



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato Di Ricerca In Biologia Ambientale E Biodiversita'  
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF)  
Sezione di Biologia Animale  
Area 05 Scienze Biologiche Settore Scientifico Disciplinare Bio/05 Zoologia

## APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE ALLO STUDIO DELLE BIOCONSTRUZIONI DI *Sabellaria* sp. (Annelida: Polychaeta) NEL MEDITERRANEO E ALLA FAUNA AD ESSE ASSOCIATA

IL DOTTORE  
**EUGENIA SCHIMMENTI**

IL COORDINATORE  
**PROF. MARCO ARCULEO**

IL TUTOR  
**PROF. SABRINA LO BRUTTO**

IL CO - TUTOR  
**DOTT. LUIGI MUSCO**

CICLO: XXIX  
ANNO 2017

## Sez. 1 – FORMAZIONE: Corsi, Seminari, Congressi e Workshop seguiti

### 2014

- Seminario “*La sicurezza sociale dei giovani ricercatori: situazione pensionistica e accesso al credito*” – APRE.

Relatori: prof. Carlo Amenta e dott. Francesco Merendino, Rappresentante Settore formazione per la ricerca, UNIPA, Rappresentante ufficio gestione previdenziale, UNIPA

Sede: Aula C330 - Edificio 7 - Viale delle Scienze

4 Febbraio 2014

- Corso di formazione “*Occasioni di finanziamento della ricerca e della mobilità in ambito europeo - Le Marie Sklodowska- Curie Actions (MSCA) e l’ERC in Horizon 2020*” - APRE.

Relatore: Prof. Diego Planeta

Sede: Aula C310-C320 - Edificio 7 - Viale delle Scienze- UNIPA

20-21 Febbraio 2014

- UZI Spring School - “*Population Biology and Population Genetics*”

Coordinatore: Prof. Tomaso Patarnello, Università di Padova

Sede: Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Venezia.

30 Maggio - 1 Giugno 2014

- Seminario: “*Population Genetics and Phylogeography*”

Relatore: Prof. Steward Grant, University of Anchorage, Alaska.

Sede: Dip. STEBICEF- UNIPA

14-15 Giugno 2014

- 75° Congresso nazionale dell’unione Zoologica italiana - Uzi

Coordinatore: Prof. Elvira De Matthaëis, Università la Sapienza di Roma

Sede: Università degli Studi di Bari

22-25 Settembre 2014

- Corso di preparazione IELTS – Lingua Inglese

Coordinatore: Prof. Arthur Richard Miles

Sede: Centro Linguistico di Ateneo (CLA), UNIPA.

Marzo- Settembre 2014

- Corso di formazione: “*Metodologie di comunicazione per la didattica universitaria*” - Human Resouce

Relatore: prof. Arabella Mocciaro

Sede: Aula C310-C320 - Edificio 7 - Viale delle Scienze- UNIPA

14-15 Ottobre 2014

- Seminario: “*The evolution of Tooh-Combed Primates*”

Relatore: Prof. essa Judith C. Masters – University of Fort Hare- Eastern Cape Province, South Africa

Sede: Dip. STEBICEF- UNIPA

20 Ottobre 2014

- Corso di formazione: “*Author’s Workshop Unipa- Springer*”  
Relatori: dott. Francesca Bonadei e dott. Elisa Magistrelli  
Sede: Aula Capitò, Edificio 7 - Viale delle Scienze- UNIPA  
05 Novembre 2014

## 2015

- Congresso: *Young Natural History scientists' Meeting*.  
Muséum national d'Histoire naturelle 45 rue Buffon, CP 50. 75005  
Paris  
04-06 Febbraio 2015
- Seminario: “*Fisheries mismanagement*”  
Relatore: Prof. Magnus Johnson- University of Hull, UK  
Sede: Aula C2, via Archirafi 20.  
Palermo  
11 Maggio 2015
- 46° Congresso Della Società Italiana Di Biologia Marina- SIBM  
Coordinatore: Giovanni Fulvio Russo  
Sede: Sede Centrale Del Consiglio Nazionale Delle Ricerche  
Roma  
10-12 Giugno 2015
- Seminario: “*Molecular methods in species identification and strain typing*”  
Relatore: Prof. Artur Jorge da Costa Alves  
Sede: Aula G, Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali. Viale delle Scienze.  
Palermo  
02 Settembre 2015
- Seminario: “*Phylogenetic analysis of sequence data I-II and strain typing*”  
Relatore: Prof. Artur Jorge da Costa Alves  
Sede: Aula G, Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali. Viale delle Scienze.  
Palermo  
03 Settembre 2015
- 76° Congresso nazionale dell’unione Zoologica italiana - Uzi  
Comitato organizzatore: Anna Maria Fausto, Carlo Belfiore, Francesco Buonocore, Romolo Fochetti.  
Massimo Mazzini, Simona Picchietti, Nicla Romano, Giuseppe Scapigliati, Marzio Zapparoli  
Sede: Università degli Studi della Tuscia  
Viterbo  
15-18 Settembre 2015
- Workshop “Alieni tra noi”: una giornata alla scoperta delle specie che stanno alterando gli ecosistemi del Mediterraneo.  
Sede: Museo di Zoologia Pietro Doderlein, - Università degli Studi di Palermo  
Via Archirafi 16, Palermo  
22 Dicembre 2015

## 2016

- Seminario: "Non-Euclidean Anatomy: Micro-ct as a Tool for Revealing Biology in 3 and 4 Dimensions & The Virtual Museum of Natural History".

Coordinatore: Dr. Ch. Arvanitidis

Relatore: Prof. James Michealson (Professore Associato, Dipartimento di Patologia, Facoltà di Medicina di Harvard)

19 Maggio 2016

- 47° Congresso Della Società Italiana Di Biologia Marina- SIBM

Comitato organizzatore: Daniela Pessani, Battuello Marco, Di Muzio Giorgia, Favaro Livio, Mussat Sartor Rocco, Nurra Nicola, Ozella Laura, Varese Cristina.

Sede: Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi- Università degli Studi di Torino  
Torino

13-17 Giugno 2016

- 1° Congresso Nazionale Congiunto SITE–UZI–SIB

Presidenti delle tre società: Serena Fonda Umani, Elvira De Matthaeis, Valerio Sbordoni.

Sede: Università degli Studi Milano Bicocca

Milano

30 Agosto- 2 Settembre 2016

- III Corso di Statistica per Ornitologi, Ecologi e Naturalisti: "*Introduzione alla statistica con R*"

Relatore: Prof. Roberto Ambrosini- Università degli Studi Milano Bicocca

Sede: Università degli Studi di Palermo

Palermo

20-23 Settembre 2016.

- Stage di formazione per elaborazione dati

Coordinatore: Prof. Roberto Guidetti

Sede: Università degli Studi di Modena

08-19 Novembre 2016

## Soggiorno all'estero

Sede: Hellenic Center for Marine Research- Heraklion – Creta

Periodo: 17 Febbraio- 24 Maggio 2016

Tutor: Dott. Lucia Fanini

Attività svolte:

- Training su Tassonomia tradizionale (studio caratteri morfologici e morfometrici) integrata con metodi innovativi (Microscopio elettronico a scansione e Micro-ct)
- Etologia ed Ecologia di specie della macrofauna di fascia costiera (analisi comportamentali ed esperimenti di sopravvivenza).

## Sez. 2 - PRODUZIONE SCIENTIFICA

### **Pubblicazioni (vedi Allegati)**

- Schimmenti E., Lo Brutto S., Badalamenti F., Giangrande A., Mikac B., Musco L., (2015). Dna-Barcoding to solve the tricky case of co-occurring *Sabellaria* (Annelida) species in the Mediterranean Sea. *Biologia Marina Mediterranea*, 109-110
- Schimmenti E., Musco L., Lo Brutto S., Mikac B., Nygren A., Badalamenti F., (2015). Mediterranean record of *Eulalia ornata* (Annelida: Phyllodocidae) corroborating its fidelity link with the *Sabellaria alveolata* reef Habitat. *Mediterranean Marine Science*, 359-370
- Lo Brutto S., Iacofano D., Schimmenti E., Lubinevsky H., Galil S.B., Bazan B., (2016). Environmental quality of soft-bottom in Haifa Bay (Israel): Amphipod Assemblages. *Biologia Marina Mediterranea*

### **Poster e Presentazioni orali a Congressi Internazionali e Nazionali**

- Musco L., Lo Brutto S., Iacofano D., Mikac B., Schimmenti E., Vega Fernandez T., Badalamenti F.  
First Mediterranean record and DNA-Barcode of *Eulalia ornata* (Phyllodocidae, Annelida) associated to *Sabellaria alveolata* (Sabellariidae, Annelida) Reefs.  
75° Congresso dell'Unione Zoologica Italiana - Bari (Italia) – 22-25 Settembre 2014
- Schimmenti E., Lo Brutto S., Mikac B., Badalamenti F., Musco L.  
*Sabellaria alveolata* (Annelida: Sabellariidae) Reefs in the Mediterranean Sea (Southern Sicily).  
2<sup>nd</sup> Young Natural History scientists' Meeting - Muséum national d'Histoire naturelle – Parigi – (Francia) – 04-06 Febbraio 2015
- Iacofano D., Schimmenti E., Lo Brutto S.  
Integrative Taxonomy: A multidisciplinary approach used to detect intra-species morphological variation on *Orchestia montagui* Audouin, 1826 (Crustacea: Amphipoda).  
76° Congresso Uzi (Unione Zoologica Italiana) - Viterbo (Italia) – 15-18 Settembre 2015
- Lo Brutto S., Iacofano D., Schimmenti E., Arculeo M.  
Taxonomy Lab: a sentinel for Mediterranean bioinvasions.  
EuroMarine workshop - Management of bioinvasions in the Mediterranean Sea - the way forward Ischia (Napoli, Italia) – 04-05 Maggio 2016
- Lo Brutto S., Iacofano D., Schimmenti E., Musco L.  
The Taxonomy Lab: a lookout in the Mediterranean Sea.  
1° Congresso Nazionale Congiunto SITE – UZI – SIB - Milano (Italia) – 30 Agosto – 02 Settembre 2016

Sez. 3 - TESI

APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE ALLO STUDIO DELLE  
BIOCOSTRUZIONI DI *Sabellaria* sp. (Annelida: Polychaeta) NEL  
MEDITERRANEO E ALLA FAUNA AD ESSE ASSOCIATA

<b>INDICE</b>	<b>Pag.</b>
1 – INTRODUZIONE	8
1.1 – Obiettivi della ricerca	8
1.2 – Inquadramento geografico dell’area di studio: il Canale di Sicilia	10
1.3 – Le biocostruzioni di <i>Sabellaria alveolata</i> (Linnaeus, 1767): caratteristiche strutturali ed ecologiche	13
1.3.1 – Distribuzione dei reef di <i>S. alveolata</i> in Atlantico e nel Mediterraneo	18
1.4 – La specie biocostruttrice: <i>Sabellaria alveolata</i> (Linnaeus, 1767)	21
1.4.1 – Sistematica e caratteri diagnostici	21
1.4.2 – L’opercolo in <i>Sabellaria</i> sp.	26
1.4.3 – Descrizione sistema alimentare in <i>S. alveolata</i>	28
1.4.4 – Ciclo vitale in <i>Sabellaria</i> sp.	30
1.5 – Cenni sui principali taxa associati ai reef di <i>S. alveolata</i>	33
2 – MATERIALI E METODI	37
2.1 – Area di studio e Campionamento	37
2.2 – Sorting	38
2.3 – Identificazione dei taxa presenti nelle biocostruzioni	40
2.4 – Identificazione morfologica genere <i>Sabellaria</i>	40
2.5 – Osservazioni al Microscopio elettronico a scansione (SEM) genere <i>Sabellaria</i>	41
2.6 – Osservazioni mediante Microtomografia computerizzata (Micro-ct) genere <i>Sabellaria</i>	43
2.7 – Analisi delle dimensioni opercolari in <i>S. alveolata</i>	45
2.8 – Identificazione morfologica della fauna associata ai reef di <i>S. alveolata</i>	48
2.9 – Identificazione molecolare	50
2.10 – Analisi dei dati: indici di diversità	54
2.11 – Analisi statistiche multivariate	56
2.12 – Creazione Collezioni Museali	58
3 – RISULTATI	59
3.1 – Osservazione della struttura dei tubi nelle formazioni	59
3.2 – Analisi delle dimensioni opercolari in <i>S. alveolata</i>	60
3.3 – Taxa presenti nei reef	66
3.4 – Identificazione dei caratteri tassonomici nel genere <i>Sabellaria</i>	70
3.4.1 – Identificazione morfologica tradizionale	70
3.4.2 – Caratterizzazione al SEM genere <i>Sabellaria</i>	74
3.4.3 – Osservazioni al Micro-ct genere <i>Sabellaria</i>	77
3.5 – Sistematica ed identificazione morfologica Famiglia Phyllodocidae Örsted, 1843	81
3.6 – Sistematica ed identificazione morfologica Famiglia Syllidae Grube, 1850	85
3.7 – Sistematica ed identificazione Ordine Amphipoda Latreille, 1816	89
3.8 – Identificazione molecolare genere <i>Sabellaria</i> in Mediterraneo	92
3.9 – Identificazione molecolare specie <i>Eulalia ornata</i> in Mediterraneo	94
3.10 – Descrizione delle Collezioni di Policheti-Anfipodi del Museo di Zoologia “P. Doderlein”	97
3.11 – Analisi dei dati: indici di diversità	100
3.12 – Confronto habitat delle tre località: analisi statistiche multivariate	103
4 – DISCUSSIONE	111
APPENDICE	134
5 – BIBLIOGRAFIA	140
ALLEGATI	156

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 Obiettivi della ricerca

L'attività di ricerca condotta nell'ambito del corso di dottorato ha avuto l'obiettivo di approfondire le conoscenze su un particolare habitat costituito dalla comunità bentonica che si insedia nelle biocostruzioni (*reef*) edificate dal polichete *Sabellaria alveolata* Linneo, 1767 (e per questo anche denominate *sabellarieti*), presenti nel Canale di Sicilia del Mediterraneo centrale.

Tali formazioni costituiscono vere e proprie “scogliere” organogene anche imponenti ed estese in aree costiere temperate e tropicali di tutto mondo. Considerati habitat preziosi essi vengono elencati nell'allegato 1 della Direttiva Habitat (Council Directive EEC/92/43) come habitat marini da proteggere per la designazione di aree speciali di conservazione.

I *reef* di *S. alveolata* vengono anche elencati tra le principali biocostruzioni presenti nel Mediterraneo, all'interno del quale tuttavia appaiono ancora poco conosciuti e studiati, soprattutto se confrontati con quelli atlantici. Lo studio di tali *reef* presenti in tre località del Canale di Sicilia rappresenta difatti l'unico contributo alla conoscenza dei sabellarieti del Mediterraneo centrale, unica segnalazione relativamente recente nella suddetta area, dopo il singolo *record* di Molinier & Picard presso San Leone (Agrigento) nel 1953 a cui non è associato nessun approfondimento di carattere faunistico o ecologico.

La ricerca ha contribuito a colmare le lacune esistenti in merito alle informazioni disponibili su questo importante habitat marino nel bacino del Mediterraneo sostenendo una migliore comprensione del biota associato a tale habitat.

Lo studio delle biocostruzioni del Canale ha inoltre aiutato a valorizzare questo habitat in una area biogeografica di grande interesse ecologico, il Canale di Sicilia, uno dei punti a più alta biodiversità del Mediterraneo che grazie alle sue peculiari caratteristiche topografiche ed oceanografiche favorisce la presenza di una notevole varietà di specie, pelagiche e bentoniche.

In dettaglio i principali obiettivi di questa tesi sono stati:

**Obiettivo I:** fornire un quadro di dati il più possibile completo sulla specie costruttrice *S. alveolata* e sulla coesistente *S. spinulosa* (Leuckart, 1849) segnalate nei *reef* del Canale di Sicilia. La necessità di realizzare questa parte della ricerca è nata dalla mancanza di informazioni sulla capacità delle due specie congeneriche di coesistere all'interno delle formazioni. Fino ad oggi infatti studi disponibili sul Mediterraneo hanno suggerito che le due specie edificano *reef* rispettivamente nella parte occidentale ed orientale del bacino. Inoltre tra le due specie si registra una differente

disponibilità di dati morfologici, biologici e di distribuzione, con informazioni spesso meno dettagliate per *S. spinulosa* rispetto che per *S. alveolata* considerata un modello biologico ed ecologico nello studio del genere.

**Obiettivo II:** analizzare la struttura dei *reef* ed identificare la fauna ad essi associata. Lo studio degli *assemblage* delle specie presenti nelle formazioni e la possibilità di classificare le stesse in “caratteristiche”, “preferenziali” o “rare”, ha permesso di valutare la peculiarità e la preziosità di tali biocostruzioni nell’offrire benefici ecosistemici all’ambiente in cui si sviluppano, rappresentati principalmente dal garantire riparo e dal costituire una fonte di cibo per i numerosi organismi che vi abitano.

Al fine di raggiungere tali obiettivi, lo studio è stato condotto mediante un approccio multidisciplinare con analisi tassonomiche integrate con osservazioni di microscopia elettronica (SEM), microtomografia (Micro-ct) e analisi molecolari che hanno reso possibile l’identificazione dei principali taxa presenti. Analisi ecologiche-statistiche hanno permesso infine di testare i pattern di distribuzioni delle principali specie identificate. Lo studio costituisce pertanto un esempio di come la tassonomia tradizionale integrata con approcci moderni, costituisca il fondamento della biologia utile allo studio della biodiversità su diversi livelli gerarchici (diversità intra-specifica, inter-specifica, di comunità), alla risoluzione di ambiguità tassonomiche o alla segnalazione di nuove specie. Infine la ricerca ha posto l’attenzione sulla crescente consapevolezza dell’importanza e della necessità di monitorare e proteggere la biodiversità, un tesoro per certi aspetti ancora nascosto, mediante ogni forma di conservazione.

A tale riguardo la creazione di una collezione museale degli organismi bentonici campionati nei *reef* e conservati presso il Museo di Zoologia «P. Doderlein» dell’Università degli Studi di Palermo ha voluto sottolineare la rilevanza della conservazione museale come archivio storico della biodiversità, finalizzata alla catalogazione, alla valorizzazione e alla fruizione dei patrimoni scientifici. In particolare la collezione realizzata, seppur necessita di minore entità, rappresenta un riferimento per i futuri studi scientifici e tassonomici su alcuni gruppi di invertebrati marini del Mediterraneo rinvenuti nei *reef* a *Sabellaria* spp.

## 1.2 Inquadramento geografico dell'area di studio: il Canale di Sicilia

Il presente studio è stato svolto in un settore centrale del Mar Mediterraneo: il Canale di Sicilia, un'area compresa tra la costa meridionale della Sicilia e la costa settentrionale dell'Africa (Fig. 1).

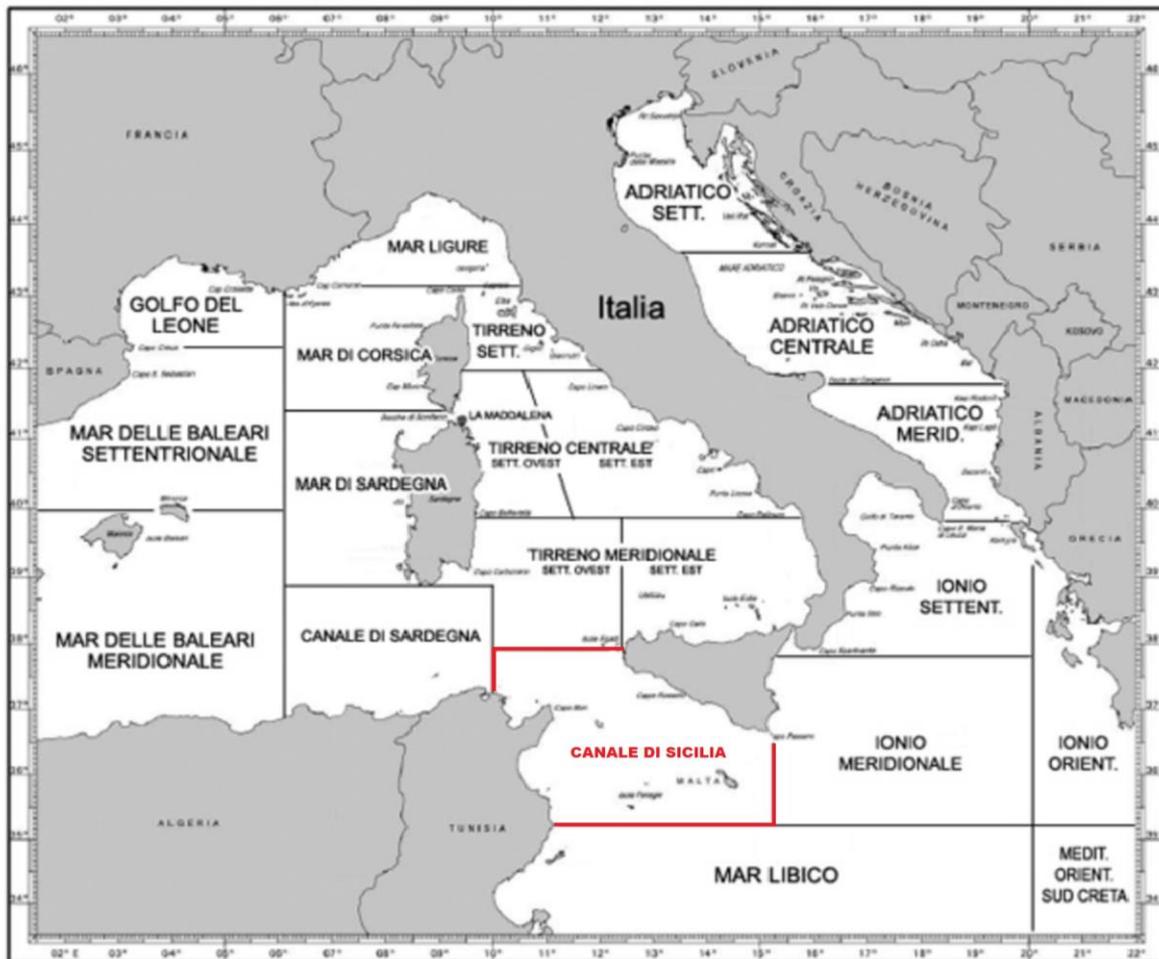


Fig. 1 – Settori del Mar Mediterraneo - Catalogo Generale delle Carte Nautiche - Ist. Idr. della Marina

Il Canale di Sicilia è un tratto di mare dalla forma trapezoidale, che separa la Sicilia dalla Tunisia, con una distanza minima tra le coste di circa 120 Km, registrata nella zona Nord Ovest, tra Mazara del Vallo (Trapani, Italia) e Capo Bon (Tunisia), e una distanza massima (circa il triplo) raggiunta nella zona Sud-Est, tra la costa libica e quella siciliana. Oggi è considerato uno dei punti a più alta biodiversità del Mediterraneo grazie alle sue peculiari caratteristiche topografiche ed oceanografiche che favoriscono la presenza di una notevole varietà di specie pelagiche e bentoniche (Bianchi & Morri, 2003; Bianchi, 2007; Garofalo et al., 2007; Bianchi et al., 2012). Dal punto di vista topografico è una regione complessa costituita da due alti rilievi (Banco Avventura e piattaforma Siculo-Maltese) separati da un bacino interno profondo. Il Canale costituisce una zona di transizione, che connette il bacino occidentale del Mediterraneo con quello orientale (Astraldi et

al., 1999; Gasparini et al., 2005). Esso è diviso da una cresta longitudinale in due canali, ciascuno con differenti sezioni trasversali. Il canale sul lato siciliano è molto stretto e ha una profondità massima di 430 m, mentre sul lato tunisino esso appare più ampio e meno profondo, data la profondità massima di circa 360 m. In generale, la batimetria della regione è molto complessa ed esercita una forte influenza sulle masse d'acqua che scorrono attraverso il Canale (Astraldi et al., 1999).

