin A., 1958. Il ciclo biologico di *Ciona intestinalis* (L.), *Molgula manhattensis* (De Kay) e *Styela plicata* (Lesuer) nella laguna veneta. *Archivio di Oceanografia e Limnologia*, **11**: 1-28.

Sacchi C.F., 1979. The coastal lagoons of Italy. In: “*Ecological Process in Coastal Environments*”, Jefferies R.L. and Davy A.J (Eds), 593-601.

Sacchi C.F. e Renzoni A., 1962. L'écologie de *Mytilus galloprovincialis* dans l'étang littoral du Fusaro et les rythmes annuels et nichéméraux des facteur environnants. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, **32** (Supplemento): 255-293.

Sacchi C.F. e Testard P., 1980. “*Ecologia animale. Organismi e ambiente*”. Bulzoni Editore, Roma, pp. 1-527.

Sarno D., Zingone A., Saggiomo V. e Carrada G.C., 1993. Phytoplankton biomass and species composition in a Mediterranean coastal lagoon. *Hydrobiologia*, **271**: 27-40

Sato A., Satoh N. e Bishop J.D.D., 2012. Field identification of “types” A and B of the ascidian *Ciona intestinalis* in a region of sympatry. *Mar. Biol.*, **159**: 1611-1619.

Satou Y., Shin-i T., Kohara Y., Satoh N., Chiba S., 2012. A genomic overview of short genetic variations in a basal chordate, *Ciona intestinalis*. *BMC Genomics*, **30**: 13-208.

Scalera Liaci L., Tursi A. e Sciscioli M., 1977. Relazione tra insediamento e riproduzione di *Ciona intestinalis* (L.). *Mem. Biol. Mar. Ocean.*, **7**: 61-74.

Schmidt G.H., 1983. The hydroid *Tubularia larynx* causing 'bloom' of the ascidians *Ciona intestinalis* and *Asciidiella aspersa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **12**: 103-105.

Schmidt G.H. e Warner G.F., 1984. Effects of caging on the development of a sessile epifaunal community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **15**: 251-263.

Shumway S.E., 1978. Respiration, pumping activity and heart rate in *Ciona intestinalis* exposed to fluctuating salinities. *Mar. Biol.* **48**: 235-242.

Sordino P. e Gambi M.C., 1989. Il popolamento a policheti del Lago Fusaro. *Oebalia*, **15**: 337-340.

Sordino P., Gambi M.C. e Carrada G.C., 1989. Spatio-temporal distribution of polychaetes in an Italian coastal lagoon (Lago Fusaro, Naples). *Cah. Biol. Mar.*, **30**: 375-391.

Svane I., 1983. Ascidian reproductive patterns related to long-term population dynamics. *Sarsia*,: 249-255.

Svane I. e Havenhand J.N., 1993. Spawning and dispersal in *Ciona intestinalis* (L.). *P.S.Z.N. I: Mar. Ecol.*, **14**: 53-66.

Svane I. e Lundälv T., 1981. Reproductive pattern and population dynamics of *Ascidia mentula* O.F. Müller on the Swedish coast. *J. Mar. Biol. Ecol.*, **50**: 163-182.

Svane I. e Lundälv T., 1982. Population dynamics and reproductive pattern of *Boltenia echinata* (Asciidiacea) on the Swedish west coast. *Neth. J. Sea Res.*, **16**: 105-118.

Swinehart J.H., Biggs W.R., Halko D.J. e Schroeder N.C., 1974. The vanadium and selected metal contents of some ascidians. *Biol. Bull.*, **146**: 302-312.

Tursi A., 1980a. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque lagunari e costiere italiane. AQ/1/93. 4. *Ascidieci*. pp. 1-84.

Tursi A., 1980b. Quelques aspects de la fixation de *Ciona intestinalis* (L.) - Tunicata. *Vie Milieu*, **30**: 243-251.

Tsagkogeorga G., Turon X., Hopcroft R.R., 2009. An updated 18S rRNA phylogeny of tunicates based on mixture and secondary structure models. *BMC Evolutionary Biology*, **9**: 1-16.

Yamaguchi M., 1970. Spawning periodicity and settling time in ascidians, *Ciona intestinalis* and *Styela plicata*. *Records of Oceanographic Works in Japan*, **10**: 147-155.

Yamaguchi M., 1975. Growth and reproductive cycles of marine fouling ascidians *Ciona intestinalis*, *Styela plicata*, *Botrylloides violaceus*, and *Leptoclinum mitsukurii* at Aburatsubo – Moriso Inlet (Central Japan). *Mar. Biol.*, **121**: 253-259.

Yang T.W. e Lee T.Y., 1978. Gametogenesis and reproductive cycle of an ascidian, *Ciona intestinalis* (Linne). *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan*, **11**: 19-28 (In ideogrammi coreani, riassunto in inglese).

Yoshida M. K., Inaba F. e Morisawa M., 1993. Sperm chemotaxis during the process of fertilization in the ascidians *Ciona savignyi* and *Ciona intestinalis*. *Dev. Biol.* **157**: 497-506.

Vázquez E. e Young C.M., 2000. Effects of low salinity on metamorphosis in estuarine colonial ascidians. *Invertebr. Biol.*, **119**: 433-444.