Nel Canale di Sicilia la circolazione può essere schematizzata con un modello a due strati che prevede il fluire verso Est della corrente Atlantica modificata (MAW, *Modified Atlantic Water*) nello strato più superficiale entrante nel Mediterraneo attraverso lo Stretto di Gibilterra con salinità bassa, e il fluire verso Ovest della corrente intermedia proveniente dal Levante (LIW, *Levantine Intermediate Water*) con salinità maggiore, che si muove in direzione opposta. A tali correnti si aggiungono correnti profonde dalle differenti caratteristiche chimico-fisiche che determinano una influenza sulla fauna locale (Napolitano et al., 2003; Béranger et al., 2005).

Il modello di circolazione prevede inoltre che in corrispondenza della parte più occidentale del Canale di Sicilia, seguendo prevalentemente la costa nordafricana, la MAW si biforca dando origine alla “*Atlantic Ionian Stream*” (AIS) (Robinson et al., 1999), una corrente che trasporta acqua atlantica più calda e meno salata verso il mar Ionio, e alla “*Atlantic Tunisian Current*” (ATC) che fluisce verso la costa tunisina (Lermusiaux & Robinson, 2001; Béranger et al., 2005).

La circolazione nel Canale è lo “specchio” della circolazione generale che interessa l'intero bacino del Mediterraneo, caratterizzata dall'entrata, in corrispondenza di Gibilterra, di acque superficiali atlantiche e dalla fuoriuscita di acque mediterranee profonde (Astraldi et al., 1999; Poulain & Zambianchi, 2007). La salinità media è di circa 38‰, in profondità si raggiungono 38,4‰. La temperatura della superficie varia dai 14°C in febbraio a 22-24°C in Giugno-Luglio (Robinson et al., 1999; Gasparini et al., 2005).

Un fenomeno tipico dell'area oggetto di studio è l'upwelling, ossia la risalita in superficie di acque più profonde indotta dal vento. Nel Canale di Sicilia tale caratteristica è evidenziata dalla presenza di una striscia d'acqua relativamente fredda, che suggerisce la costante risalita di acqua sub-superficiale (Piccioni et al., 1988; Drago & Sorgente, 2010).

L'insieme di tali caratteristiche idrografiche del Canale sembrano condizionare il ciclo riproduttivo e la sopravvivenza di molte specie marine contribuendo, in modo diretto, alla dispersione, al trasporto, alla ritenzione di uova e larve, all'arricchimento in nutrienti e alla concentrazione del cibo (indotto da upwelling), e in modo indiretto inducendo il cambiamento delle caratteristiche chimico-fisiche (temperatura, salinità, nutrienti) dell'area (Bakun, 1996, 1998; Cuttitta et al., 2003).

Le caratteristiche oceanografiche del Canale sembrano poter favorire il diffondersi dei *reef* di *S. alveolata*, biocostruzioni che normalmente crescono parallelamente alla linea di costa, in direzione delle principali correnti di marea e in presenza di acque da upwelling (Dubois et al., 2006), nell'intertidale o nel subtidale poco profondo (De Grave & Whitaker, 1997) in condizioni ambientali adeguate quali idrodinamismo e temperatura moderati, salinità mai troppo bassa e disponibilità di substrati duri (Holt et al., 1998).

Eventuali differenze nella struttura e nella composizione faunistica dei *reef* potrebbero essere dovuti alla posizione centrale del Canale nel bacino del Mediterraneo che svolge un ruolo cruciale nel passaggio delle masse d'acqua e nel trasporto di organismi colonizzatori, o alla morfologia del tratto di costa in esame caratterizzato prevalentemente da fondali sabbiosi localmente intervallati da coste rocciose o da praterie di *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile, 1813 (De Falco et al., 2003; Garafolo et al., 2007).

Tuttavia attualmente pochi sono i dati posseduti in merito alla presenza e alla diversità dei *reef* nel Canale di Sicilia. All'interno di tale area l'unica segnalazione di *reef* di *Sabellaria alveolata* riguarda un singolo *record* di Molinier & Picard presso le coste di San Leone (Agrigento, costa meridionale della Sicilia) nel 1953. Ciò nonostante alla segnalazione non è associato nessun approfondimento di carattere faunistico o ecologico, ad esclusione di poche informazioni riguardanti l'estensione della formazione (circa 50 m), la profondità (compresa tra 1-2,5 m), la presenza di copertura algale in parti erose del *reef* e l'abbondanza al suo interno del sipunculide *Phascolosoma granulatum* (Leuckart, 1828).

In Europa ai *reef* di *S. alveolata* è stata riconosciuta una importanza ecologica che ha promosso specifiche forme di tutela a livello di piani di gestione e progetti locali. In particolare a seguito del Piano d'Azione sulla Biodiversità adottato dal Regno Unito (Maddock, 2008), gli stati aderenti alla Convenzione Oskar (*Convention for the protection of the marine environment of the north-east Atlantic*), hanno inserito le biocostruzioni nelle liste degli habitat marini da tutelare (Appendice 1). Tuttavia come conseguenza di informazioni incomplete sulla distribuzione dei *reef* nel Mediterraneo, dovute anche alla vita limitata delle formazioni (pochi anni), nel bacino si registrano ritardi nell'applicazione di piani di tutela.

### 1.3 Le biocostruzioni di *Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767): caratteristiche strutturali ed ecologiche

Una biocostruzione è una struttura edificata da esseri viventi che si eleva dal fondo verso la superficie del mare e che modifica, sia fisicamente che ecologicamente, l'ambiente locale in cui si trova. Si tratta di un ambiente caratterizzato dalla sovrapposizione di strutture biologiche che, generazione dopo generazione, crescono le une sulle altre portando alla formazione di forme biogeniche permanenti (Fagerstrom, 1987; Bianchi & Morri, 1996; Bianchi, 2001; Castro & Huber, 2011). Tutte le biocostruzioni, indipendentemente dalla loro origine, possiedono alcune caratteristiche comuni come la complessità strutturale dipendente da aspetti biotici (natura della specie biocostruttrice, ciclo riproduttivo, natura delle interazioni che essa sviluppa con altre specie) e da fattori abiotici (morfologia e geologia dei fondali, profondità), e la rigidità strutturale data dalla capacità degli organismi di depositare carbonato di calcio determinando una maggiore resistenza ad agenti disgreganti o demolitori e dunque una maggiore stabilità dello stesso habitat nel tempo (Chemello, 2009). Le biocostruzioni più vistose ed imponenti vengono definiti “reef” (Bianchi, 2001), termine derivato dall'antico vocabolo nautico “rif”, indicante un pericolo per la navigazione poiché costituito da un costone di roccia, di sabbia o di materiale biogeno (Wood, 1999). Nella lingua italiana non sembra esistere un vocabolo etimologicamente affine al nome reef, tuttavia il termine che più si avvicina per significato e che viene utilizzato come sinonimo è “scogliera” (Bianchi, 2001), indicante un substrato roccioso o una concrezione biogenica (concrezioni corallogeniche, banchi di bivalvi) che, originata da animali vivi o morti, fornisce habitat per altre specie (Biondi et al., 2010).

Tra le biocostruzioni particolarmente diffuse e studiate in acque atlantiche, vi sono i reef edificati dal polichete *Sabellaria alveolata*, specie definita *ecosystem engineer*, per la capacità di modificare direttamente l'ambiente attraverso le proprie strutture fisiche dando vita a concrezioni sabbiose la cui rigidità è garantita dall'unione di piccoli tubi di sabbia agglutinata (e non dalla deposizione autogena di carbonato di calcio), morfologicamente molto complesse ed articolate che rendono più eterogeneo l'ambiente meso-infralitorale in cui si trovano (Jones et al., 1994; Bianchi, 2001; Delbono et al., 2003; Braeckman et al., 2014). I reef di *S. alveolata* sono in grado di fornire importanti benefici all'ecosistema in cui si sviluppano, come il filtraggio di grandi volumi di acqua, la stabilizzazione di sedimenti, l'incremento della complessità topografica, l'approvvigionamento alimentare e il rifugio per una serie di organismi bentonici marini (Jones et al., 1994; Rebele, 1994; Dias & Paula, 2001; Delbono et al., 2003; Dubois et al., 2006; Desroy et al., 2011). Se presenti nel piano intertidale e in una fase di bassa marea essi sono in grado di mantenere al loro interno un

elevato livello di umidità relativa che favorisce la protezione degli organismi associati contro la disidratazione e l'esposizione diretta al sole (Dias & Paula, 2001; Ataide et al., 2014). Infine i *reef* tendono a diminuire l'erosione delle coste interagendo con le onde in arrivo e riducendo così la forza che esse esercitano sulla costa (Pohler, 2004). Tali benefici possono avere effetti positivi sull'ambiente in cui i *reef* si sviluppano per tempi più lunghi della vita della specie costruttrice stessa (Ayata et al., 2009).

Per edificare le biocostruzioni la specie costruttrice si insedia su substrati solidi, siano essi conchiglie, piccoli e grandi massi o substrati rocciosi purchè circondati da sabbia utilizzata dall'animale per costruire i tubi (Allen et al., 2002); essa occasionalmente può inoltre essere trovata su gusci di Molluschi viventi o su fronde di alghe. La costruzione dei tubi è legata alla capacità che la specie possiede di raccogliere i granelli di sabbia dall'ambiente circostante mediante sottili tentacoli presenti nell'opercolo, organo mobile presente nella testa degli individui, e di trasportarli fino all'organo costruttore. Quest'ultimo con una tipica struttura a forma di ferro di cavallo e presente alla base dell'opercolo, è capace di manipolare e selezionare le particelle con granulometria precisa ma senza particolari caratteristiche mineralogiche. Dati bibliografici riportano la capacità di *S. alveolata* di costruire i tubi rifiutando granelli di sabbia di forma allungata, appiattita o spigolosa che andrebbero ad impedirne il movimento e di scegliere granelli arrotondati e ben levigati. Inoltre studi granulometrici hanno mostrato che i granelli si presentano di taglia riconducibile alla misura dell'organo costruttore (Gruet, 1984; Naylor & Viles, 2000; Delbono et al., 2003), la cui dimensione è correlata a sua volta al diametro dei singoli tubi e alla dimensione degli individui (Vovelle, 1965). Secondo quanto riportato da Gruet (1984), nei primi tre anni di vita dell'individuo, al crescere del diametro dell'organo costruttore cresce anche il diametro dei granuli selezionati dall'organo raggiungendo dimensioni medie di 400-600 µm.

Appena selezionate, le particelle vengono fatte prima aderire con un adesivo proteico e successivamente disposte sul bordo esterno del tubo (Becker et al., 2012). La sostanza adesiva viene prodotta da due tipi di cellule cementatrici collocate nell'area toracica dell'animale. Essa sembra essere ricca di Ca, Mg e P, sebbene ad oggi non si conosce ancora la sua completa composizione (Gruet et al., 1987; Delbono et al., 2003). Attualmente infatti per *Sabellaria alveolata* sono state identificate solo quattro proteine adesive, Sa-1, Sa-2, Sa-3° e Sa-3B (Becker et al., 2012).

Una volta formati i tubi la specie costruttrice adulta è capace di vivere al loro interno. I tubi appaiono proporzionali alle dimensioni dell'organismo e quindi alla sua età. Secondo quanto riassunto in Allen et al. (2002), il tubo di un adulto di *S. alveolata* può raggiungere i 4-8 cm di lunghezza e un diametro gradualmente variabile nel tempo, pari a circa 2,75 mm ad un anno

dall'insediamento, a 3,25 mm dopo 2 anni, a 3,75 mm dopo 3 anni e intorno a 4,0-5,0 mm dopo 4/5 anni di vita dell'individuo.

La loro aggregazione porta alla formazione dei *reef* altamente dinamici nella forma e nei processi di sviluppo. Per quanto concerne la forma, essi infatti possiedono 3 strutture distinte: “strutture a cuscinetto”, scogliere e piattaforme (Dubois et al., 2002) la cui morfologia è il risultato di un equilibrio tra processi di crescita, di interazioni biotiche tra le specie concomitanti, di distruzione fisica (erosione) e di fasi di nuova crescita (Gruet, 1970; Gruet, 1971; Gruet, 1982; Gruet & Lassus, 1983; Gruet, 1984; Gruet, 1986; Gruet et al., 1987; Caline et al., 1992; Gruet & Bodeur, 1994; Gruet & Bodeur, 1995; Gruet & Baudet 1997; Gruet & Bodeur, 1997; Jones et al., 1994; Rebele, 1994).

Per quanto riguarda la crescita essi mostrano un ciclo di vita, comune a tutti i Sabellaridi, che può raggiungere i 10 anni, distinto da alcuni autori in tre fasi (insediamento, crescita e distruzione) (Gruet, 1982; Delbono et al., 2003) e da altri descritto con un modello a cinque fasi (Gruet & Bodeur, 1995; Pearce et al., 2011), riassunti nella Figura 2.

La prima fase è legata alla presenza di un substrato solido generalmente roccioso, circondato da sabbia dalla quale la specie può selezionare i granelli per la costruzione dei tubi. Quest'ultimi si formano dapprima orizzontalmente per poi spostarsi verticalmente durante la fase di crescita, mossi dalle correnti. Disposti verticalmente, i tubi cominciano ad aggregarsi formando cuscinetti che si allungano perpendicolarmente alla direzione della corrente principale, crescono in direzione obliqua per portare le loro aperture verso il lato più riparato (Gruet & Bodeur, 1995). In seguito i tubi crescono molto velocemente nella parte inferiore del *reef* e più lentamente nella parte superiore formando barriere che crescono nella direzione perpendicolare alla corrente principale. Le barriere infine tendono ad unirsi formando vere piattaforme a crescita lenta ricoperte da alghe (Dubois et al., 2002; Delbono et al., 2003).

Se le condizioni ambientali (temperatura, salinità, correnti etc.) sono ottimali, i *reef* possono rimanere in una fase di stasi durante la quale portano numerosi benefici all'ambiente in cui si trovano. È inoltre possibile che in condizioni di equilibrio avvenga un nuovo insediamento larvale della specie costruttrice che facilita la crescita dei *reef* (Allen et al., 2002). La fase di distruzione può essere indotta da cambiamenti climatici, da disturbi di origine antropica come inquinamento o attività di acquacoltura, dal degrado fisico della barriera dovuto a calpestio, erosione e a colonizzazione da parte di pesci, granchi, cozze e ostriche o dallo sviluppo di alghe verdi in risposta alla eutrofizzazione (Vorberg, 1995; Dubois et al., 2002, 2006; Allen et al., 2002; Ayata et al., 2009).

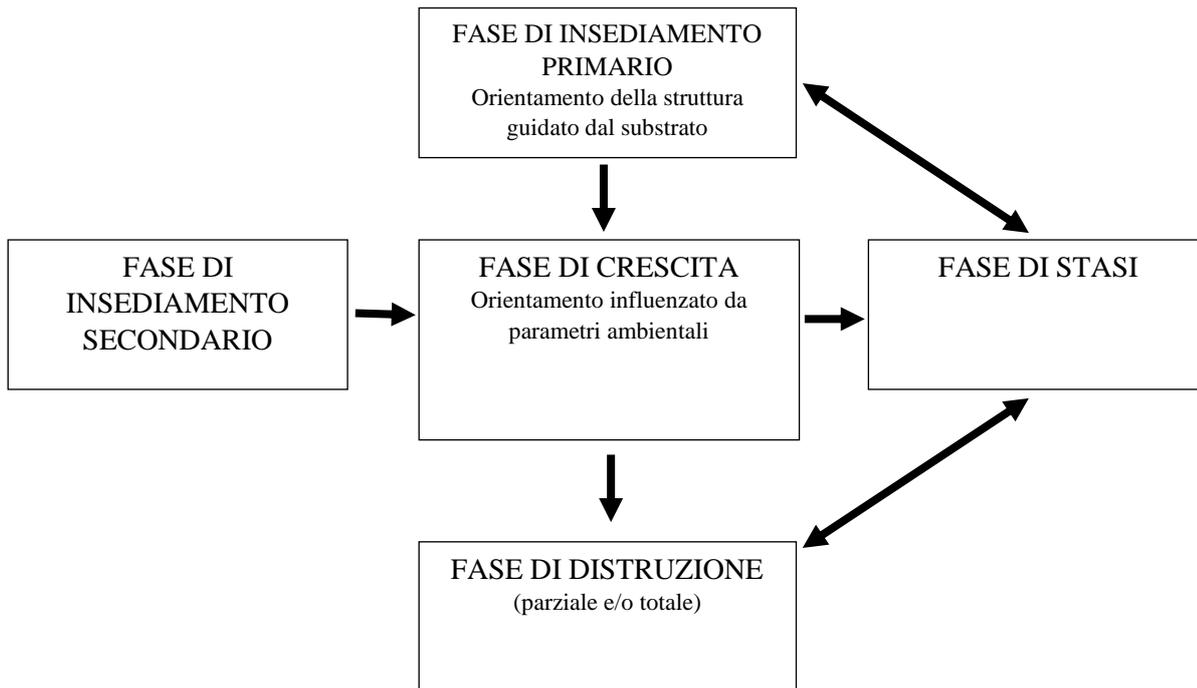


Fig. 2 – Rappresentazione grafica delle cinque fasi di vita di un reef a *Sabellaria* (Pearce et al., 2011)

Durante il ciclo di sviluppo i reef crescono parallelamente alla linea di costa e alla direzione delle principali correnti di marea, in aree caratterizzate da correnti idrodinamiche moderate con un continuo apporto di sedimenti e granelli di sabbia di dimensioni variabili (Kirtley & Tanner, 1968; Holt et al., 1998; Dubois et al., 2006). Le correnti elevate sembrano possedere un ruolo vantaggioso durante la fase di formazione ed espansione del reef, mentre esse giocano un ruolo negativo durante le restanti fasi di sviluppo poiché possono costituire un fattore di stress (Allen et al., 2002).

In generale le correnti di marea e le correnti indotte dal vento sono coinvolti nel processo riproduttivo della specie costruttrice favorendo le fasi di insediamento e dispersione larvale (Lagadeuc, 1992; Caley et al., 1996; Vorberg, 2000; Largier, 2003; Ellien et al., 2004; Dubois et al., 2007; Ayata et al., 2009). I tassi di insediamento larvale aumentano quando le correnti di marea aumentano; per gli organismi infatti è necessario che le larve raggiungano un habitat adatto per terminare lo sviluppo (Ayata, 2010). Tuttavia alterando la circolazione locale, tali correnti possono modificare notevolmente i modelli di dispersione larvale, diminuendo il successo dell'insediamento. Recentemente studi condotti nel Canale della Manica hanno sottolineato che le correnti possono agire sia come barriere per la dispersione larvale migliorando la ritenzione locale e l'insediamento, sia favorire la concentrazione di larve provenienti da diverse popolazioni promuovendo la connettività tra le popolazioni (Ayata et al., 2009).

La sopravvivenza e lo sviluppo delle larve di *S. alveolata* sembrano inoltre essere influenzati da temperature medio-elevate in accordo con quanto dimostrato per diversi invertebrati bentonici (Reitzel et al., 2004; Dubois et al., 2007).

Studi condotti su sabellarieti presenti lungo le coste atlantiche e pacifiche affermano che i *reef* di *S. alveolata* si accrescono in range di temperatura variabili ma generalmente moderati (Holt et al., 1998). Temperature molto basse, inferiori ai 5°C, sembrano indurre gravi effetti sulle popolazioni bloccandone i processi di crescita (Gruet, 1982; Allen et al., 2002) mentre temperature troppe elevate sembrano causare la distruzione dell'intera formazione (Zale & Merrifield, 1989). In particolare studi condotti in Florida hanno mostrato che i *reef* di *S. alveolata* tollerano temperature comprese tra 18-27°C, anche se essi tendono ad accrescersi più velocemente a temperature maggiori di 20°C (Zale & Merrifield, 1989). Tali intervalli di temperatura sembrano essere confermati anche in studi condotti nel Mediterraneo per la specie congenerica *S. spinulosa* (Leuckart, 1849) segnalata nel bacino, che a temperatura di circa 20°C ha mostrato un tasso di crescita più alto di *S. alveolata* (Lezzi et al., 2015).

Secondo quanto affermato da Allen et al. (2002) *S. alveolata* è una specie marina stenoalina capace di tollerare valori di salinità compresi intorno ai 30‰. Tale dato può essere confermato dalla nota capacità dei Sabellaridi di tollerare intervalli di salinità compresi tra i 28-39‰ (Zale & Merrifield, 1989; Pohler, 2004).

Studi condotti lungo la Baia di Mont-Saint-Michel (Francia), hanno dimostrato come i valori di temperatura e salinità ottimali per lo sviluppo delle formazioni possano tuttavia variare in relazione alla collocazione spaziale dei *reef*. In particolare, durante uno studio condotto nel mese di Giugno, all'interno della baia, in presenza di correnti limitate, maree moderate e acque calde con temperature > 17,5°C e salinità < 34,8 ppt si registravano alte concentrazioni di larve. Al contrario, all'esterno della baia, in prossimità delle Isole Canale e del Canale della Manica, in mare aperto con correnti più elevate, temperature più basse < 17,5°C e salinità più alte > 34,8 ppt, le concentrazioni larvali erano più basse (Dubois et al., 2007).

### 1.3.1 Distribuzione dei *reef* di *S. alveolata* in Atlantico e nel Mediterraneo

Le biocostruzioni edificate da specie appartenenti al genere *Sabellaria* sono conosciute in tutto il mondo e distribuite nella regione temperata (Kirtley & Tanner, 1968). Negli anni esse sono state segnalate in India (Achary, 1969, 1974), in Sud America (Fausto-Filho & Furtado, 1970; Bremec & Lana, 1994; Nahuelhual et al., 2012), in Brasile (Lana & Gruet, 1989) e nelle coste dell'America occidentale (Posey et al., 1984).

In Europa i *reef* sono edificati soprattutto dalla specie *S. alveolata* e si sviluppano principalmente lungo le coste atlantiche settentrionali, dalle coste della Scozia fino alle coste del Portogallo (Cunningham et al., 1984; Dias & Paula, 2001; Firth et al. 2015, Schlund et al., 2016). Essi sono ampiamente distribuiti e studiati lungo le coste irlandesi e britanniche, in quest'ultimo caso soprattutto sul versante sud-occidentale dell'isola, dove le acque appaiono relativamente più calde (Mettam, 1992; Bamber & Irving, 1997; Allen et al., 2002). Tuttavia le biocostruzioni più grandi d'Europa vengono segnalate nella baia di Mont Saint-Michel (Francia), con i circa 100 ettari (ha) di estensione (Dubois et al., 2009; Desroy et al., 2011). I *reef* francesi costituiscono la principale fonte di informazioni per la comprensione delle dinamiche interne a questo habitat, soprattutto in termini di macrofauna associata (Gruet 1970, 1972a,b, 1977, 1982, 1986) (Fig. 3). In acque atlantiche essi vengono infine segnalati lungo le coste del Marocco (Rouhi et al., 2007).

Anche la specie congenerica *S. spinulosa* lungo le coste atlantiche è in grado di formare *reef*, generalmente di più piccola entità, concentrati soprattutto nelle coste dell'Inghilterra e del Galles e con una distribuzione più sparsa in Scozia, Irlanda, Mar del Nord e Mare dei Wadden (Vorberg, 2000; Hendrick & Foster-Smith, 2006; Benson et al., 2013).

Nel bacino del Mediterraneo si registrano segnalazioni puntiformi; al suo interno fino ad oggi, vengono registrate soltanto tre specie appartenenti al genere: *S. alveolata*, *S. spinulosa* e *S. alcocki* Gravier 1906 (Castelli et al., 2008). Tra esse tuttavia solo *S. alveolata* sembra essere capace di edificare *reef* di grandi dimensioni mentre le restanti due specie vengono descritte come solitarie. Unica eccezione per *reef* edificati dalla specie *S. spinulosa* è rappresentata da costruzioni rinvenute lungo le coste adriatiche del Gargano (costa settentrionale della Puglia) (Lezzi et al., 2015) e per *reef* edificati da *S. alcocki* segnalati all'interno della area marina Torre del Cerrano (Abruzzo) (Piano di Gestione del Sito di Interesse Comunitario IT7120215 "Torre del Cerrano").

Biocostruzioni di *S. alveolata* sono state segnalate in passato lungo le coste di San Leone (Agrigento-Canale di Sicilia) da Molinier & Picard (1953), nelle coste algerine (comm. pers. Pérès in Molinier & Picard, 1953), nelle coste mediterranee tirreniche da Taramelli-Rivosecchi (1961) e nelle coste francesi da Bellan (1964). Segnalazioni più recenti hanno interessato il Golfo di

Castellammare (Trapani-Sicilia occidentale) (Sparla et al., 1992), il Golfo di Valencia (Porras et al., 1996), la coste della Spagna sud-orientale (Garcin & Vachard, 1994), le coste ligure (Delbono et al., 2003) e le coste laziali (Gambi et al., 1996; Nicoletti et al., 2001; La Porta et al., 2006, 2009).

In numerosi studi faunistici le tre specie del genere *Sabellaria* sono state elencate in check-list di Policheti della fauna del Mar Ligure, del Mediterraneo orientale, dell'Adriatico e delle coste albanesi, in cui tuttavia non viene specificata l'esistenza di *reef* (Cantone et al., 1980; Morri et al., 1992; Arvanitidis, 2000; Simboura & Zenetos, 2002; Giangrande et al., 2003; Denitto et al., 2007; Mussat Sartor et al., 2007; Boncagni et al., 2009; Rabaoui et al., 2009; Şahin & Çınar, 2012; Keklikoglou et al., 2013; Çınar et al., 2014, 2015; Mikac, 2015) (Fig. 4).



Fig. 3 – Distribuzione di *Sabellaria alveolata* lungo le coste atlantiche europee.

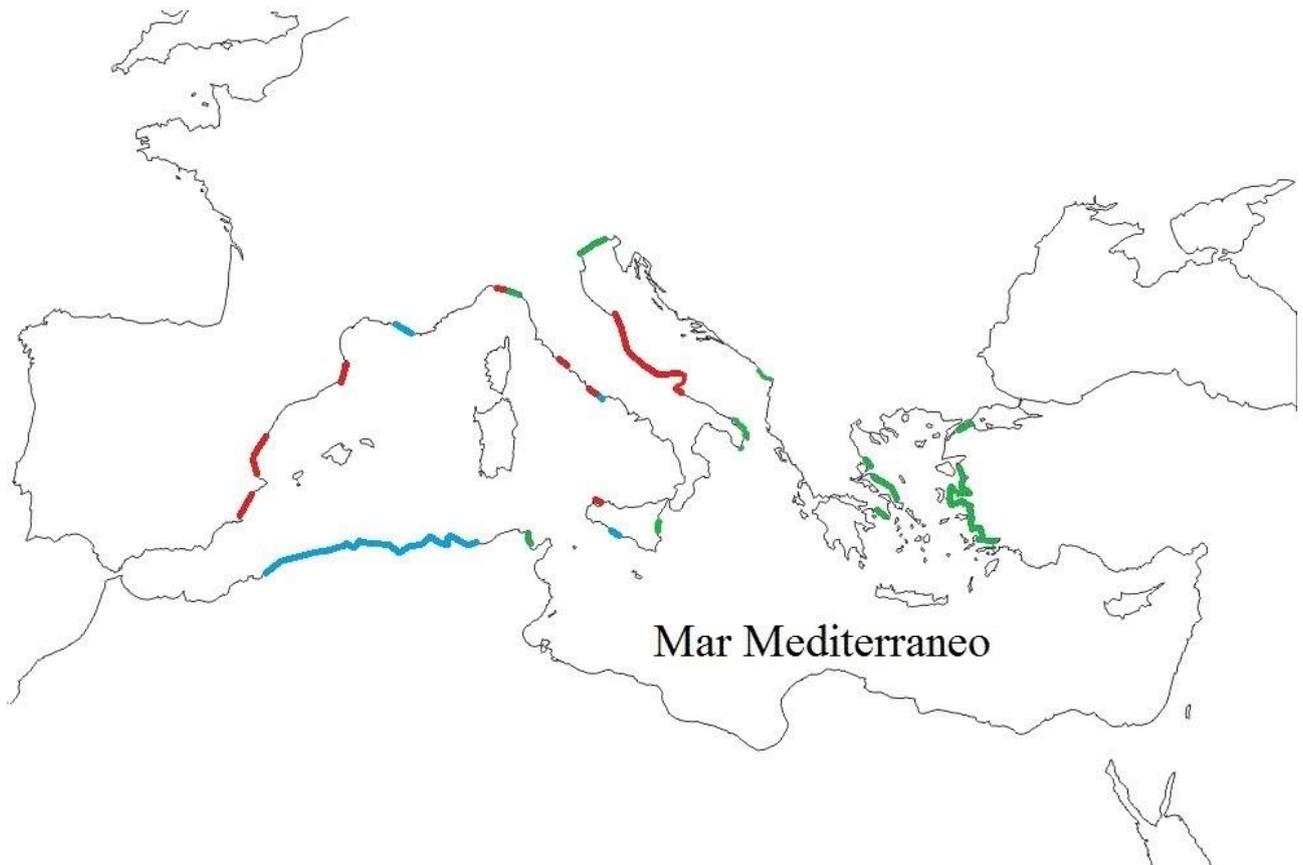


Fig. 4 – Distribuzione di *Sabellaria* sp. nel Mediterraneo precedente a tale studio. Segnalazioni di reef negli ultimi 20 anni (rosso), risalenti agli anni '50-'60 (blu), segnalazioni delle specie come singoli esemplari (verde).

## 1.4 La specie biocostruttrice: *Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767)

### 1.4.1 Sistematica e caratteri diagnostici

Phylum: Annelida

Classe: Polychaeta Grube, 1850

Sottoclasse: Sedentaria Lamarck, 1818

Infraordine: Canalipalpata Rouse & Fauchald, 1997

Ordine: Terebellida sensu Rouse & Fauchald, 1997

Famiglia: Sabellariidae Johnston, 1865

Genere: *Sabellaria* Lamarck, 1818

Specie: *Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767) (Fig. 5)



Fig. 5 – Individui di *Sabellaria alveolata* all'interno di tubi del reef

La classe Polychaeta Grube, 1850 rappresenta uno dei taxa più significativi ed eterogenei del macrozoobenthos costituito prevalentemente da organismi marini, parassiti, specie di acqua dolce e da poche specie terrestri. Essi vengono considerati, insieme a Molluschi e Crostacei, uno dei più importanti gruppi di indicatori di qualità ambientale, determinante fondamentale nel funzionamento degli ecosistemi marini come fonte di sostentamento per pesci ed invertebrati (Musco et al., 2004). I Policheti costituiscono una delle tre classi del phylum degli Annelida, animali vermiformi, celomati, con il corpo suddiviso in metameri (Baccetti et al., 1991). Il loro nome “Polychaeta” (poly “molte” cháite “setole”), indica la presenza di appendici laterali ben sviluppate chiamati parapodi, sui quali si inseriscono numerose setole.

I Policheti possiedono tipicamente dimensioni variabili dai 5 a 10 cm, tuttavia non mancano individui di pochi millimetri o con lunghezza del corpo superiore al metro (Baccetti et al., 1991; Rouse & Pleijel, 2001). Gli individui sono caratterizzati da un corpo segmentato e da un capo ben differenziato con organi di senso specializzati (Fig. 6).

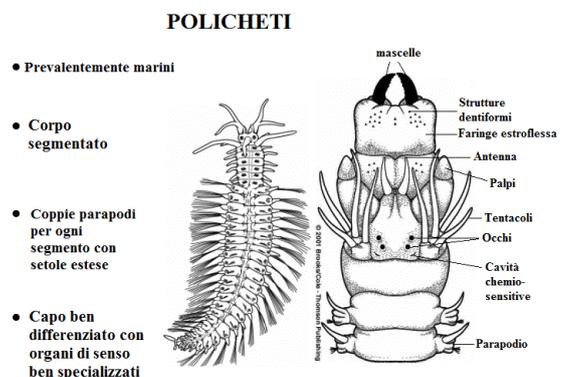


Fig. 6 – Caratteri diagnostici classe Polychaeta (Baccetti et al., 1991)

I caratteri utili al riconoscimento dei taxa interni alla classe sono di seguito elencati (Fig. 7):

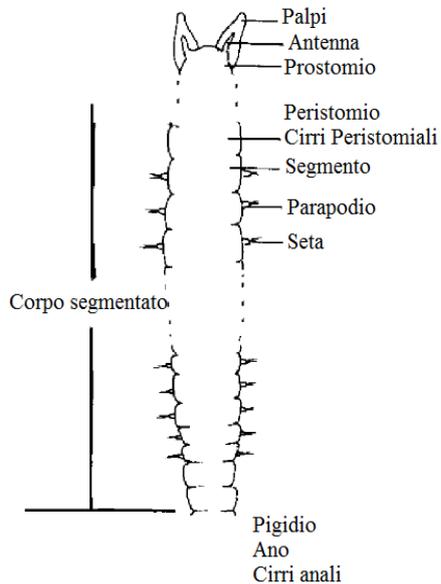


Fig. 7 – Suddivisione corpo classe Polychaeta (Fauchald, 1977)

- Presenza/assenza di occhi sul Prostomio: piuttosto rari in Policheti sedentari, presenti in singola o doppia coppia in Policheti erranti;
- Presenza/assenza di antenne e palpi sul Prostomio, con funzione sensoria o occasionalmente alimentare;
- Faringe più o meno estroflessa, dalla struttura specifica per famiglia di appartenenza, con strutture associate (mascelle, denti, strutture chitinizzate) variabili nella forma (Fauchald, 1977);
- Peristomio con cirri peristomiali considerati caratteri tassonomici per numero e posizione lungo i segmenti del corpo;

- Parapodi presenti da entrambi i lati dei metameri del corpo, possono presentarsi biramosi con un ramo dorsale denominato notopodio e uno ventrale chiamato neuropodio (Fig. 8) o uniramosi con solo neuropodio (Fauchald, 1977). Ogni ramo è caratterizzato dalla presenza di sete, occasionalmente definite chete (Capa et al., 2012; Dos Santos et al., 2014), strutture formate da cellule ectodermiche e costituite da una banda di filamenti formati da glicoproteine. Il tipo, la forma e la posizione delle sete può variare dalla larva all'adulto, ma rimane sempre un importante carattere tassonomico discriminante a livello di famiglia. Sete ad "uncino", "lombate", "a falce", "pettinate" sono state individuate tra le specie. Le sete più semplici sono quelle dette "capillari", sottili ed appuntite (Fauchald, 1977).

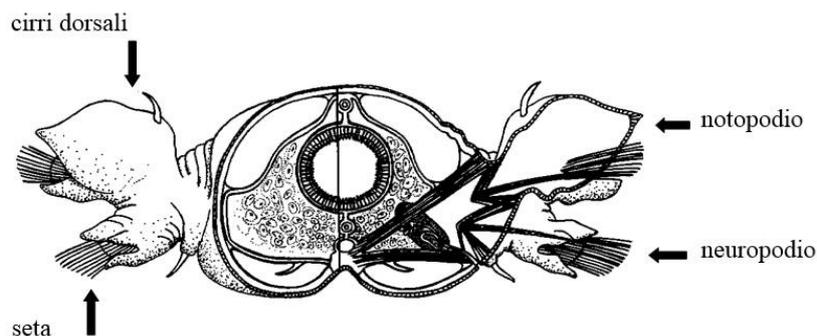


Fig. 8 – Rappresentazione grafica della struttura del parapodio con ramo dorsale (notopodio) e ventrale (neuropodio) (Baccetti et al., 1991)

I Policheti appartenenti alla famiglia Sabellaridae Johnston, 1865 vengono comunemente chiamati “*sandcastle worms*” o “*honeycomb worms*” (Becker et al., 2012) per la capacità di dar vita a biocostruzioni costituite essenzialmente da sabbia.

La famiglia inizialmente descritta sotto l'ordine Sabellida, successivamente assegnata all'ordine Terebellida da Savigny (1822), elencata nell'ordine Spionida da Dales (1967) e riconfermata tra i Terebellida da Fauchald (1977) (Fauchald & Rouse, 1997), attualmente fa parte di una delle quattro sottoclassi, Sedentaria Lamarck 1809, in cui è suddivisa la classe Polychaeta.

I componenti della famiglia sono organismi tubicoli capaci di aggregare granelli di sabbia per costruire tubi in cui essi stessi vivono o in cui molte specie di invertebrati trovano riparo e fonte di cibo. Essi vivono in zone intertidali o a basse profondità, anche se non mancano specie capaci di vivere ad elevate profondità.

Sulla base del loro ciclo vitale spesso sono stati classificati come individui “aggressivi” (Sveshnikov, 1985), colonizzatori veloci, altamente competitivi, dall'alta fecondità e alta capacità di dispersione (Giangrande, 1997).

Hutchings (2000) ha descritto il corpo dei membri della famiglia suddiviso in quattro sezioni distinte: testa, torace, addome e pigidio. La testa o prostomio è costituita da un opercolo, organo mobile dai numerosi tentacoli utilizzati per pulire l'estremità del tubo in cui l'animale vive, capace di garantire, proprio insieme al tubo, protezione dai predatori e dal disseccamento (nei casi in cui il reef rimane in emersione a seguito delle escursioni di marea) (Eckelbarger, 1976; Capa et al., 2012). Il prostomio è indistinto dal peristomio, visibile solo come labbra attorno alla bocca, al quale sono associati palpi e organi nucali alla loro base. Alcuni Sabellaridi sono caratterizzati dalla presenza/assenza di un'appendice prostomiale, l'organo mediano, cospicuo in alcune specie e piccolo in altre, descritto alla giunzione dorsale dei lobi opercolari quando questi non sono completamente fusi o alla base dell'opercolo, nella parte anteriore, in specie con lobi fusi (Kirtley 1994; Lechapt & Kirtley, 1996; Dos Santos et al., 2014; Capa et al., 2015). All'interno del genere *Sabellaria* la morfologia esterna dell'organo è variabile. Esso può possedere forma conica, piatta o lobata ed essere circondato da una densa fila di ciglia che con il loro movimento creano una locale corrente utile al passaggio dell'acqua e alla nutrizione degli individui (Faroni-Perez et al., 2016). La regione paratoracica è composta da 3-4 segmenti rudimentali con notopodi dalle chete semplici, da brevi e cilindrici neuropodi e da branchie dorsali allungate. Il numero dei segmenti paratoracici in passato è stato utilizzato come carattere per dividere la famiglia in due gruppi: la sottofamiglia Sabellariinae con tre segmenti paratoracici e la sottofamiglia Lygdaminae con quattro segmenti paratoracici (Kirtley, 1994; Rouse & Pleijel, 2006), oggi tuttavia raggruppati nell'unica famiglia

Sabellariidae (Capa et al., 2012). L'addome è caratterizzato dalla presenza di parapodi composti da un neuropodio corto e cilindrico, da un notopodio che si riduce e da branchie prolungate posizionate dorsalmente. L'addome è caratterizzato da una inversione di forma delle chete (sete): ad uncino nei notopodi e capillari nei neuropodi (Dos Santos et al., 2014). La coda o pigidio porta l'ano (Dos Santos et al., 2014) (Fig. 9).

La sistematica e la tassonomia della famiglia Sabellariidae sono state riesaminate da Kirtley (1994), e negli ultimi anni da molti altri autori (Capa et al., 2012; Hutchings et al., 2012; Dos Santos et al., 2014; Nishi et al. 2015). Attualmente, la famiglia comprende 12 generi tra cui è incluso il genere *Sabellaria* distinto per i caratteri del prostomio, soprattutto in termini di strutture opercolari (Kirtley, 1994; Nishi et al., 2010; Capa et al., 2012; Nishi et al., 2015).

Il genere *Sabellaria* Lamarck, 1818 è rappresentato da 41 specie cosmopolite, ampiamente distribuiti in tutto il mondo soprattutto in aree intertidali o subtidali (Kirtley, 1994; Nishi et al., 2010; Nishi et al., 2015; Read & Fauchald, 2015), capaci di vivere anche in range di profondità compresi tra 0-254 m (Kirtley, 1994). Il genere si differenzia per un opercolo diviso in lobi simmetrici con pale ben sviluppate organizzate in tre file concentriche, e per la presenza di tre segmenti paratoracici biramosi con sete appiattite (Fauvel, 1927; Kirtley, 1994; Nishi et al., 2004; Capa et al., 2012; Dos Santos et al., 2014).

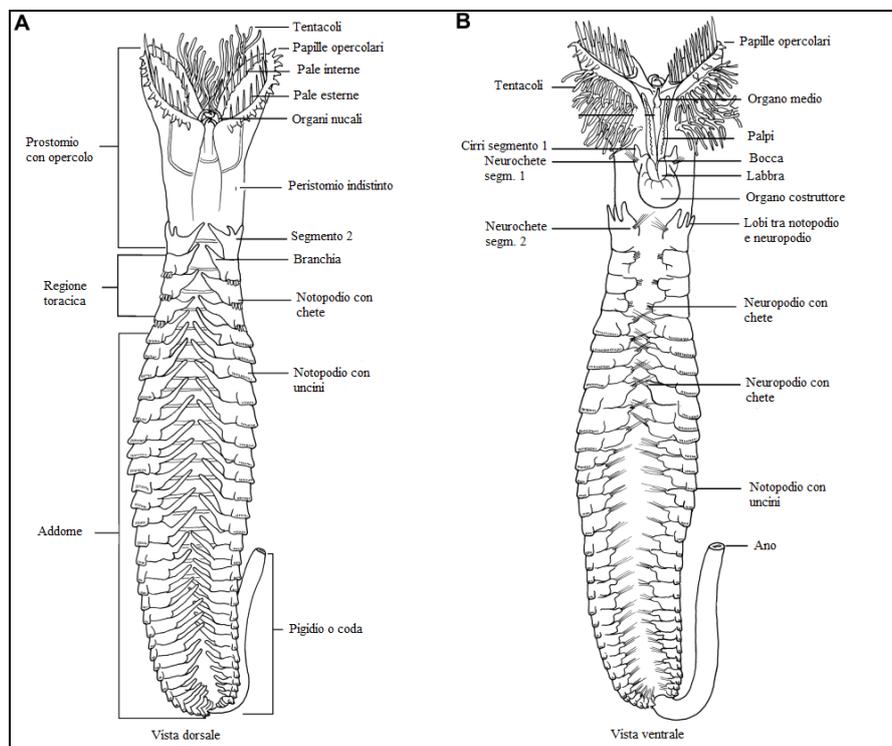


Fig. 9 – Distinzione parti corpo dei membri della famiglia Sabellariidae (Capa et al., 2012)

Le specie gregarie sono capaci di insediarsi le une accanto alle altre all'interno dei tubi da loro stessi costruiti (Relini, 2009) formando biocostruzioni in grado a loro volta di accrescersi e di colonizzare vaste aree lungo la costa, dove le condizioni idrodinamiche e il tipo di sedimento supportano gli aggregati (Dos Santos et al., 2014). Le specie di *Sabellaria* presentano un corpo suddiviso in 4 porzioni perfettamente identificabili alle regioni del corpo dei membri dell'intera famiglia Sabellariidae. Tuttavia particolare rilevanza diagnostica assumono l'opercolo completamente suddiviso in due lobi simmetrici con tre file di pale concentriche e la regione paratoracica costituita da tre segmenti (Kirtley, 1994; Nishi et al., 2004; Dos Santos et al., 2011; Capa et al., 2012). Il limite tra le due porzioni è delimitato dall'organo costruttore, un organo a forma di ferro di cavallo importante nello studio della crescita degli individui. Uno studio condotto da Gruet (1984) su individui di *S. alveolata* di diverse dimensioni, ha infatti dimostrato che la crescita in altezza dell'organo costruttore è direttamente proporzionale alla crescita dell'individuo. Secondo tale studio, lo sviluppo interno dell'organo è visibile dalla crescita del diametro opercolare dell'individuo e risulta piuttosto rapido durante i primi tre anni della vita della specie.

#### 1.4.2 L'opercolo in *Sabellaria* sp.

Tutte le specie appartenenti al genere *Sabellaria* condividono la presenza di un opercolo con una lunghezza simile alla larghezza (Capa et al., 2012), situato all'estremità anteriore di due lobi "peristomiali o opercolari" (Ebling, 1945). Ogni lobo peristomiale (Fig. 10) supporta una fila di tentacoli (TF) su ogni faccia ventrale. Posteriormente il lobo è bordato da un segmento ridotto seguito da tre segmenti chitinosi, ognuno dei quali supporta una branchia cirriforme dorsale (B) e un notopodio nella forma di una lamella laterale chitinoso che diventa progressivamente più larga nei segmenti posteriori e che possiede circa sei chete a forma di remo (DC). Ventralmente il parapodio forma una cresta neuropodiale che sostiene anche un gruppo di chete (VC). Ventralmente il segmento 1 si fonde con i lobi peristomiali nella regione boccale (Peristomio). Le labbra inferiori della bocca sono circondati dall'organo costruttore a forma di ferro di cavallo, che si osserva lateralmente nella Fig. 10 (BO). Esso supporta un piccolo lobo chitinoso su ogni lato. Il quinto segmento post-peristomiale e il successivo segmento hanno branchie cospicue; il notopodio è rappresentato da una riga (U) che supporta una fila di numerosi ganci o uncini dentati. Ventralmente ad ogni riga il neuropodio è rappresentato da un piccolo ciuffo chitinoso sospeso sul lato esterno da un cirro (C).

L'opercolo è circondato alla base da un anello di papille coniche (P). Esso consiste di due dischi semilunari, ognuna comprendente tre file di chete a forma di mezza luna (Ebling, 1945).

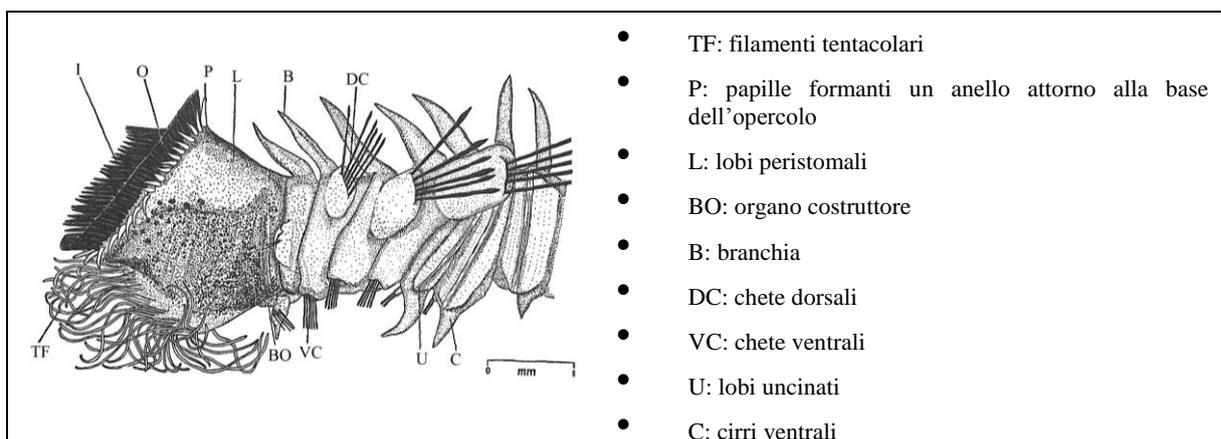


Fig. 10 – Vista laterale sinistra della regione anteriore di *Sabellaria alveolata* (Ebling, 1945)

Ogni disco è formato da lame o pale distinte in esterne (O), medie (M) se rivolte verso l'esterno e interne (I) se rivolte verso l'interno dell'anello (Fig. 11). Le pale opercolari esterne (O) si presentano numerose, disposte in semicerchio; genicolate con lame piatte, con margini distali lisci o denticolati, spesso con piume mediane. Le pale mediane (M) generalmente genicolate mostrano margini scavati o lisci, appuntiti all'esterno. Pale interne (I) di varia forma sono disposte come due

anelli in una o due file concentriche (Fig. 11) (Capa et al., 2012). All'interno di ogni lobo opercolare vi sono due paia di "sacchi" chitinosi disposti longitudinalmente dal quale si originano le pale. Le pale esterne derivano dai sacchi esterni mentre quelle medie ed interne derivano dai sacchi interni (Fig. 12) (Ebling, 1945).

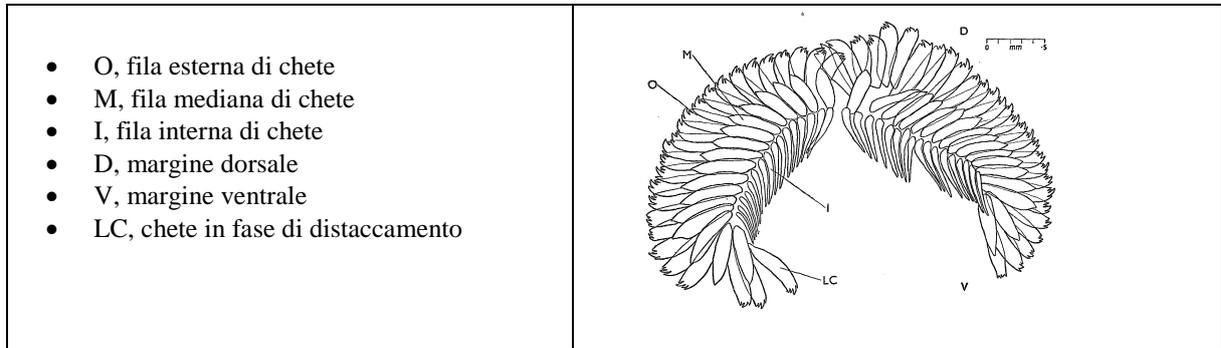


Fig. 11 – Vista superficiale dell'opercolo con tre file di pale (Ebling, 1945)

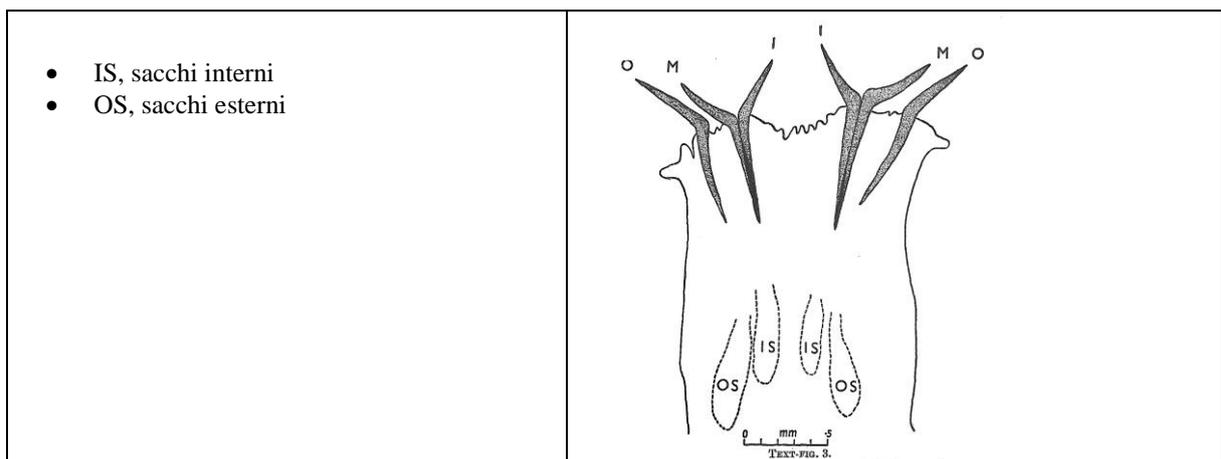


Fig. 12 – Sezione longitudinale del lobo opercolare; dettaglio forma e posizione sacchi opercolari (Ebling, 1945)

#### 1.4.3 Descrizione sistema alimentazione in *S. alveolata*

Le specie appartenenti al genere *Sabellaria* costituiscono un elemento importante della rete trofica degli ecosistemi che riescono a colonizzare, come dimostrato da studi condotti su *Sabellaria alveolata* considerata un modello nello studio del genere (Dubois et al., 2005). Si tratta di organismi filtratori sospensivori capaci di nutrirsi delle particelle sospese in acqua, catturate attraverso il battito delle ciglia e filtrate attraverso un canale alimentare. Tuttavia la mancanza di dati completi riguardanti i meccanismi di alimentazione hanno impedito nel tempo di descrivere con precisione il loro ruolo ecologico. Descrizione impedita anche dalla mancanza in letteratura, come sottolineato da Mastrodonato et al., (2005), in generale per il taxon dei Policheti, di dati sulla struttura dell'epidermide e sulla produzione e composizione del muco che riveste il corpo di molti Policheti e considerato mezzo di resistenza allo stress esterno.

Inoltre pochi dati anatomici si possiedono su altre specie appartenenti al genere come *S. spinulosa*, e ciò impedisce un confronto morfologico utile alla comprensione degli adattamenti funzionali che le specie possono sviluppare per aumentare la probabilità di sopravvivenza all'interno dei reef, di difesa dai predatori e di successo riproduttivo (Culloty et al., 2010).

L'apparato alimentare è composto da due parti inserite ventralmente sui due lobi presenti nel prostomio (Fig. 13, CL). Su ogni lobo, un solco primario (PG) raccoglie le particelle e i piccoli granelli di sabbia da condurre alla bocca. Ognuno dei due solchi primari è suddiviso in solchi secondari (SG) che portano sul bordo i tentacoli (T). Quest'ultimi grazie al loro battito, creano correnti d'acqua verso la parte mediana della regione anteriore dell'animale, trasportando cibo costituito da fitoplacton (Fauchald, 1977). Studi recenti hanno dimostrato che *Sabellaria alveolata* possiede tentacoli della lunghezza di 55-60  $\mu\text{m}$  che riescono a trattenere particelle  $> 4\mu\text{m}$  (Dubois et al., 2005). Ogni filamento possiede un'ampia fila di 10  $\mu\text{m}$  di ciglia frontali e due file di 40  $\mu\text{m}$  di ciglia laterali, inserite in ogni lato dei tentacoli. Le ciglia laterali fungono da pompa capace di far fluire le particelle di cibo verso le ciglia frontali. Tra le ciglia frontali sono visibili pori secretori di cellule mucose che grazie alla produzione di muco, trattengono le particelle e le conducono fino ai solchi (PG). Da qui le particelle verranno condotte fino alle labbra boccali (L) dove verranno manipolate per l'espulsione dei granuli di sabbia che verranno invece trasportati fino all'organo costruttore dove verranno selezionati per la costruzione del tubo.

Dalla bocca le particelle più fine vengono poi trasportate ed ingerite lungo il tratto alimentare. In *S. alveolata* l'apparato digerente è costituito da 4 porzioni (Fig. 14): l'esofago esteso lungo i segmenti paratoracici, il ventriglio (dilatazione del tratto anteriore dell'intestino con pareti spesse rivestite da chitina) presente nei primi quattro segmenti addominali con muscoli trituratori, l'intestino esteso

nella restante porzione dell'addome capace di assorbire le particelle nutritive, e il retto che percorre la regione caudale fino all'ano permettendo l'eliminazione delle sostanze di rifiuto (Vovelle, 1965; Michell, 1977).

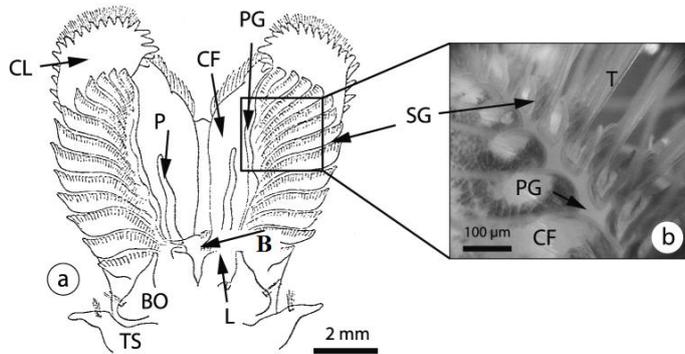


Fig. 13 – *Sabellaria alveolata*. (a) Visione ventrale della regione anteriore, tentacoli non mostrati. CL, Lobi celefatici centrali; CF, pavimento celefatico; PG, solco primario; SG, solco secondario; P, palpo; B, bocca; L, labbra interne ed esterne; BO, organo costruttore; TS, primo segmento toracico. (b) Fotografia dei (T) tentacoli di un individuo vivente (Dubois et al., 2005).

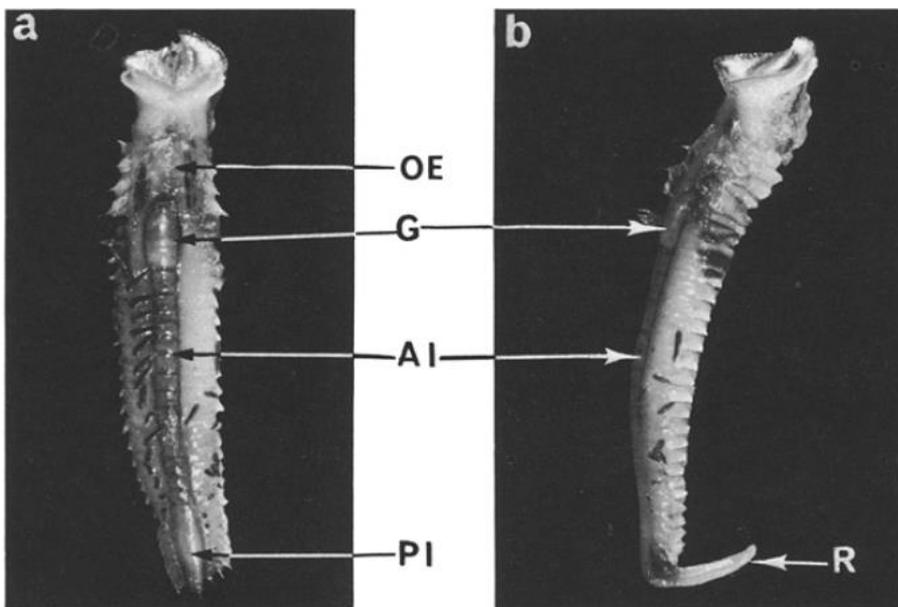


Fig. 14 – *Sabellaria alveolata*. (a) Visione ventrale, (b) visione laterale delle quattro porzioni del tratto digestivo. OE, esofago; G, ventriglio; AI, intestino anteriore; PI, intestino posteriore; R, retto (Michell, 1977).

#### 1.4.4 Ciclo vitale in *Sabellaria* sp.

La comprensione del ciclo di vita delle specie di *Sabellaria* è fondamentale per la gestione e la protezione efficace degli habitat che essa edifica. Conoscere i tempi e la frequenza delle fasi di un ciclo riproduttivo può infatti favorire la comprensione dello sviluppo dei reef e dei possibili impatti che di contro potrebbero danneggiarli (Pearce et al., 2011). Tuttavia la biologia di questa specie ha ricevuto relativamente poca attenzione nel tempo (Culloty et al., 2010).

Studi svolti in reef dell'Atlantico occidentale affermano che *S. alveolata* è capace di riprodursi durante tutto l'anno anche se mostra due picchi riproduttivi principali generalmente nei mesi Marzo-Aprile e Luglio-Settembre (Ayata et al., 2009, 2010), con la fase di rilascio delle uova concentrata tra i mesi di Febbraio e Aprile (Eckelbarger, 1976; George & Warwick, 1985; Pearce et al., 2007). Tuttavia è stato osservato che lungo le coste nord-occidentale della Francia *S. alveolata* può essere in grado di riprodursi anche in inverno grazie a riserve di cibo sufficienti (Gruet & Lassus, 1983; Culloty et al., 2010).

La capacità di riprodursi durante tutto l'anno con picchi riproduttivi registrati principalmente nel periodo primaverile-estivo è stata confermata anche per *S. spinulosa* in studi condotti lungo le coste Adriatiche del Mediterraneo (Lezzi et al., 2015). Tuttavia la fase di rilascio delle uova può risalire al periodo Gennaio-Marzo (Wilson, 1970) o essere riconducibile ai mesi di Marzo-Aprile e Luglio-Settembre (Ayata et al., 2009). Per gli individui di *S. spinulosa* subtidali presenti nel sud-ovest dell'Inghilterra, il rilascio delle uova dovrebbe avvenire quando il mare è ancora freddo, tra Gennaio e Marzo (Culloty et al., 2010).

La riproduzione è esclusivamente sessuale come in tutti i membri della famiglia, a sessi separati, con sperma e uova rilasciati in mare a metà estate (Kirtley, 1968; Culloty et al., 2010). Gli individui, prima di liberare i gameti, si presentano con addome di colore bianco opaco se maschi e di colore violaceo se femmine. Essi acquistano tendenzialmente un colore arancio-marrone ad espulsione avvenuta. Ciò nonostante differenziare i sessi in base alla loro colorazione sembra essere altamente improbabile (Wilson, 1929; Wilson, 1968a; Wilson, 1971; Gruet & Lassus, 1983; Culloty et al., 2010; Pearce et al., 2011; Lezzi et al., 2015).

Il ciclo vitale del genere *Sabellaria* è costituito da più fasi che vedono il rilascio dei gameti, lo sviluppo delle larve planctoniche, la metamorfosi della larva in individuo giovane sedentario e la crescita dell'individuo adulto bentonico (Pearce et al., 2011) (Fig. 15).

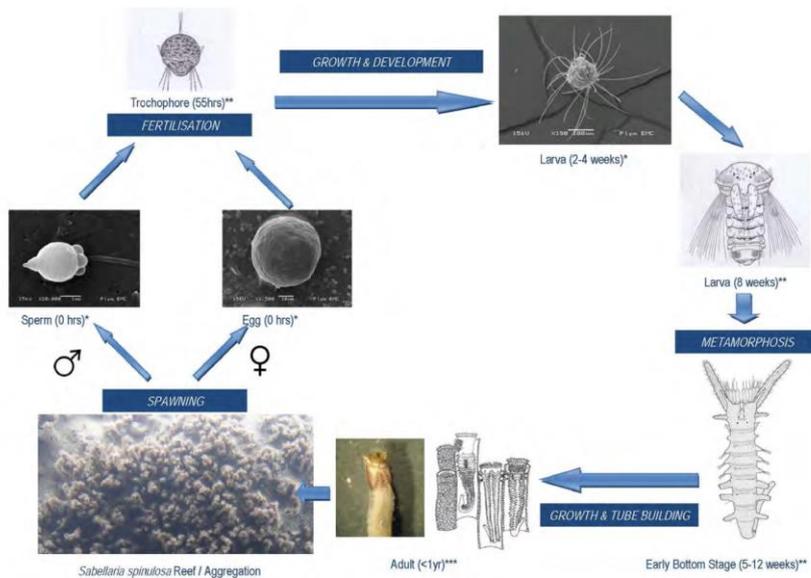


Fig. 15 – Rappresentazione grafica delle 5 fasi del ciclo riproduttivo *S. spinulosa* (Pearce et al., 2011).

*Sabellaria alveolata* mostra uova dalle maggiori dimensioni rispetto alla congenerica *S. spinulosa* (Wilson, 1929). Quest'ultima tuttavia mostra uova piccole ma dal differente diametro: uova dal diametro di circa 100  $\mu\text{m}$  sono state descritte da Lezzi et al. (2015) in studi mediterranei, mentre uova con diametro di 50  $\mu\text{m}$  o 150  $\mu\text{m}$  sono stati segnalati rispettivamente da Wilson (1929) e Pearce et al. (2011) in acque atlantiche. Gli spermatozoi hanno una forma primitiva con una punta lunga assottigliata, forse per favorire il movimento nella colonna d'acqua. Il numero di uova prodotte probabilmente viene influenzato da fattori ecologici quali la dimensione della popolazione e la disponibilità di cibo (Giangrande, 1997). Tuttavia sembra che per il genere *Sabellaria* i tassi di deposizione delle uova aumentino con l'aumentare della temperatura (Culloty et al., 2010) a differenza di molti altri Policheti la cui deposizione sembra essere influenzata dalle correnti di marea (Bentley & Pacey, 1992; Olive, 1992).

Circa 10-12 ore dopo la fecondazione, l'embrione perde il suo vischioso rivestimento e si schiude divenendo una semplice larva trocofora con brevi ciglia nella parte superiore (Zale & Merrifield, 1989). Per specie di *S. spinulosa* adriatiche, sembra che la larva trocofora possa essere osservata 2 giorni dopo la fecondazione (Lezzi et al., 2015).

La metamorfosi larvale dura dalle 4 alle 36 settimane, sebbene nella maggior parte dei casi sembra che il giovane individui si formi alla ottava (Wilson, 1970; Ayata et al., 2009) o tra la quarta e la decima settimana (Dubois et al., 2007). Questa lunga fase planctonica sembra aumentare il potenziale di dispersione delle specie. La dispersione può essere vantaggiosa in quanto agisce per ridurre la competizione per il cibo e per lo spazio e per facilitare la colonizzazione di nuove aree,

ma svantaggiosa perché le larve rischiano di essere trasportate in ambienti meno ospitali (Pechenik, 1999).

Alcuni autori hanno descritto lo sviluppo larvale di *S. alveolata* distinto in quattro stadi (Cazaux, 1964; Wilson, 1968b; Dubois et al., 2007; Brinkmann & Wanninger, 2010):

- Fase 1: larva trocofora, 90-120  $\mu\text{m}$  di lunghezza, priva di segmentazione;
- Fase 2: giovane larva metatrocofora, 120-350  $\mu\text{m}$ , con apparizione del segmento addominale;
- Fase 3: larva metatrocofora adulta, 350-500  $\mu\text{m}$ , con una pigmentazione più scura, un incremento nella segmentazione addominale e la formazione di due gemme tentacolari;
- Fase 4: larva pronta per l'insediamento, più di 500  $\mu\text{m}$ , con grandi segmenti addominali, allungamento dei palpi tentacolari e formazione delle future pale.

La metatrocofora è lo stadio avanzato dello sviluppo della trocofora; dopo parecchie settimane di vita planctonica, la trocofora perde le ciglia, cade sul fondo e qui assume un definitivo aspetto vermiforme; inoltre essa comincia a strisciare e ad esplorare il fondo, alla ricerca di sabbia per costruire il tubo (Relini, 2009; Lezzi et al., 2015).

Per gli organismi, è necessario che le larve raggiungono un habitat adatto per terminare lo sviluppo larvale; fase favorita in condizioni di correnti di marea elevate (Ayata, 2010).

Gli individui giovani misurano circa 700  $\mu\text{m}$  in lunghezza. Essi inizialmente sviluppano una struttura opercolare formata esclusivamente da due file di pale e da due tentacoli. Con lo sviluppo, pale e tentacoli crescono nel numero e mutano nella forma. I tentacoli anteriori vengono utilizzati per raccogliere granelli di sedimento, mentre le pale sono utilizzate nella manipolazione dei granelli durante la costruzione del tubo. Dopo circa 2 mesi, l'opercolo completa il suo sviluppo e l'individuo diviene adulto. Ogni individuo può definirsi maturo dopo circa un anno. Esso riesce a vivere 4-5 anni (Ayata, 2010), anche se secondo alcuni autori, la vita può allungarsi fino a 10 anni (Wilson, 1971).

### 1.5 Cenni sui principali taxa associati ai reef di *S. alveolata*

Le biocostruzioni edificate da *S. alveolata*, morfologicamente molto complesse e articolate, sono in grado di fornire importanti benefici all'ecosistema in cui si sviluppano. Tra essi, in particolar modo, si registra la capacità di controllare direttamente o indirettamente la disponibilità di risorse per altri individui e di creare habitat per altri organismi modificando l'ambiente in cui si accrescono (Jones et al., 1994; Dias & Paula, 2001; Delbono et al., 2003; Dubois et al., 2006; Desroy et al., 2011). Offrendo un habitat favorevole a molti altri invertebrati, i reef possono incrementare la biodiversità locale. Molti degli organismi associati alle biocostruzioni non si limitano a essere semplici residenti (*dwellers*) ma ricoprono ruoli importanti per la biocostruzione stessa (Bianchi, 2001). Studi hanno dimostrato che esiste una relazione inversa tra la densità di *Sabellaria* e l'abbondanza della fauna associata ai suoi reef. Quando la densità della specie costruttrice è elevata, i policheti competono con le altre specie soprattutto nella filtrazione del cibo, mentre quando la densità è più bassa, la competizione si riduce e la presenza di tubi vuoti favorisce la colonizzazione da parte di altri organismi, capaci di insediarsi anche negli interstizi (Gruet, 1970; Relini, 2009; Schlund et al., 2016). L'abbondanza della fauna sembra essere influenzata anche dalla complessità strutturale del reef, data dalla presenza di cavità, intercapedini, tubi rimasti vuoti in numero e dimensioni variabili (Gruet, 1984). In studi condotti in acque atlantiche, una grande varietà di taxa è stata riportata in associazione a questo habitat (Dauvin & Delhay, 2010; Dias & Paula, 2001; Dubois et al., 2002, 2006; Desroy et al., 2011; Echavarri-Erasun et al., 2007). In particolare si segnala la presenza di Molluschi, come mitili (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) e ostriche (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793), Sipunculidi (*Golfingia vulgaris* de Blainville, 1827), Poriferi, Briozoi e Cnidari. Tra i Crostacei, Decapodi (*Hemigrapsus takanoi* Asakura & Watanabe, 2005), Tanaidacei (*Parasinelobus chevreuxi* Dollfus 1898), Isopodi (*Campecopea hirsuta* Montagu, 1804) e Anfipodi (*Jassa marmorata* Holmes, 1905). Tuttavia, la maggior parte della fauna associata è solitamente rappresentata da altri Policheti costituiti principalmente dalle famiglie: Phyllodocidae Örsted, 1843, Syllidae Grube, 1850 e Nereididae Blainville, 1818. Anche in Mediterraneo la fauna associata sembra essere prevalentemente costituita da Molluschi, Crostacei e soprattutto da Policheti, meglio rappresentati da specie come *Nereis falsa* Quatrefages, 1866 (fam. Nereididae) e *Eulalia viridis* (Linnaeus, 1767) (fam. Phyllodocidae), abili predatori capaci di nutrirsi di *S. alveolata* (Porrás et al., 1996; La Porta et al., 2009).

Tra le specie associate ai reef di *S. alveolata* molte vengono descritte come preferenziali, mentre poche vengono riportate come esclusive (sensu Pérès & Picard, 1964). Tra quest'ultime si annovera il Fillodocide *Eulalia ornata*, una delle 60 specie appartenenti al genere *Eulalia* Savigny, 1822,

attualmente registrato nei *reef* atlantici di *S. alveolata* come specie stabilmente presente, la cui costante abbondanza fa di queste formazioni un habitat particolarmente favorevole al suo insediamento (Pleijel & Dales, 1991; Pleijel, 1993; Dubois et al., 2003; Mayer, 2012). Si tratta di una specie intertidale occasionalmente ritrovata nelle crepe di substrati duri, e, come molti Fillostocidi, definita *raptorial feeder*, ossia specie carnivora capace di nutrirsi di altri microinvertebrati grazie alla estroflessione rapida della faringe comunemente supportata da mascelle chitinee (Samaniego & Borroy, 2012).

Attualmente il range di *E. ornata* comprende la parte occidentale del Mare del Nord e l'Atlantico orientale, dalle Isole Britanniche alla costa iberica. La specie appare particolarmente comune lungo la Manica e la costa atlantica francese (Heip & Niermann 1989; Pleijel, 1993; Eibye-Jacobsen, 1989; Dauvin et al., 2003; Serrano & Preciado, 2006). Inoltre essa è stata registrata lungo la costa atlantica del Marocco (Fauvel, 1936) e in Giappone (Imajima, 2003), anche se questo ultimo *record* richiederebbe un'ulteriore conferma dopo un confronto con la specie congenerica *E. gemina* Kato & Mawatari, 2001, endemica, morfologicamente simile e particolarmente diffusa nelle acque giapponesi.

Prima del presente studio *E. ornata* non era stata elencata tra le otto specie del genere presenti nel Mediterraneo (Coll et al., 2010). Di contro, in associazione con i *reef* di *S. alveolata* del Mediterraneo centro-occidentale veniva comunemente segnalata la congenerica *E. viridis* (La Porta & Nicoletti, 2009; Marzialetti et al., 2009; Porras et al., 1996), taxon definito problematico da Bonse et al. (1996) per la somiglianza morfologica e la distribuzione a tratti sovrapposta con alcune specie congeneriche come *E. clavigera* (Audouin & Milne Edwards, 1833) e la stessa *E. ornata*.

*Eulalia viridis* possiede caratteri morfologici molto simili a quelli di *E. ornata* che in passato hanno creato confusione nel discriminare le due specie (Bergström, 1914; Eibye-Jacobsen, 1991). *Eulalia ornata* venne infatti originariamente descritta da Saint-Joseph (1888) (Fig. 16) come una specie atlantica morfologicamente simile a *E. viridis*, da cui si differenziava per il segmento buccale molto pronunciato, per il cirro anale ben sviluppato e per la colorazione del corpo con due bande verdi ben distinte lungo tutto il corpo. Successivamente, McIntosh (1908) aveva indicato la specie come varietà di *E. viridis* in quanto non aveva trovato i caratteri sopra citati sufficientemente distinguibili tra le due specie. Nel 1915 Allen mise in dubbio la revisione proposta da McIntosh (1908), e riportò *E. ornata* come specie valida. Tuttavia Fauvel (1923) tra le specie della fauna francese, ritornò ad elencare solo *E. viridis* come specie valida mentre indicò *E. ornata* come varietà di quest'ultima (*E. viridis* var. *ornata*). Tali incongruenze tassonomiche nel discriminare le specie furono probabilmente causate da uno sviluppo tardivo, comune nel genere *Eulalia*, dell'antenna mediana e

dei cirri tentacolari del terzo segmento del corpo, caratteri tassonomici chiave per l'identificazione delle specie, come sostenuto da Pleijel (1991). Lo stesso autore nel 1993 descrisse *E. ornata* come specie morfologicamente distinguibile da *E. viridis* per la presenza di cirri dorsali appuntiti dalla lunghezza ben definita e per un distinto pattern di colorazione caratterizzato da due paia di bande trasversali verde-oliva e macchie scure mediane lungo i segmenti del corpo (Fig. 17).

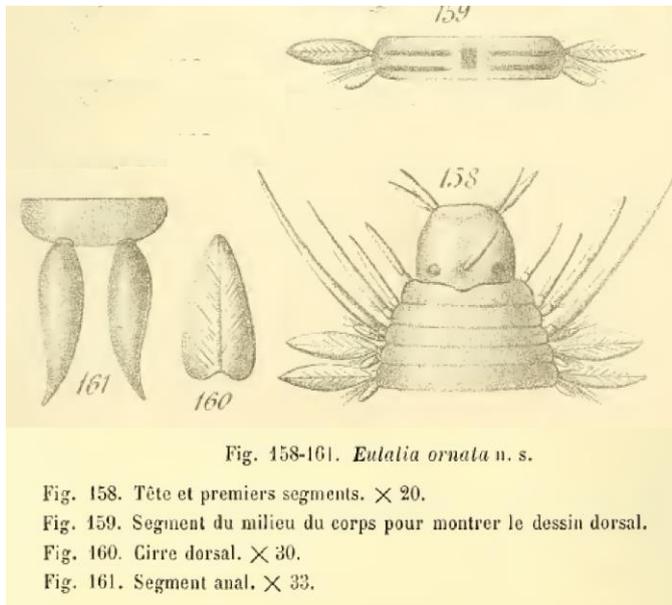


Fig. 16 – Iconografia di *E. ornata* di Saint-Joseph (1888)

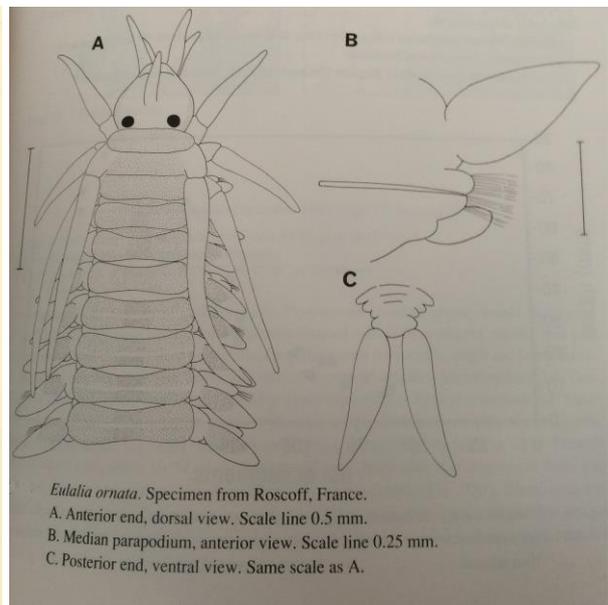


Fig. 17 – Iconografia di *E. ornata* di Pleijel (1993)

La difficoltà di distinzione delle due specie congeneriche può essere conseguenza anche di areali non chiaramente distinti. L'areale di *E. viridis* è infatti apparso a tratti sovrapponibile con quello di *E. ornata* (Fig. 18), con *E. viridis* segnalata dalle coste della Svezia fino al Marocco, occasionalmente riportata lungo le coste della Groenlandia, le coste orientali del Canada e della Columbia Britannica (Bonse et al., 1996; Baldwin et al., 2014). In passato *E. viridis* è stata inoltre riportata più volte negli ambienti poco profondi del Mediterraneo e nel Mar Nero (Fauvel, 1923; Pleijel, 1993; Ergen & Çinar, 1997; Çinar & Gönlügür-Demirci, 2005; Castelli et al., 2008). Tuttavia, secondo alcuni autori (Bonse et al., 1996; Çinar & Gönlügür-Demirci, 2005), i record del Mediterraneo e dell'Atlantico orientale potrebbero riferirsi alla specie congenerica *Eulalia clavigera* (Audouin & Milne-Edwards, 1833), mentre *E. viridis* dovrebbe essere probabilmente limitata al Mare del Nord e alla costa scandinava. Ciò viene testimoniato e avvalorato dai più recenti documenti faunistici che non menzionano *E. viridis* tra i policheti mediterranei e che suggeriscono una revisione delle precedenti segnalazioni della specie al di fuori dell'area scandinava (Kurt Şahin & Çinar, 2012; Çinar et al., 2011, 2014; Çinar, 2013; Dorgham et al., 2014; Mikac, 2015). Così come accaduto per *E. ornata*, anche l'identificazione di *E. viridis* ha destato alcune difficoltà rispetto alla sua vicariante atlanto-mediterranea *E. clavigera* mostrante caratteri

morfologici simili. *Eulalia clavigera* è una specie registrata lungo le coste della Gran Bretagna, della Spagna e del Mediterraneo orientale (Fig. 18). Vive tra alghe, mitili, balani, in crepe, su scogliere rocciose, su scogliere di *Dendropoma cristatum* (Biondi, 1859), praterie di *Posidonia oceanica* e formazioni coralligene. Fino ad ora non è mai stata elencata tra le specie associate ai reef di *S. alveolata* (Bonse et al., 1996; Viéitez et al., 2004; Çinar et al., 2005).



Fig. 18 – Distribuzione Atlantico-Mediterranea di *E. viridis* conosciuta precedentemente a tale ricerca e apparsa a tratti sovrapposta con la distribuzione di due specie congeneriche (*E. ornata* ed *E. clavigera*).

## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1 Area di studio e Campionamento

La campagna di campionamento è stata condotta nel Giugno 2013 lungo il Canale di Sicilia (Mediterraneo centrale) in un tratto della costa sud-occidentale dell'isola lungo circa 190 km, in tre località: Triscina-TR (37.58° N, 12.80° E), Eraclea Minoa-EM (37.39° N, 13.28° E) e Donnalucata-DL (36.75° N, 14.64° E) (Fig. 19) distanti rispettivamente 50 km Triscina- Eraclea Minoa e 140 km Eraclea Minoa-Donnalucata. La costa siciliana si presentava bassa, caratterizzata da fondali sabbiosi localmente intervallati da praterie di *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile, 1813 presente in particolare a Triscina, e da coste rocciose. Essa era interessata dallo scorrere di diversi fiumi e da una escursione di marea limitata a pochi centimetri.

I prelevamenti sono stati svolti durante immersioni, mediante tecniche di carotaggio; tali tecniche si rivelano particolarmente adatte al prelievo di campioni di macrobenthos poiché non provocano significativi disturbi ai campioni, causano un dilavamento del materiale relativamente limitato e mantengono inalterata la stratificazione presente nei campioni.

Per ogni località sono stati prelevati 8 porzioni di biocostruzione (10×10×10 cm) scelti in maniera random da due siti vicini indicati con le sigle TR1/TR2 per Triscina, EM1/EM2 per Eraclea Minoa e DL1/DL2 per Donnalucata, dai quali sono stati campionati quattro repliche spaziali (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>) (Fig. 20). Per evitare effetti dovuti dal verificarsi di habitat circostanti, ogni blocco è stato estratto dalla porzione centrale della formazione. I campioni prelevati, sono stati conservati in tubi in plastica contenenti alcol etilico al 70% per le successive analisi da laboratorio.



Fig. 19 – Mappa di campionamento lungo la costa meridionale della Sicilia (Canale di Sicilia)

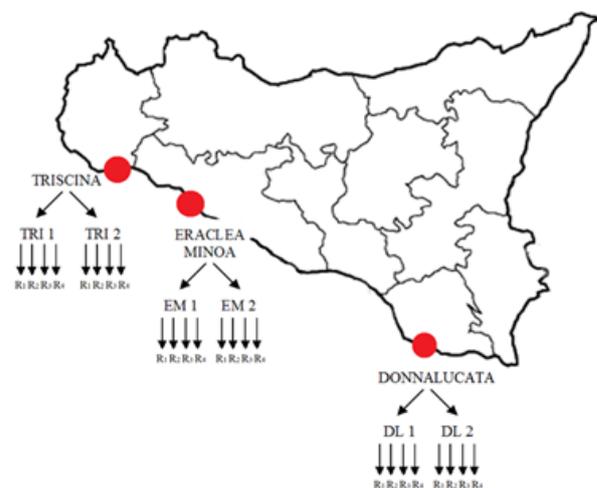


Fig. 20 – Piano di campionamento comprendente 4 repliche per ognuno dei due siti di ogni località

Nelle località campionate le biocostruzioni mostravano strutture macroscopiche a forma di cuscinetto con una tipica struttura definita “*brain-like structure*”, con intercapedini e tubi di forma e dimensione variabile (Fig. 21). A Triscina le scogliere mostravano diametro di circa 0,5 m e altezza di circa 30 cm. Essi erano situati a 3 m di profondità su fondale sabbioso intervallato a ciottoli nei pressi di una prateria di *P. oceanica*. A Eraclea Minoa le scogliere apparivano notevolmente più grandi, con diametro di circa 2 m e altezza di 1,5 m. Essi si sviluppavano a 3 m di profondità su fondale sabbioso. A Donnalucata le scogliere con altezza di circa 0,5 m, mostravano un diametro di 1 m. Disposte a 1,5 m di profondità, si sviluppavano sul fondo sabbioso.



Fig. 21 – Blocchi di *S. alveolata reef* dalla tipica forma “*brain-like structure*” (Eraclea Minoa)

## 2.2 Sorting

In laboratorio, ogni blocco di biocostruzione estratto è stato posto su carta millimetrata e fotografato. I campioni conservati in alcool etilico, sono stati successivamente smistati con attività di *sorting* e accurata setacciatura del campione. Per quest’ultima non sono stati utilizzati setacci e l’estrazione degli individui è avvenuta manualmente.

Tutti gli organismi superiori a 5 mm sono stati estratti dai blocchi di biocostruzione ad occhio nudo (Fig. 22), mentre i rimanenti, di più piccole dimensioni, sono stati separati allo stereomicroscopio con l’ausilio di strumentazione da laboratorio (Fig. 23).



Fig. 22 – Capsula Petri con individui di *Sabellaria* estratti ad occhio nudo



Fig. 23 – Strumentazione da laboratorio utile alla estrazione degli individui di dimensioni non visibili ad occhio nudo

Più processi di setacciatura del materiale inorganico residuo (sabbia) sono stati eseguiti per ogni replica al fine di verificare la presenza di individui sfuggiti ai controlli precedenti. In particolare la sabbia sgranellata posta su veli con maglie dal diametro crescente è stata sottoposta a lavaggi con alcool e successivamente ricontrollata (Fig. 24).



Fig. 24 – Fasi di setacciatura: (A) ricontrollo sabbia sgranellata al microscopio, (B) controllo sabbia fine depositata sui tubi di plastica, (C) lavaggio con alcool etilico di maglie utilizzate come setaccio durante il sorting.

Una volta completata l'estrazione, i campioni sono stati conservati in alcool assoluto per le successive analisi da laboratorio. La scelta di utilizzare alcool etilico assoluto, nasce dalla capacità che esso possiede di fissare i tessuti dei campioni da conservare. Esso infatti costituisce una fra le sostanze chimiche maggiormente impiegate nei laboratori di zoologia anche per la conservazione degli esemplari destinati ad indagini genetiche, per la capacità di penetrare rapidamente nella membrana cellulare dei campioni e di disattivare enzimi che possono danneggiare il DNA.

### 2.3 Identificazione dei taxa presenti nelle biocostruzioni

Gli individui rinvenuti integri sono stati accuratamente contati, suddivisi nei taxa di appartenenza e identificati fino al più basso livello tassonomico possibile. Per ogni località, la comunità è stata descritta attraverso alcuni parametri quali frequenza della specie costruttrice (espressa in percentuale sul totale degli individui raccolti), abbondanza totale individui (N, numero complessivo di individui per replica) e ricchezza specifica totale (S, numero totale di specie presenti in ogni località). Il riconoscimento fino a livello di specie ha interessato principalmente due gruppi: Policheti ed Anfipodi. Nell'ambito dei Policheti, inizialmente gli individui sono stati suddivisi a livello di famiglia. Tra esse in particolare sono state riconosciute le famiglie di Sabellaridi, Fillodocidi e Sillidi. Con il termine di "altri Policheti" sono stati indicati i Policheti appartenenti ad altre famiglie presenti con abbondanze minori. Con il termine "Crostei" sono stati raggruppati gli individui appartenenti agli ordini Anfipodi, Decapodi e Isopodi. Tra essi, solo all'interno del gruppo degli Anfipodi è stato condotto un esame morfologico per l'identificazione fino a livello di specie. Con il termine "taxa vari" sono stati indicati taxa presenti con abbondanze minime, non identificati fino a livello di specie. Su tutte le famiglie di Policheti presenti, uno studio multidisciplinare con analisi morfologiche integrate, ove necessario, con studi molecolari e morfometrici, è stato eseguito per una identificazione a livello di specie. Approfondimenti hanno riguardato il genere *Sabellaria* rappresentato dalla specie costruttrice *S. alveolata* e la coesistente *S. spinulosa*, e la specie *Eulalia ornata* (Famiglia Phyllodocidae) per l'abbondanza registrata nei reef.

### 2.4 Identificazione morfologica genere *Sabellaria*

Per l'identificazione tassonomica delle specie appartenenti al genere, la struttura opercolare e la presenza/assenza di spine nucali sottoepidermiche sono stati considerati caratteri chiave per il riconoscimento e per la corretta distinzione delle specie (Fig. 25 A-B).

Seguendo la revisione di Kirtley (1994), particolare rilievo nella caratterizzazione delle tre specie la cui distribuzione interessa l'area mediterranea, hanno assunto la disposizione delle tre file di pale dell'opercolo, il differente numero di dentelli e la diversa forma del margine esterno delle pale.

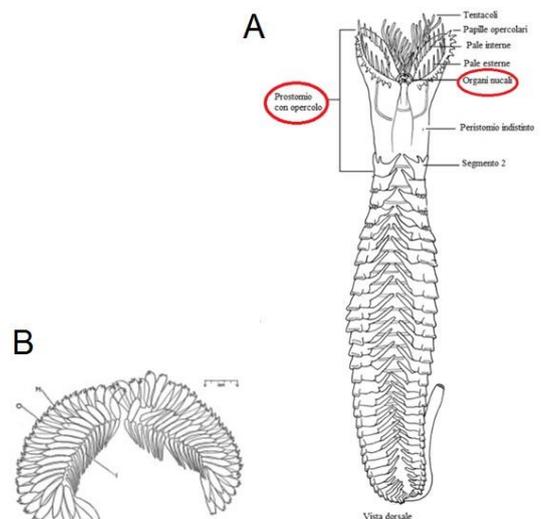


Fig. 25 – (A) Prostomio con opercolo e spine nucali, (B) Dettaglio disposizione pale opercolo, o: esterne, m: medie, i: interne.

## 2.5 Osservazioni al Microscopio elettronico a scansione (SEM) genere *Sabellaria*

L'analisi tassonomica tradizionale, in taluni casi e principalmente per individui di piccole dimensioni e di dubbia identificazione, è stata integrata da osservazioni al microscopio elettronico (SEM). Il SEM è uno strumento elettro-ottico che permette, in seguito all'emissione di un fascio di elettroni, di analizzare i vari segnali prodotti dall'interazione degli stessi con il campione in esame. L'elaborazione di questi segnali consente di ottenere un'ampia gamma di informazioni morfologiche e strutturali relative alle varie parti di cui è costituito il campione (Fig. 26).

La procedura utilizzata per la preparazione dei campioni da osservare al SEM ha previsto le seguenti fasi: 1) pulizia del campione; 2) disidratazione in concentrazioni crescenti di etanolo; 3) disidratazione al punto critico; 4) posizionamento del campione su un supporto; 5) metallizzazione con oro.

I campioni costituiti da 6 individui di *S. alveolata* e 6 di *S. spinulosa* con dimensioni comprese tra 3-60 mm, sono stati abbondantemente sciacquati con acqua distillata e successivamente disidratati. La procedura di disidratazione ha permesso di rimuovere l'acqua dai campioni grazie al passaggio in concentrazioni crescenti di etanolo (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, etanolo assoluto), fino al raggiungimento del punto critico (*critical point drying*). I campioni sono stati mantenuti ad ogni concentrazione di alcol per circa 1 ora mentre in etanolo assoluto per almeno un giorno. La procedura "*critical point drying*" è stata effettuata all'interno di una specifica strumentazione (BAL-TEC CPD 030) (Fig. 27) nella quale il fluido intermedio (in questo caso l'etanolo) è stato sostituito dal "fluido di transizione" ossia CO<sub>2</sub>, preferita in quanto il punto critico si raggiunge a T 31°C e P 73,8 bar, condizioni che evitano il danneggiamento dei campioni. Tale fase ha permesso il passaggio dalla fase liquida alla gassosa della CO<sub>2</sub> evitando la formazione di tensione superficiale.

I campioni disidratati e fortemente igroscopici, sono stati sottoposti ad un trattamento di metallizzazione attraverso specifica strumentazione (BAL-TEC SCD 050) (Fig. 28). Ricoperti da un sottilissimo strato di conduttore metallico (oro), capace di incrementare la conduttività, sono stati posti su appositi supporti circolari, chiamati "*stubs*" (disco di alluminio con diametro di 12,5 mm sorretto da un cilindretto coassiale, utile al montaggio sul porta campioni del microscopio) e fissati con nastro biadesivo. Una volta eseguita la metallizzazione i campioni sono apparsi pronti per le osservazioni (Fig. 29).

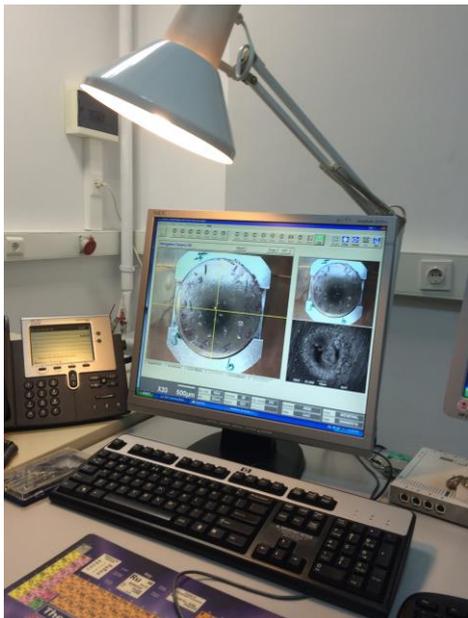


Fig. 26 – Strumentazione computerizzata necessaria alla visualizzazione della superficie del campione esaminato



Fig. 27 – Strumento per essiccazione dei campioni (BAL-TEC CPD 030)



Fig. 28 – Strumento per ricopertura metallica dei campioni (Baltec SCD 050)

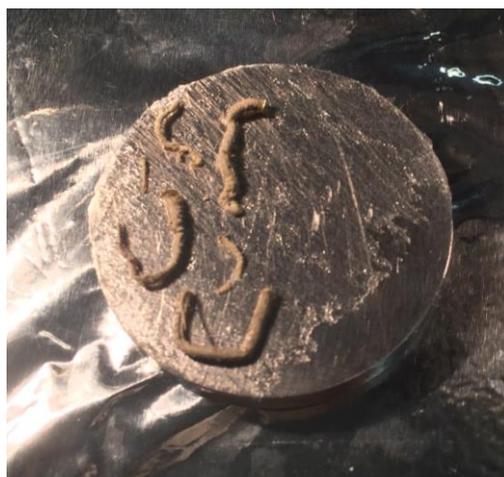


Fig. 29 – Supporto metallico (*stub*) con campioni mineralizzati di *S. alveolata* pronti per l'osservazione

## 2.6 Osservazioni mediante Microtomografia computerizzata (Micro-ct) genere *Sabellaria*

Le osservazioni morfologiche al microscopio ottico ed elettronico a scansione (SEM), sono state integrate da immagini anatomiche tridimensionali delle specie, ottenute mediante l'uso della microtomografia computerizzata (Micro-ct), un nuovo metodo di studio che può offrire notevoli vantaggi per la valutazione morfologica degli individui. Si tratta di una tecnica non distruttiva, che



Fig. 30 – Scanner Micro-ct per osservazioni tridimensionali di campioni.

consente di ottenere informazioni sulla struttura interna ed esterna dei campioni indagati, virtualmente sezionati in qualsiasi angolo, in modo piuttosto rapido, senza danneggiare il campione o senza trattarlo o sezionarlo preventivamente. Tutte le scansioni delle specie appartenenti al genere *Sabellaria* sono state effettuate con un Skyscan 1172 microtomograph (Fig. 30) presso il Centro di ricerca “Hellenic Centre for Marine Research” (HCMR) di Creta.

Per le scansioni i campioni sono stati collocati in punte per pipette Gilson in polipropilene, riempite con alcol etilico al 95%, la cui forma conica ha consentito al campione di stabilizzarsi, scivolando nel tubo fino a toccare delicatamente le pareti della punta della pipetta impedendone i movimenti (Fig. 31). Rispettivamente 6 esemplari adulti di *S. alveolata* e di *S. spinulosa* sono stati digitalizzati in due distinte scansioni seguendo due diversi protocolli.

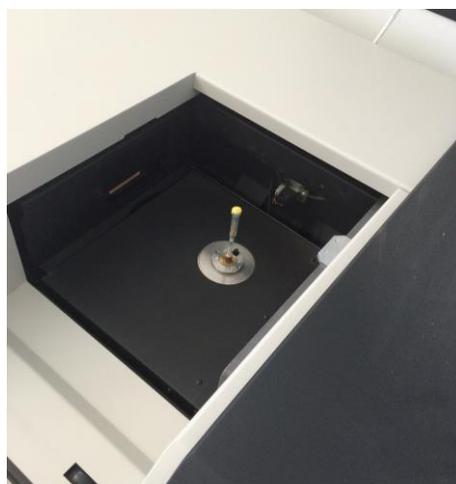


Fig. 31 – Particolare del supporto utilizzato per le osservazioni dei campioni

Nella prima scansione, gli individui di *S. alveolata* sono stati digitalizzati senza mezzo di contrasto, ad una tensione di 49kV e 198Ma, per una rotazione completa di 360° e alla massima risoluzione della fotocamera (4000px). Mentre individui di *S. spinulosa* hanno subito lo stesso processo ad una tensione di 48Kv e 198Ma. Nella seconda scansione, invece, gli individui di entrambe le specie sono stati trattati con un agente di contrasto, acido fosfotungstico (PTA): i campioni sono stati colorati in una miscela di 30 ml di PTA 1% e 70 ml di etanolo assoluto (soluzione al 0,3% di acido

PTA). L'acido fosfotungstico è noto per la capacità di legarsi a determinate proteine (fibrina, collagene), colorando principalmente l'epidermide dei Policheti con una riuscita maggiore rispetto ad altri agenti (es. iodio), l'estremità anteriore dell'animale (legame fibre di collagene), nonché le fibre muscolari del corpo e dell'apparato mascellare e della base delle setole. I campioni sono stati mantenuti con tale agente di contrasto per 6 giorni a temperatura ambiente e poi lavati in etanolo. La colorazione ha richiesto diverse settimane per grandi campioni dato che il PTA penetra lentamente nei tessuti; per favorire il legame del PTA in quantità elevate è buona norma rinnovare la soluzione frequentemente fino a raggiungere l'effetto di colorazione desiderato. L'etanolo invece permette di eliminare ogni traccia del colorante che potrebbe alterare la colorazione anche durante le osservazioni.

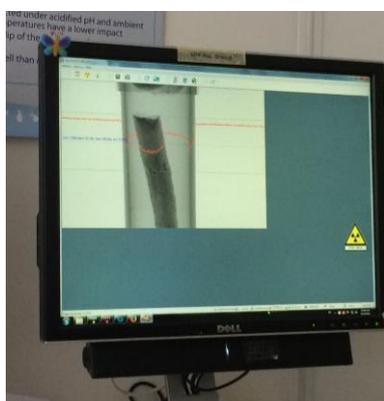


Fig. 32 – Processo di ricostruzione di immagini tridimensionali

Per l'elaborazione dei dati e la generazione di immagini tridimensionali è stato utilizzato il software SkyScan (Nrecon, CTVOX, DataViewer) (Fig. 32).

La fotocamera digitale a raggi X integrata ha garantito un'elevata risoluzione di immagine senza compromettere la dimensione del campione.

## 2.7 Analisi delle dimensioni opercolari in *S. alveolata*

Su un campione random di 480 individui di *S. alveolata* è stata effettuata la misurazione delle strutture opercolari, poiché il diametro maggiore (L) della corona opercolare è considerato un parametro biometrico proporzionale alla taglia e all'età del polichete, direttamente correlabile alla grandezza del tubo in cui l'individuo vive (Gruet, 1984). Per ogni località, 40 individui sono stati prelevati in maniera casuale da due repliche per sito (per un totale di 160 individui per sito). Le porzioni del prostomio rimosse alla base dell'opercolo, con l'ausilio di pinze e bisturi, sono state poste su carta millimetrata e misurati sul piano mediano-sagittale (Fig. 33).

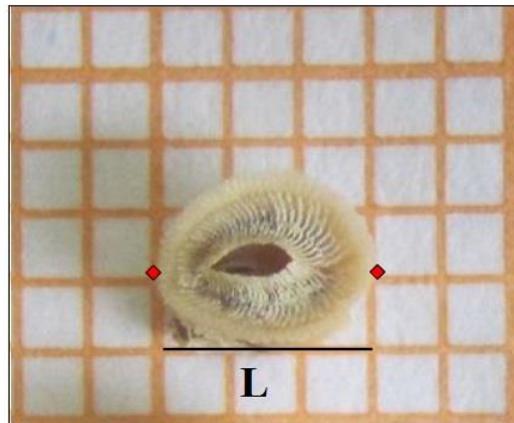


Fig. 33 – Sistema di misurazione del diametro opercolare (L) in individui di *S. alveolata*

Le misure opercolari sono state arrotondate al valore numerico più vicino, per facilitare il successivo input di dati nell'elaborazione statistica: 0,5 mm (per misure comprese tra 0 e 0,7 mm), 1 mm (0,7-1,3 mm), 1,5 mm (1,3-1,8 mm), 2 mm (1,8-2,3 mm), 2,5 mm (2,3-2,8 mm), 3 mm (2,8-3,3 mm), 3,5 mm (3,3-3,8 mm), 4 mm (3,8-4,3 mm) 4,5 mm (4,3-4,8 mm) e 5 mm (4,8-5,3 mm). I dati sono stati pertanto riordinati in classi di taglia con intervallo complessivo di 0,5-5 mm e ampiezza di intervallo di 0,5 mm, con le quali sono state condotte le successive analisi grafiche e statistiche.

Le misure calcolate in ogni replica sono state rappresentate graficamente in rapporto al numero degli individui. In ogni grafico sono stati indicati i valori di diametro medio ( $\bar{x}$ ) e deviazione standard ( $\sigma$ ). Istogrammi di frequenza hanno mostrato la distribuzione delle classi di taglia opercolare per ogni località.

Successivamente la correlazione tra il diametro opercolare medio registrato tra le repliche e il numero di individui campionati in ogni replica è stata elaborata. La quantificazione della relazione tra le due variabili è stata stimata mediante l'indice di Pearson (Pearson, 1896), indice statistico applicabile ad un numero relativamente poco elevato di campioni. La correlazione di Pearson individua relazioni di tipo esclusivamente lineare tra le variabili confrontate e assume valori compresi tra -1 e 1. Un secondo test, il test t di Student, ha permesso di testare la probabilità che la correlazione non sia dovuta al caso. La significatività del coefficiente di correlazione ( $r$ ) è stata verificata usando la seguente funzione:

$$t = r \sqrt{\frac{n - 2}{1 - r^2}}$$

I dati sulle misure opercolari sono stati analizzati con l'analisi della varianza (ANOVA) basata su un disegno sperimentale che ha previsto la scelta di un fattore "Località" (Loc), random, 3 livelli, e un fattore "Sito" (Si) gerarchizzato in Loc, 2 livelli. Lo stesso disegno seguito per le analisi multivariate a livello di comunità.

Per fornire una rappresentazione grafica dei valori di taglia della popolazione campionata, è stato elaborato un grafico a scatola e baffi (box-plot) ottenuto a partire dai dati di sintesi della taglia della popolazione all'interno delle località in esame (taglia minima, 1° quartile Q1, taglia mediana, 3° quartile Q3, taglia massima). A tali dati sono stati associati indici di posizione o indici di tendenza centrale (media, moda e mediana) con i quali è stato descritto attorno a quale valore era centrato l'insieme di dati.

La scatola box-plot ha mostrato come estremi inferiore e superiore rispettivamente Q1 e Q3, indici di posizione non centrale, detti quartili, che dividono l'insieme di dati ordinati in 4 parti uguali.

In particolare con la sigla  $P_{0.25}$  è stato indicato il primo quartile Q1, detto anche 25-esimo percentile, valore entro cui ricade il primo 25% dei dati riordinati secondo un ordine crescente (dal valore minimo registrato a valore massimo) mentre il terzo quartile Q3, indicato con la sigla  $P_{0.75}$  detto anche 75-esimo percentile, valore entro cui ricade il 75% dei dati.

La distanza tra Q3 e Q1 (scarto o differenza interquartile) è un indice di dispersione che misura di quanto i valori si allontanano da un valore centrale. Esso è stato visualizzato nel diagramma box-plot come differenza tra il terzo e il primo quartile, ovvero l'ampiezza della fascia di valori che contiene la mediana. Il rapporto tra i quartili (utile misura di dispersione dei dati) è stato espresso dal coefficiente di variazione interquartile (CQV).

Per testare l'esistenza di una variazione significativa tra i dati di taglia annotati e graficizzati, è stato eseguito il test di Fisher o F-test usato nei casi in cui i dati non seguono una distribuzione gaussiana o se il numero di casi misurati non è elevato. Il F-test ha permesso di confrontare le varianze e di validare l'ipotesi nulla secondo la quale le variazioni di taglia tra le località non erano significativamente diverse. Statisticamente infatti la varianza totale (somma dei quadrati degli scarti dei dati dalla media generale di tutti i dati), può essere suddivisa in varianza tra i gruppi (somma dei quadrati degli scarti delle medie dei gruppi dalla media generale) e varianza entro i gruppi (somma dei quadrati degli scarti dei dati dalla media di ogni gruppo).

$$F = \text{Varianza tra i gruppi} / \text{Varianza entro i gruppi}$$

$$F = \text{Devianza tra i gruppi} / \text{g.d.l.} / \text{Devianza entro i gruppi} / \text{g.d.l.} = \text{SSW} / \text{g.d.l.} / \text{SSB} / \text{g.d.l.}$$

g.d.l. = gradi di libertà

Il valore di F ottenuto è stato confrontato con quello critico, fornito dalla tavola di distribuzione, in corrispondenza dei gradi di libertà calcolati. Il confronto con valori tabulati ha permesso di accettare o rifiutare l'ipotesi nulla secondo cui non vi è differenza tra le due medie campionarie.

## 2.8 Identificazione morfologica della fauna associata ai *reef* di *S. alveolata*

Gli individui della fauna associata sono stati raggruppati secondo il taxa di appartenenza, contati e ove possibile, identificati fino a livello di specie.

L'identificazione morfologica della famiglia dei Fillodocidi è avvenuta con l'ausilio di testi base (Fauchald, 1977; Pleijel, 1993; Viéitez et al., 2004; Eklöf, 2010). Le specie sono state classificate in base allo studio di caratteri diagnostici presenti nel capo e nel corpo: disposizione della antenna mediana sul prostomio, forma di faringe e disposizione papille al suo interno, colorazione e pattern di pigmentazione del corpo, lunghezza e forma dei cirri tentacolari sui primi 3 segmenti del corpo, forma e dimensioni dei parapodi lungo tutto il corpo. Un confronto sulla base dei caratteri morfologici riscontrati è stato effettuato tra la specie *E. ornata* rinvenuta nei *reef* siciliani e due specie congeneriche: *E. viridis* (Linnaeus, 1767) e *E. clavigera* (Audouin & Milne Edwards, 1833), considerate morfologicamente simili alla specie in esame e con un areale a tratti sovrapposto (Pleijel, 1993; Bonse et al., 1996). Una analisi morfometrica, seguendo il metodo di Pleijel (1993) è stata effettuata su ventiquattro individui (8 per località) appartenenti alla specie *E. ornata*, scelti tra un *pool* casuale di esemplari. Gli individui sono stati osservati al microscopio, posti su carta millimetrata e fotografati (FINEPIX S1800, FUJIFILM). Il rapporto tra la lunghezza totale del corpo misurata dalla testa, in corrispondenza della antenna centrale, alla coda, e il numero totale di segmenti in cui era suddiviso il corpo è stato confrontato con il rapporto (numero di segmenti/lunghezza corpo) di campioni atlantici provenienti da Brittany and Arcachon (Francia). Le differenze ottenute sono state analizzate mediante analisi della varianza (ANOVA) e i risultati rappresentati in un grafico. I parapodi di diverse porzioni del corpo di alcuni esemplari siciliani sono stati sezionati, disegnati utilizzando un microscopio ottico Leica 4000B con camera lucida e mostrati in una tavola iconografica.

Il riconoscimento delle specie appartenenti alla famiglia dei Sillidi è avvenuto grazie alla consultazione della trattazione di San Martín (2003) corredata a lavori recenti (Musco & Giangrande, 2005; Aguado & San Martín, 2009; Aguado et al., 2012; Musco, 2012). La loro identificazione è risultata talvolta difficile e ha richiesto molta attenzione a causa delle piccole dimensioni degli individui, generalmente di pochi mm di lunghezza. Il loro riconoscimento appare favorito dall'osservazione dei segmenti (metameri) del corpo, di numero variabile (30-300) in relazione alle dimensioni del corpo ed alla sottofamiglia di appartenenza (Aguado & San Martín, 2009; Aguado et al., 2012) e alla osservazione del proventricolo, organo di immagazzinamento di alimenti, molto cospicuo, a forma di barile, rivestito internamente da un epitelio ghiandolare e ricoperto da una serie di potenti fibre muscolari radiali, che fungono da pompa di suzione (Fauchald & Jumars, 1979). Le dimensioni del proventricolo così come la forma sono caratteristiche

importanti per la classificazione delle specie. Caratteri diagnostici utili al riconoscimento sono inoltre presenti nel prostomio: numero degli occhi; numero, disposizione e forma delle antenne dei cirri dorsali; struttura del parapodio. La colorazione fortemente diagnostica nelle specie vive osservate in campo tende sovente a sbiadire con la conservazione in etanolo dei campioni in laboratorio.

L'identificazione delle specie appartenenti alle restanti famiglie di Policheti è stata effettuata grazie alla consultazione del testo di Viéitez et. al. (2004).

Il riconoscimento degli Anfipodi è stato affidato alla consultazione dei manuali "The Amphipoda of the Mediterranean" (Ruffo et al., 1982, 1989, 1993, 1998) e allo studio dei peculiari caratteri diagnostici principalmente rappresentati dalla forma degli gnatopodi, primi due appendici del torace (pereon), e dell'urosoma, porzione terminale dell'addome degli individui.

Tutti gli individui identificati sono stati accuratamente fotografati e conservati in tubi con etanolo assoluto per eventuali future analisi.

## 2.9 Identificazione molecolare

A supporto dell'identificazione morfologica sono state effettuate analisi molecolari di *DNA Barcoding*. La tecnica proposta da Hebert et al. (2003), permette l'identificazione di organismi in modo rapido ed economico, attraverso l'utilizzo di marcatori molecolari universali noti e associando a singoli organismi delle sequenze nucleotidiche specifiche che rappresentano il loro "codice a barre molecolare".

La delimitazione molecolare delle specie oggetto di studio ha seguito le fasi che caratterizzano il processo:

1. Scelta dei campioni
2. Estrazione ed Amplificazione del DNA
3. Sequenziamento

In particolare, le analisi molecolari sono state condotte rispettivamente su 4 individui, 3 appartenenti al genere *Sabellaria* (*S. alveolata*, *S. spinulosa*, *S. cf. alcocki*) e uno alla famiglia dei Fillodocidi (*E. ornata*) campionati a Donnalucata (DL) (Fig. 19).

Per le specie del genere *Sabellaria* sono stati sequenziati il dominio D9/D10 del gene nucleare 28S e un frammento del gene mitocondriale COI (subunità I della citocromo c ossidasi) (Fig. 34). Il gene nucleare 28S molto conservato è solitamente usato per studiare le relazioni filogenetiche tra taxa di rango sopraspecifico (Friedrich & Tautz, 1997; Hwang et al., 1998; Whiting, 1998). Il Gene codificante per la citocromo C ossidasi I è stato proposto come possibile marcatore molecolare universale perché presente nel genoma mitocondriale di tutte le specie animali e vegetali. Per la specie *E. ornata* è stato sequenziato un frammento del gene mitocondriale COI.

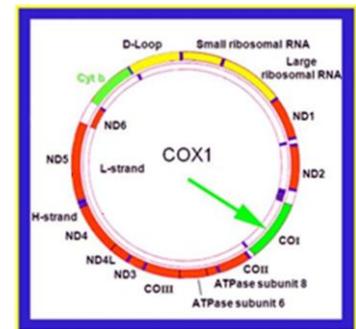


Fig. 34 – Genoma mitocondriale, dettaglio gene COI marcatore molecolare universale (freccia)



Fig. 35 – Kit estrazione (RBC Bioscience, Taiwan)

La fase di estrazione mediante membrana di Silica ha seguito un protocollo comune per tutte le specie in esame, grazie all'ausilio del kit di estrazione Genomic DNA Extraction Kit Tissue (*RBC Bioscience*, Taiwan) contenente, oltre le membrane stesse, vari reagenti atti a coadiuvare l'estrazione (Fig. 35). In particolare lo specifico protocollo di estrazione si è basato sulla proprietà degli

acidi nucleici di adsorbirsi alla silice a differenza di altre sostanze come proteine e altri composti organici. Per ognuna delle cinque fasi che caratterizzano il processo, sono stati utilizzati diversi buffer (soluzioni tampone) con specifiche funzioni (Fig. 36). La fase di lisi cellulare (rottura meccanica dei tessuti) è stata indotta dal GT buffer che stabilizza il Ph della soluzione e dalla proteinasi K, una peptidasi con un ampio range di specificità, capace di bloccare l'azione di alcuni enzimi di restrizione, le nucleasi, capaci di degradare il DNA. La fase di DNA *binding* ha visto il trasferimento della miscela su membrana silicea, membrana a scambio anionico che “intrappola” il DNA, a cui hanno fatto seguito una fase di *washes* (lavaggi con buffer appropriati) e una fase di *elution* (eluizione del DNA) che inducono la membrana di Silica a rilasciare il DNA.

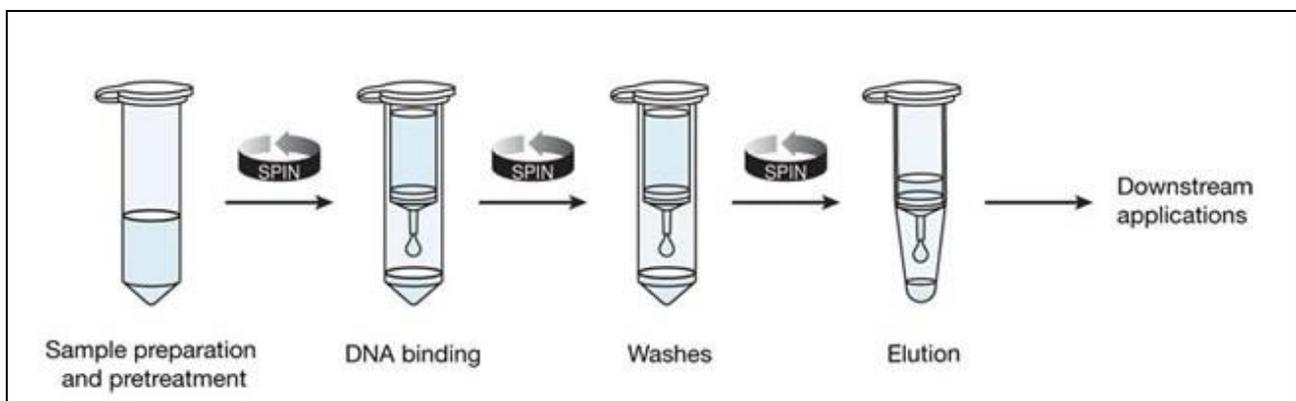


Fig. 36 – Schema riassuntivo delle cinque fasi di estrazione del DNA

L'amplificazione del DNA è avvenuta per mezzo di diversi protocolli di PCR (*Polymerase Chain reaction*), specifici per le specie oggetto di studio.

Per *S. alveolata* sono stati sequenziati 610 bp del gene mitocondriale citocromo ossidasi sub-unità I (COI) utilizzando le coppie di primer LCO-1490 e HCO-2198 (Folmer et al., 1994). La PCR è stata ottimizzata in un volume di 25  $\mu$ L contenente 1  $\times$  PCR *buffer*, 2 mM  $MgCl_2$ , 0,4 mM dNTP, 5% DMSO, 2,5 U *Taq* polimerasi (*Roche*, Italy), 1,6  $\mu$ L di ogni primer, 80-100 ng di DNA stampo.

Il ciclo ha seguito le seguenti condizioni: denaturazione iniziale a 95°C per 4 minuti, 5 cicli a 95°C per 60 sec, 44°C per 60 sec e 72°C per 60 sec, seguiti da 30 cicli a 95°C per 60 sec, 48°C per 60 sec e 72°C per 60 sec. La fase di estensione finale a 72°C per 8 min ed il raffreddamento finale a 4°C.

Per *S. spinulosa* e *S. cf. alcocki* sono stati sequenziati 610 bp utilizzando una coppia di primer degenerati, dgLCO-1490 e il dgHCO-2198 (Meyer, 2003). La PCR è stata ottimizzata in un volume di 25  $\mu$ L contenente 1  $\times$  Incomplete  $NH_4$  *Reaction buffer*, 2 mM  $MgCl_2$ , 0,2 mM dNTP, 0,5 U *Taq* polimerasi (Bioron GmbH, Germany), 1,6  $\mu$ L per ogni primer, 80-100 ng di DNA stampo. Per il

ciclo di PCR sono state adoperate le seguenti condizioni: denaturazione iniziale a 95°C per 5 minuti, 35 cicli a 95°C per 60 sec, 48°C per 60 sec e 72°C per 60 sec. La fase di estensione finale a 72°C per 8 minuti ed il raffreddamento finale a 4°C.

Per *Eulalia ornata* quasi 600 coppie di basi (bp) del gene COI sono state amplificate con primer LCO-1490 e il HCO-2198 (Folmer et al., 1994). La PCR è stata effettuata in un volume di 25 µl contenente 1 × PCR *buffer*, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM dNTP, 2,5 U *Taq* polimerasi (Roche, Italia), 1,6 mM di ciascun primer e 80-100 ng di DNA stampo. Il ciclo di PCR con 2 *step* di *annealing*, è avvenuto seguendo le seguenti condizioni: denaturazione iniziale a 95°C per 5 minuti, 35 cicli a 95°C per 60 sec, fase di *annealing* a 48°C per 60 sec per i primi 5 cicli e 52°C per 60 sec per i restanti 30 cicli, seguiti da 72°C per 60 sec. L'estensione finale è stata effettuata a 72°C per 8 min, seguito da raffreddamento finale a 4°C.

Per le specie di *Sabellaria* in esame un frammento della regione 28S\_D9/D10 del gene nucleare di 308bp per è stato amplificato utilizzando le coppie di primer 28S\_D9/10F (5'-CGGCGGGRGTAAGTACTCCTTAA1AGT-3') e 28S\_D9/10R (5'-CGGCGGGRGTAAGTACTCCTTAA1AGT-3') (Zardoya et al., 1995). I processi di PCR sono stati eseguiti in un volume di 25 µL contenente 1 × PCR, *buffer* 1,3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, 4 U *Taq* polimerasi (Roche, Italia), 0,36 µM di ciascun primer, 80-100 ng di DNA stampo. Le condizioni di ciclo termico sono state: denaturazione iniziale a 95°C per 4 min; 35 cicli di 95°C per 60 sec, 55°C per 60 sec e 72°C per 60 sec, seguiti da una estensione finale di 72°C per 8 min e un raffreddamento finale a 4°C.

Alla fase di amplificazione è seguita l'elettroforesi in gel di agarosio al 2%. All'iniziale fase di preparazione del gel, mediante una soluzione di 30 mL TBE, 0,6 gr agarosio e 0,03 µL di Etidio di bromuro, intercalante tra le basi dell'acido nucleico capace di emettere luce fluorescente se irradiato con luce ultravioletta, è seguita la corsa elettroforetica durante la quale il gel è stato posto nel lettino per elettroforesi riempito di TBE e sottoposto ad una differenza di potenziale costante e pari a 90V per circa 30 minuti. Un trans illuminatore (lampada UV) ha permesso di osservare l'amplicone.

Le bande ottenute sono state successivamente tagliate e l'amplificato purificato tramite un kit di purificazione da gel (*kit QIAquick PCR Purification Kit* della *QUIAGEN*) attraverso lo stesso principio dell'estrazione del DNA da tessuto, con fasi di lavaggi con buffer specifici.

Per il sequenziamento, i campioni sono stati spediti ad una azienda esterna. Le sequenze ottenute (aplotipi) sono state confrontate con sequenze COI depositate in Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Benson et al., 2000). Per le specie di *Sabellaria*, il confronto è

stato condotto con una sequenza di *S. spinulosa* (AN KF808174) raccolta nell'Atlantico orientale (Aylagas et al., 2014); mentre per le specie di *Eulalia*, sono state prese in esame sequenze di specie congeneriche, *E. viridis* e *E. clavigera*, provenienti da diverse località europee (Norvegia, Svezia, Regno Unito, Francia), depositate in Genbank con numero d'accesso KT709556/68.

Scaricate in formato Fasta, tutte le sequenze presenti in Genbank sono state allineate con le sequenze dei campioni provenienti dai *reef* siciliani mediante l'uso del programma Mega 6.0 (Tamura et al., 2013). L'algoritmo di clustering Neighbor-Joining (NJ, Saitou & Nei, 1987) ha permesso di generare alberi senza radice costruiti sui valori di distanza seguendo il modello Kimura-2-parametri (K2P) (Kimura, 1980) tra le specie sequenziate. La significatività degli alberi è stata stimata mediante il metodo Bootstrap (Felsenstein, 1985).

L'analisi ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*) (Puillandre et al., 2012), basata sulle distanze K2P, è stata utilizzata per supportare la coesione delle sequenze intra-specie e per rappresentare graficamente un "Gap", osservabile quando la divergenza tra le sequenze all'interno delle specie (variabilità intraspecifica) è inferiore alla divergenza tra organismi di diverse specie (variabilità interspecifica).

## 2.10 Analisi dei dati: indici di diversità

In ecologia gli studi a livello di comunità sono quelli più utilizzati per valutare lo stato degli ecosistemi, poiché la struttura di una comunità riflette le condizioni ambientali (Warwick, 1993). Per ottenere indicazioni sulla struttura della comunità bentonica presenti nei *reef* di *S. alveolata* del Canale di Sicilia, sono stati calcolati alcuni indici di struttura.

Combinando il numero complessivo di individui per replica (N, abbondanza totale) al numero di specie rinvenute per replica (S, ricchezza specifica) (Pielou, 1974) sono stati calcolati alcuni indici di diversità che hanno fornito indicazioni sulla struttura e la complessità della comunità bentonica presente nei *reef* (habitat). L'uso di tali indici biotici, ha permesso di ridurre in forma sintetica la grande quantità di dati posseduti, di analizzare il popolamento dei *reef* e, ad opportune scale di riferimento, di confrontare le tre località.

Tra le diverse formule in grado di sintetizzare con un semplice valore numerico il concetto di diversità, sono stati scelti tre indici ecologici applicabili ai valori di biomassa (Clarke & Warwick, 1994). Gli indici sono stati calcolati con l'utilizzo del software PRIMER-E v.6 (*Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research*, UK) (Clarke & Gorley, 2006) ed integrati a rappresentazioni grafiche create su fogli di lavoro Excel. In particolare sono stati calcolati:

- Indice di diversità di Shannon-Wiener ( $H'$ ; Shannon & Weaver, 1949): esso tiene conto sia del numero di specie presenti, sia del modo in cui gli individui sono distribuiti fra le diverse specie. Il suo valore risulta compreso tra 0 e, teoricamente,  $+\infty$ . Maggiore è il valore di  $H'$ , maggiore è la diversità del sistema analizzato.

$$H' = - \sum_i^S (p_i)(\log_2 p_i)$$

$p_i$  = frequenza numerica della specie  $i$ -esima rispetto al totale degli individui =  $n_i/N$

S = numero di specie

Per la computazione dell'indice di Shannon è stata scelta la base 2 per il logaritmo da utilizzare

- Indice di Equitabilità (o *Evenness*) di Pielou ( $J'$ ; Pielou, 1974): misura il grado di uniformità nella distribuzione delle specie all'interno di un habitat. Tale indice rappresenta l'eterogeneità di distribuzione delle specie; il suo valore minimo, 0, indica la presenza di un'unica specie, mentre il massimo, pari a 1, si ottiene quando tutte le specie sono rappresentate in egual proporzione.

$$J' = H'/H_{\max}$$

H' = indice di Shannon-Wiener

H<sub>max</sub> = massimo numero di specie presenti nell'area considerata = log<sub>2</sub>S

S = ricchezza specifica

- Indice di diversità di Simpson (D, Simpson 1949): tiene conto sia delle distribuzioni delle abbondanze sia della ricchezza di specie e indica la probabilità che due individui prelevati a caso dallo stesso campione risultino appartenenti alla stessa specie. Esso pondera la dominanza di una specie rispetto alle altre e varia da 0 a 1:

$$D = \sum_{i=1}^S p_i^2$$

Durante le analisi con il software PRIMER-E v.6, è stato calcolato nella sua formula complementare, 1-D, che assume valore 0 nel caso di una popolazione perfettamente omogenea e valore 1 nel caso di una popolazione massimamente eterogenea:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S p_i^2$$

La variabilità dei popolamenti dei *reef* è stata valutata mediante il confronto a coppie tra gli indici di struttura calcolati rispettivamente a livello di sito e località. Il test T di Student è stato utilizzato per valutare la variabilità tra le medie degli indici sopra descritti e validare statisticamente i risultati. A seconda dei gradi di libertà e del livello di significatività  $\alpha$  prescelto ( $p < 0,005$ ), per ognuno dei due test, il valore di t osservato è stato confrontato con un valore  $t_\alpha$  tabulato. Il confronto ha permesso di accettare o respingere l'ipotesi nulla secondo cui non vi era differenza statisticamente significativa fra le due medie degli indici in esame.

$$t = \frac{X_i - X_j}{\sqrt{(s_i^2(n_i - 1) + s_j^2(n_j - 1)) / (n_i + n_j - 2) \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j}\right)}}$$

$x_i$  = media indice Sito<sub>i</sub> o Località<sub>i</sub>

$x_j$  = media indice Sito<sub>j</sub> o Località<sub>j</sub>

$s_i^2$  = varianza Sito<sub>i</sub> o Località<sub>i</sub>

$s_j^2$  = varianza Sito<sub>j</sub> o Località<sub>j</sub>

## 2.11 Analisi statistiche multivariate

Il software PRIMER-E v. 6 è stato utilizzato per condurre analisi statistiche utili allo studio della comunità bentonica dei *reef*.

Per le analisi le matrici di abbondanza originali sono state sostituite con matrici di similarità tra coppie di campioni, calcolate in modo da evidenziare particolari aspetti della struttura dei dati. Le matrici di similarità sono state ottenute dopo aver definito un disegno sperimentale che ha previsto la scelta di un fattore “Località” (Loc), random, 3 livelli, e un fattore “Sito” (Si) gerarchizzato in Loc, 2 livelli.

Le matrici di similarità le cui funzioni sono indispensabili per effettuare qualsiasi tipo di analisi multivariata, sono state ottenute utilizzando il coefficiente di Bray-Curtis (Bray & Curtis, 1957), l'indice più idoneo per gruppi di dati biologici (Clarke & Gorley, 2006), espresso da valori compresi tra 0 e 1, con valore 1 indicante una completa sovrapposibilità della composizione faunistica e il valore 0 la totale dissimilarità. La stessa analisi è stata ripetuta utilizzando come input la matrice di dati grezzi o la matrice di dati trasformata secondo dati di presenza/assenza di specie, per dare maggiore rilievo alla distinzione tra specie abbondanti e rare (Clarke & Warwick, 1994).

I risultati delle matrici triangolari sono stati rappresentati graficamente mediante il metodo di classificazione *Cluster analysis* (Tryon, 1939) e l'ordinamento non-metrico dell'nMDS (*non metric multidimensional scaling*) introdotto da Shepard (1962) e Kruscal (1964), che hanno mostrato i raggruppamenti dei campioni sulla base del loro grado di similarità.

La *Cluster Analysis* ha raggruppato i campioni e questi in gruppi maggiori a partire dalla similarità più alta, procedendo a livelli più bassi e raggiungendo un singolo cluster contenete tutti i campioni. Il risultato dell'analisi è stato mostrato con un diagramma ad albero (dendrogramma) in cui sono state indicate sull'asse x le repliche da cui provenivano i campioni, e sull'asse y i livelli di similarità a cui i gruppi sono stati raggruppati.

L'ordinamento nMDS ha mappato su un piano bidimensionale gli “n” campioni (punti) usando i valori di similarità della matrice triangolare. I punti nel piano sono apparsi tanto più vicini quanto maggiore era la loro similarità. In tale analisi non esiste proporzionalità tra la distanza geometrica dei punti e l'effettivo valore del coefficiente di similarità. Il grado di corrispondenza tra la matrice di similarità e la disposizione dei punti nel diagramma nMDS si misura pertanto tramite un coefficiente di Stress che indica il grado di distorsione introdotta dalla forzatura geometrica bidimensionale. Il valore di stress ha permesso di valutare l'attendibilità della rappresentazione grafica rispetto alla matrice di similarità originaria. Malgrado il nMDS permetta di identificare

graficamente un pattern di variazione nei campioni considerati, tuttavia esso non risulta informativo riguardo la significatività delle differenze tra di essi.

A questa tecnica di ordinamento è stato associato il test ANOSIM (*Analysis of Similarities*), una analisi multivariata non-parametrica basata su permutazioni che ha lo scopo di valutare se ci sono delle differenze significative tra i gruppi di campioni esaminati (Clarke, 1993). La procedura di permutazione viene applicata alla matrice di similarità, utilizza l'indice di Bray Curtis e ha lo scopo di comparare la similarità "tra gruppi" con quelle "entro i gruppi". Il test ha restituito un valore, denominato R, che riflette la differenza osservata tra i gruppi confrontati: netta separazione nella struttura della comunità (R=1), mancata separazione (R=0).

Allo scopo di individuare differenze nella struttura della comunità e nella composizione degli assemblaggi di specie caratterizzanti i reef nelle località indagate, i dati dell'abbondanza totale di ciascuna specie sono stati testati attraverso il test non parametrico con permutazioni PERMANOVA (*Permutational Analysis of Variance*) (Anderson, 2001), considerando significative le differenze solo nel caso in cui il test forniva valori di probabilità minori del 5%.

L'analisi SIMPER (*Similarity percentage*) (Clarke, 1993), ha permesso di quantificare l'abbondanza media delle specie (Av. Abund), di determinare il contributo medio di ogni specie alla similarità di un gruppo identificato (specie caratterizzanti l'assemblaggio) e il contributo di ogni specie alla dissimilarità tra raggruppamenti diversi (specie discriminanti gli assemblaggi). Le specie sono state classificate dal più alto al più basso contributo. Per le analisi è stato utilizzato un *cut-off* del 75% che ha permesso di verificare quali specie con % variabili e cumulative spiegano il 75% della dissimilarità tra le località, escludendo pertanto quelle che forniscono un contributo molto basso e dunque trascurabile.

## 2.12 Creazione Collezioni Museali

Tutte le informazioni sistematiche, tassonomiche e di campionamento riguardanti le specie identificate sono state informatizzate in un database al fine di allestire una collezione museale, finalizzata ad ampliare le collezioni già esistenti per diversi gruppi tassonomici presenti al Museo di Zoologia «P. Doderlein» dell'Università degli Studi di Palermo. In particolare, allo scopo di rendere maggiormente fruibile la collezione, per ogni specie depositata è stata elaborata una scheda riportante: un proprio codice museale (MZPA, *specimen voucher*), il nome scientifico della specie, la categoria sistematica, località e data campionamento, nome raccoglitore e identificatore, dati genetici rappresentati dal numero di accesso in Genbank per le specie per cui è stato sequenziato un frammento di DNA, le condizioni di conservazione, la collocazione in deposito (es. armadio/vetrina espositiva) ed eventuali ulteriori note. Un campione rappresentativo di individui per ognuna delle specie identificate è stato selezionato, conservato in alcool assoluto e destinato ad ampliare le collezioni ivi presenti. L'inserimento dei nuovi campioni e dei relativi dati ha comportato una revisione delle specie precedentemente catalogate e conservate al Museo e la valutazione dell'entità della collezione esistente. Gli esemplari appartenenti al gruppo dei Policheti sono stati catalogati con uno specifico *voucher* la cui numerazione iniziava dal numero 0001, proceduto dall'acronimo MZPA-ANN (phylum Annelida). Per questo taxa non è stato seguito il numero progressivo del catalogo di entrata degli esemplari già collezionati al museo, piuttosto è stata creata una nuova univoca numerazione con gli esemplari museali conservati in anni precedenti. Tra i policheti la numerazione è stata assegnata a partire dalla specie costruttrice *S. alveolata*, seguita dalla specie congenerica *S. spinulosa*. Per le restanti specie è stato seguito l'ordine alfabetico delle famiglie di appartenenza. I codici dettagliati sono stati riportati nelle check-list di specie identificate. Per le specie per cui sono state eseguite analisi molecolari, insieme ad un frammento dell'esemplare corrispondente, è stato depositato il DNA delle sequenze ottenute e sottomesse in GenBank. A tutti gli esemplari già presenti al Museo e revisionati sono stati assegnati specifici codici museali riportanti stesso acronimo e una numerazione progressiva ai campioni di Policheti campionati nei reef di *S. alveolata* del Canale di Sicilia. Per gli Anfipodi è stato utilizzato uno specifico codice contenente l'acronimo MZPA-AMPH (ordine Amphipoda). Per tale gruppo la numerazione degli esemplari ha seguito quella assegnata a campioni di altri habitat inseriti nel database contemporaneamente ai campioni siciliani (anno 2015/2016). I campioni non hanno seguito l'ordine alfabetico delle famiglie di appartenenza perché queste ultime sono sottoposte a continue revisioni, ma piuttosto l'ordine di inserimento dati. Tali reperti di recente conservazione presentavano un omogeneo stile di catalogazione e non hanno richiesto pertanto una revisione.

### 3. RISULTATI

#### 3.1 Osservazione della struttura dei tubi nelle formazioni

Le biocostruzioni campionate, pur presentando una tipica struttura a cuscinetto, hanno mostrato differenze nella densità, forma e disposizione dei tubi. A Triscina i tubi mostravano diametri tendenzialmente omogenei e piccoli (0,5-2 mm), nel sito TR2 intervallati da tubi di diametro elevato (2,5-5 mm) (Fig. 37A). Ad Eraclea Minoa i tubi mostravano un aspetto variabile con diametro di dimensione medio-grande (1-4 mm) (Fig. 37B). A Donnalucata i reef presentavano tubi omogeneamente grandi (1-3,5 mm) (Fig. 37C).

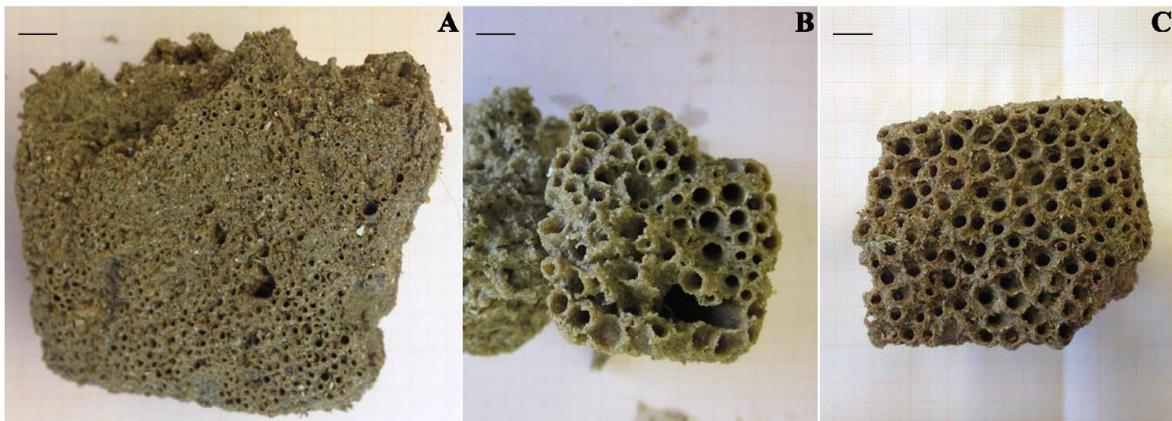


Fig. 37 – Struttura tubi (A) Triscina, (B) Eraclea Minoa, (C) Donnalucata; scala di riferimento: 10 mm.

Gli individui di *Sabellaria* sono stati rinvenuti sempre all'interno dei tubi. Essi hanno mostrato lunghezze variabili comprese tra 1-60 mm (Fig. 38). Le specie di *S. alveolata* hanno mostrato lunghezze più elevate (6-60 mm) rispetto agli individui di *S. spinulosa* (3-30 mm). Gli individui di fauna associata sono stati ritrovati sia all'interno che tra le intercapedini dei tubi (Fig. 39), con lunghezze comprese tra 1 e 85 mm.



Fig. 38 – Range di dimensioni osservate tra gli individui estratti dai reef; scala di riferimento: 10 mm

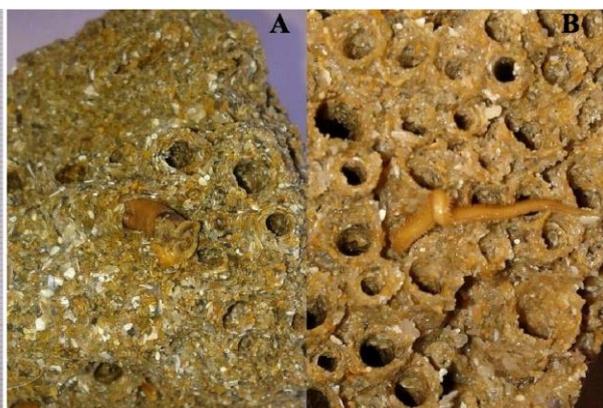


Fig. 39 – Disposizione degli individui (A) all'interno dei tubi, (B) tra le intercapedini dei tubi

### 3.2 Analisi delle dimensioni opercolari in *S. alveolata*

L'intervallo di lunghezza opercolare misurato in un campione rappresentativo di 480 individui, scelti rispettivamente in 4 repliche (due per sito) di ogni località è apparso compreso tra 0,5 e 5 mm con un valore medio pari a 2,04 mm ( $\pm 0,04$  DS) calcolato su tutti gli individui.

Le misure opercolari sono state riportate in grafici (Fig. 40), le cui ascisse indicano il diametro opercolare espresso in mm rappresentato dai valori discreti delle 10 classi di taglia e le ordinate il numero degli individui di *S. alveolata* in cui sono state effettuate le misurazioni. Il valore di diametro medio per ogni replica è indicato da una barra rossa verticale. In ogni grafico viene inoltre riportato il valore di deviazione standard calcolato.

La Tabella 1 riepiloga in dettaglio i valori di diametro medio ( $\bar{x}$ ), deviazione standard ( $\sigma$ ) e varianza ( $\sigma^2$ ) misurati in ogni replica. Valori di diametro medio più bassi si registrano nella replica TR1-R1 ( $1,3 \pm DS 1,07$ ), più alti nella replica TR2-R3 ( $2,51 \pm DS 1,23$ ).

I risultati dell'analisi della varianza non hanno mostrato variazione significativa della lunghezza opercolare a livello di sito e località (Tab. 2).

La correlazione tra il diametro medio calcolato in ogni replica e il numero totale degli individui presenti è stata riportata nella Figura 41. Le due variabili sono apparse inversamente correlate, come mostrato dal coefficiente di Pearson ( $r=-0,77$ ) La correlazione negativa descrive un andamento inversamente proporzionale tra le due variabili: all'aumentare del numero degli individui corrisponde una diminuzione del diametro dei loro opercoli.

La probabilità che la correlazione sia affidata al caso statisticamente misurata mediante test di Student e il test di correlazione è risultata molto bassa, confermando una relazione lineare significativa tra le due variabili, ( $t(r)_{23}=3,57$ ;  $p \leq 0,05$ ).

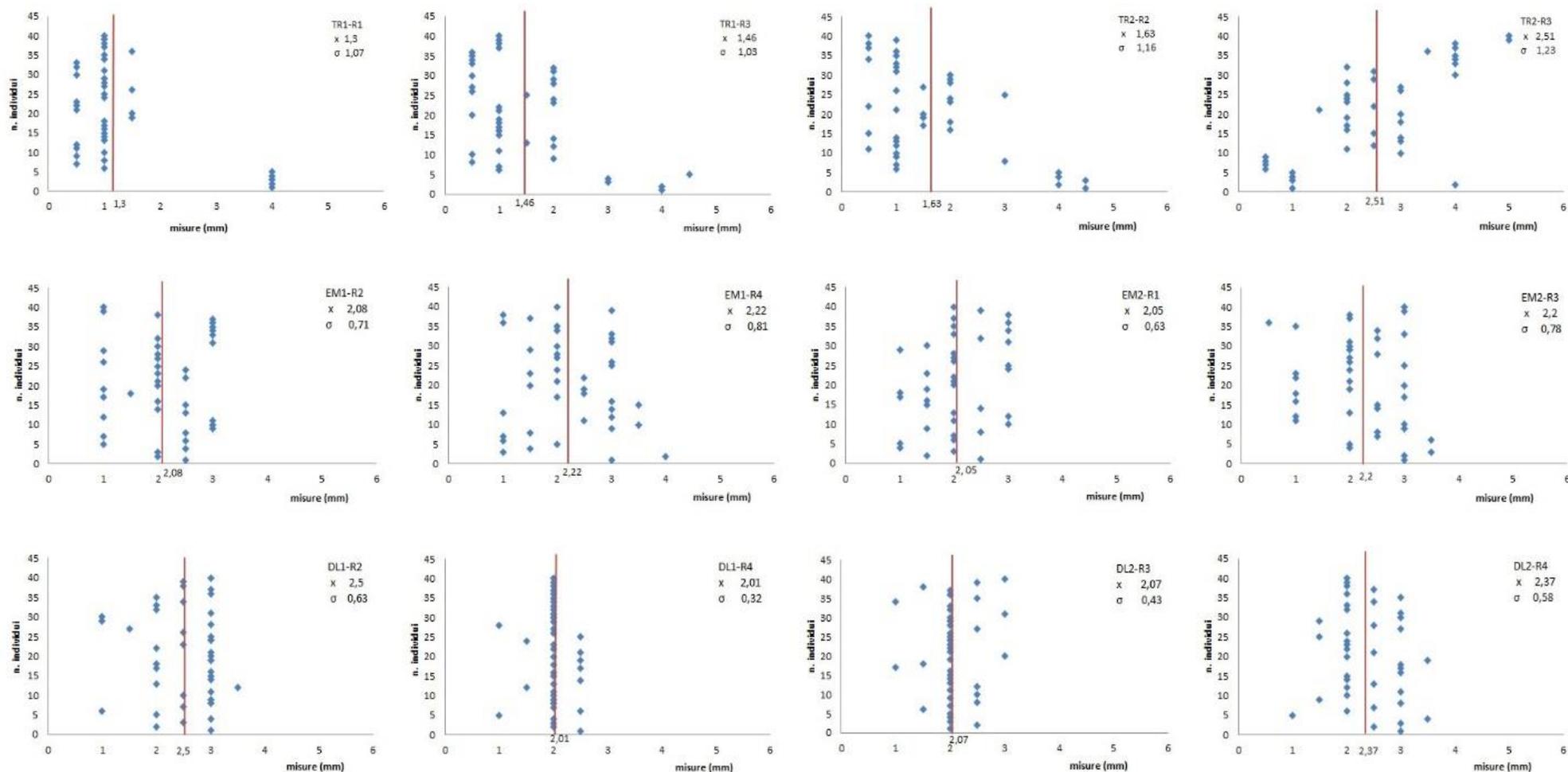


Fig. 40 – Grafici misure opercolari di individui di *S. alveolata* registrate in 2 repliche per 2 siti

Tab. 1 – Lunghezze opercolari *S. alveolata* registrate in 4 repliche per località

Replica campionata	Media (x)	Deviazione standard ( $\sigma$ )	Varianza ( $\sigma^2$ )	Media per località	Deviazione standard per località
TR1-R1	1,3	1,07	1,15	1,73	0,54
TR1-R3	1,46	1,03	1,06		
TR2-R2	1,63	1,16	1,34		
TR2-R3	2,51	1,23	1,51	2,14	0,09
EM1-R2	2,08	0,71	0,50		
EM1-R4	2,22	0,81	0,65		
EM2-R1	2,05	0,63	0,40		
EM2-R3	2,2	0,78	0,60	2,24	0,23
DL1-R2	2,5	0,63	0,40		
DL1-R4	2,01	0,32	0,10		
DL2-R3	2,07	0,43	0,18		
DL2-R4	2,37	0,58	0,33		

Tab. 2 – Risultati analisi della varianza (ANOVA) sulle lunghezze opercolari di *S. alveolata*. \*\*\*  $p < 0.001$ . g.d.l., gradi di libertà; MS, varianza; F, valore calcolato.

Sorgente di variazione	g.d.l.	MS	F
Località	2	11.81	1.83
Sito(Località)	3	6.44	1.66
Replica(Sito(Località))	6	3.87	5.57 ***
Residuo	468	0.69	

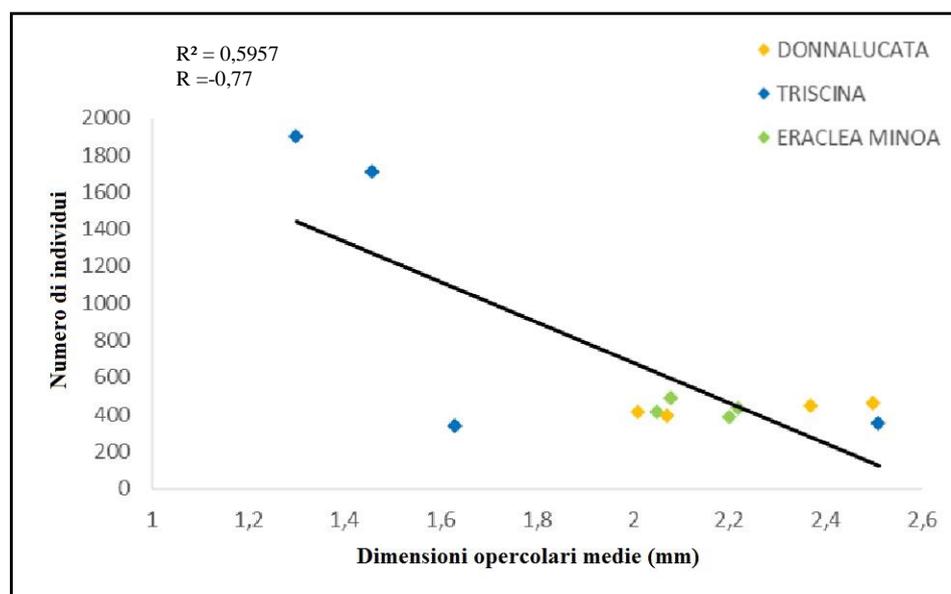


Fig. 41 – Correlazione negativa tra il numero di individui presenti nei reef e dimensioni opercolari medie registrate in 4 repliche per località.

La distribuzione delle classi di taglia opercolare per ogni località è stata rappresentata graficamente mediante istogrammi di frequenza e ha mostrato andamenti differenziati tra le località (Fig. 42). La classe di taglia 1 è apparsa la più frequente a Triscina mentre la classe di taglia 2 nelle restanti due località. Tuttavia a Donnalucata gli individui hanno mostrato una frequenza elevata in tre classi di taglia (2; 2,5; 3 mm), ad Eraclea Minoa in 5 classi di taglia (1; 1,5; 2; 2,5; 3 mm) mentre a Triscina gli individui hanno mostrato frequenze elevate tra quattro classi di taglia (0,5; 1; 2; 4 mm).

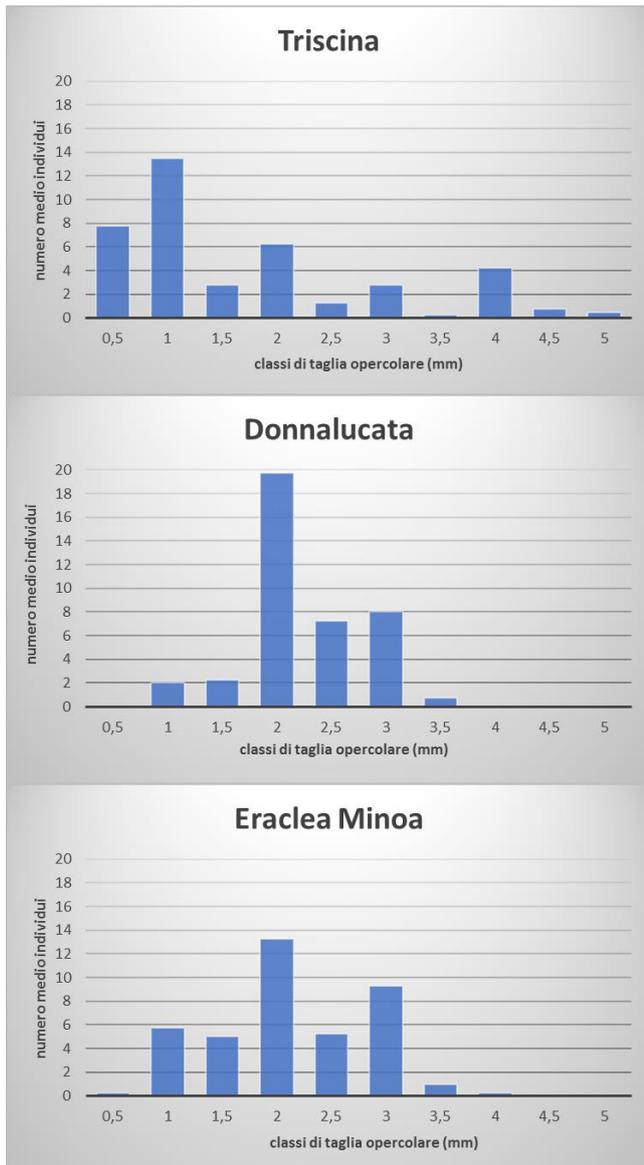


Fig. 42 – Istogrammi di frequenza delle taglie di classe rinvenute tra gli individui delle tre località in esame

L'analisi della distribuzione dei dati all'interno di ogni località descritta da indici di tendenza centrale (media, moda e mediana), da indici di posizione non centrale (quartili) e da indici di dispersione (varianza, deviazione standard, scarto interquartile, e coefficiente di variazione

interquartile CQV), è stata riportata in Tabella 3 e rappresentata graficamente da un box-plot con estremi inferiore e superiore rispettivamente rappresentati da Q1 e Q3 (Fig. 43). I valori di taglia massima sono stati raggiunti a Triscina (max=5) dove tuttavia è stato rilevato anche il valore di taglia più basso (min=0.5). Stesso valore di taglia minima è stato registrato ad Eraclea Minoa, tuttavia la percentuale di individui mostrante tale taglia è apparsa superiore (Q1=1,70) a confronto degli individui di Triscina (Q1=0,98).

La taglia mediana non ha mostrato grandi variazioni tra Donnalucata ed Eraclea Minoa ed è apparsa prossima al valore del Q3 di Triscina. I valori di CQV hanno descritto come a Donnalucata i dati mostrano una minore dispersione con valori di media, moda e mediana quasi uguali. Questo dato conferma quanto osservato con gli istogrammi di frequenza (Fig. 43) che hanno descritto una maggiore presenza di tre classi di taglia opercolare (2; 2,5; 3 mm). La dispersione più alta di Triscina (valore CQV più elevato) descritta da un valore di media maggiore di moda e mediana, indica la presenza di una maggiore dispersione nella distribuzione delle classi di taglia come mostrato dagli stessi istogrammi (Fig. 43).

Tab. 3 – Indici dispersione misurati nelle tre località di studio (TR, Triscina; EM, Eraclea Minoa; DL, Donnalucata)

Indici	TR	EM	DL
Min	0,5	0,5	1
Q1 (P <sub>0.25</sub> )	0,98	1,70	1,95
Mediana	1,22	2,16	2,16
Q3 (P <sub>0.75</sub> )	2,24	3,13	2,7
Max	5	4	3,5
Media	1,72	2,13	2,24
Moda	1	2	2
CQV	0,38	0,29	0,15

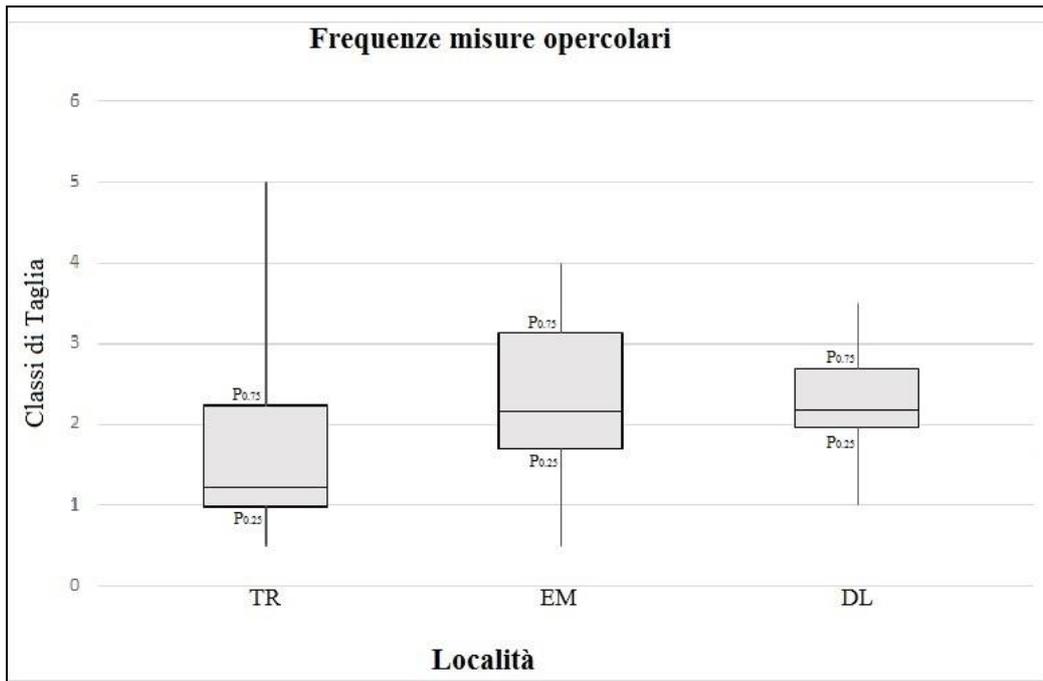


Fig. 43 – Box-plot mostrante taglia di popolazione. TR (Triscina), EM (Eraclea Minoa), DL (Donnalucata)

Il Test di Fisher (Tab. 4) ha permesso di valutare se le differenze di taglia mostrate graficamente tra le tre località potevano considerarsi statisticamente significative. Il test ha mostrato un F calcolato inferiore al valore critico tabulato, che ha portato ad accettare l'ipotesi nulla secondo cui non vi sono differenze nella lunghezza opercolare degli individui. Questa analisi ha indicato una omogeneità nella distribuzione dei valori del diametro opercolare. Il dato conferma quanto testato dall'analisi dell'ANOVA (Tab. 2).

Tab. 4 – Risultati sulla variazione opercolare mediante Test Fisher. SS, devianza; g.d.l., gradi di libertà; MS, varianza; F valore calcolato; F crit, valore tabulato.

Origine variazione	SS	g.d.l.	MS	F	Livello significatività	F crit
Tra gruppi (B)	23.31354	2	11.65677	1.10	$\alpha=0.05$	3.07
In gruppi (W)	1236.972	117	10.57241			

### 3.3 Taxa presenti nei reef

Nelle tre località siciliane, sono stati raccolti complessivamente 21054 individui distinti in 19841 Policheti, 1169 Crostacei e 44 altri taxa. Il taxon dei Policheti è il gruppo più rappresentato e costituisce il 95% del popolamento totale seppur suddiviso in diverse famiglie (83% Sabellaridi, 7% Fillodocidi, 4% Sillidi, 1% altri Policheti). Il secondo taxon più abbondante è quello degli Anfipodi (circa 5%), mentre i restanti taxa sono presenti con percentuali trascurabili (Fig. 44).

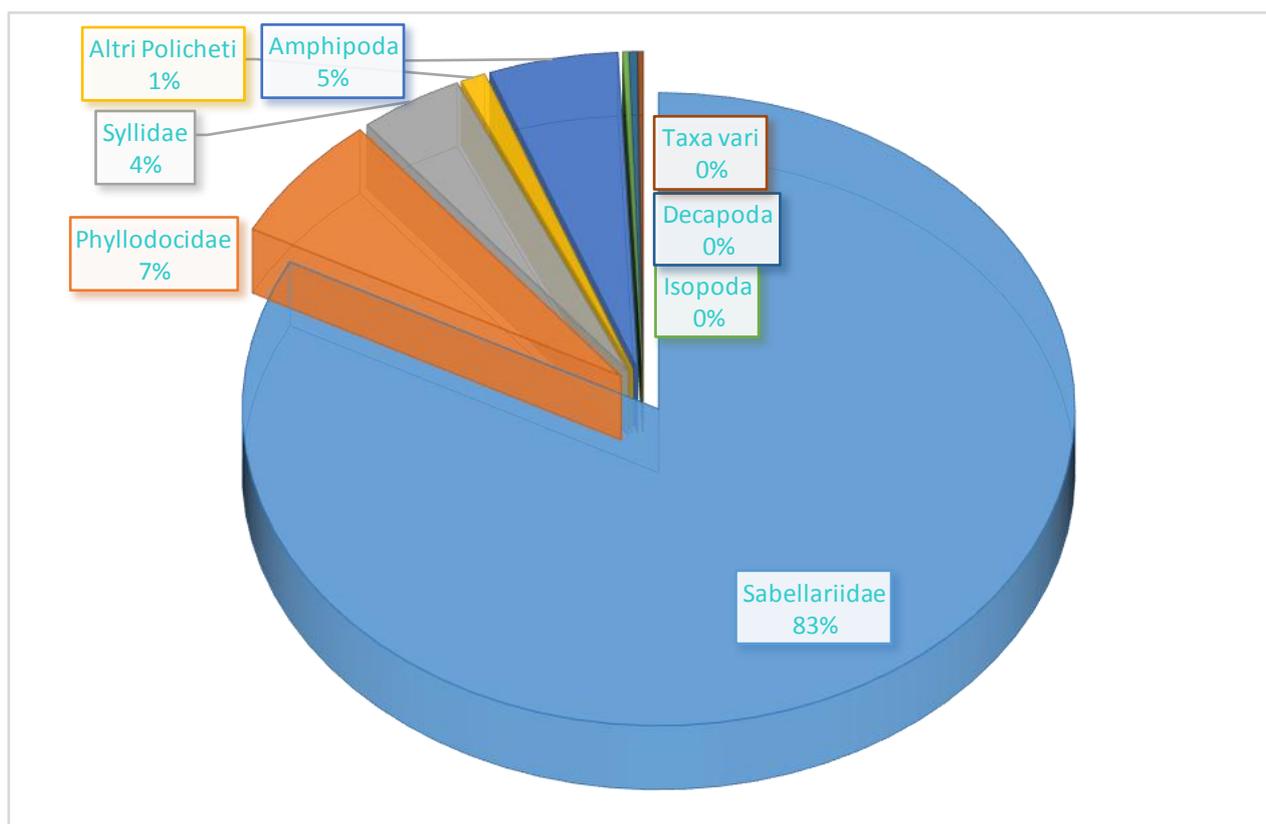


Fig. 44 – Totale taxa campionati nei reef del Canale di Sicilia suddivisi in % di abbondanza

La località con la numerosità di individui più abbondante è apparsa Triscina con 11375 individui, seguita da Donnalucata con 5128 ed Eraclea Minoa con 4551 esemplari (Tab. 5). Tra i Policheti la famiglia dei Sabellaridi è la più rappresentata con 17358 individui totali distinti in due specie: *S. alveolata* e *S. spinulosa* (Tab. 6). Inizialmente alcuni individui di piccole dimensioni hanno suscitato dubbi nel riconoscimento e sono stati classificati come *S. cf. alcocki*.

La famiglia dei Sabellaridi è stata seguita in ordine di abbondanza, dalla famiglia dei Fillodocidi con 1368 campioni e dalla famiglia dei Sillidi con 850 esemplari. I restanti Policheti rappresentati da 265 individui appartenenti ad altre famiglie erano presenti con abbondanze minori. Tra i

Crostacei, l'ordine degli Anfipodi è apparso il gruppo più rappresentato, seguito dai Decapodi e dagli Isopodi. La Tabella 7 riassume i dati di abbondanza.

Tab. 5 – Composizione percentuale della fauna associata ai *reef* della costa Siciliana

Località	Tot. Individ.	Sabellariidae (%)	Phyllodocidae (%)	Syllidae (%)	Altri Policheti (%)	Crostacei (%)
Triscina	11375	89,95	2,62	1,66	0,73	4,68
Eraclea Minoa	4551	73,90	15,10	2,14	0,88	7,98
Donnalucata	5128	73,39	7,47	11,00	2,80	5,34

Tab. 6 – Abbondanza del genere *Sabellaria* tra le tre località in esame

Località	<i>Sabellaria</i> sp.	<i>S. alveolata</i>	<i>S. spinulosa</i>
Triscina	10232	10139	93
Eraclea Minoa	3363	3350	13
Donnalucata	3763	3721	42
Tot. individui	17358	17210	148

Tab. 7 – Abbondanza dei taxa presenti nelle tre località campionate

Località	<i>Sabellaria</i> sp.	Phyllodocidae	Syllidae	Altri Policheti	Amphipoda	Isopoda	Decapoda	Altri taxa
Triscina	10232	298	189	81	479	18	36	42
Eraclea Minoa	3363	687	97	40	325	13	25	1
Donnalucata	3763	383	564	144	251	17	5	1
Tot. individui	17358	1368	850	265	1055	48	66	44

Il 98% dei campioni (20686 individui) sono stati identificati fino a livello di specie, lo 0,8% (103 individui) a livello di genere, il restante 1,2% (265 individui) a livello di ordine.

In totale sono state identificate 59 specie: 2 specie di Sabellaridi, 1 specie per la famiglia dei Fillodocidi, 12 specie per la famiglia dei Sillidi, 21 specie appartenenti ad altre famiglie di Policheti, 23 specie di Anfipodi.

La specie costruttrice *S. alveolata* con un totale di 17210 individui, si è confermata specie dominante in tutte le località, con abbondanza particolarmente elevata a Triscina (10139 individui) dove ha mostrato un numero di individui particolarmente elevato in tutte le relache del sito TR1. L'abbondanza di *Sabellaria*, *S. alveolata* e *S. spinulosa* ha mostrato una significativa variazione tra i siti ma non tra le località (Tab. 8).

Tab. 8 – Risultato analisi della varianza (ANOVA) sui dati di abbondanza (numero di individui) di *Sabellaria* sp. g.d.l., gradi di libertà; MS, varianza; F valore calcolato, \*\*\* p<0.001.

Sorgente variazione	<i>Sabellaria</i> totale			<i>S. alveolata</i>		<i>S. spinulosa</i>	
	g.d.l.	MS	F	MS	F	MS	F
Località	2	1,43	0,79	1,41	0,77	2,88	1,34
Sito(Loc)	3	1,80	40,70 ***	1,83	42,25 ***	2,15	1,45
Residui	18	0,04		0,04		1,49	
Test di Cochran		C= 0,375		C=0,374		C= 0,306	

Il rapporto tra le percentuali di *S. alveolata* e le restanti specie di fauna associata registrate all'interno di ogni località è apparso variabile (Fig. 45). La fauna associata a *S. alveolata* risulta più abbondante a Donnalucata (1407 individui, 43 specie) seguita in ordine di abbondanza dalla fauna presente ad Eraclea Minoa (1201 individui, 33 specie), mentre la meno abbondante si registra a Triscina dove tuttavia appare più diversificata (1213 individui, 47 specie). I Fillodocidi hanno mostrato un numero di individui per replica compreso tra 12 e 137, con un valore medio minimo registrato a Triscina ( $37,25 \pm 12,56$  DS) e massimo ad Eraclea Minoa ( $85,87 \pm 27,95$  DS) mentre i Sillidi hanno mostrato un valore medio minimo ad Eraclea Minoa ( $12,12 \pm 7,29$  DS) e massimo a Donnalucata ( $70,5 \pm 43,86$  DS). Tra i Crostacei, gli Anfipodi come gruppo più rappresentato, sono apparsi meno abbondanti a Donnalucata ( $31,37 \pm 19,48$  DS) e più abbondanti a Triscina ( $59,87 \pm 42,38$  DS) (Fig. 46).

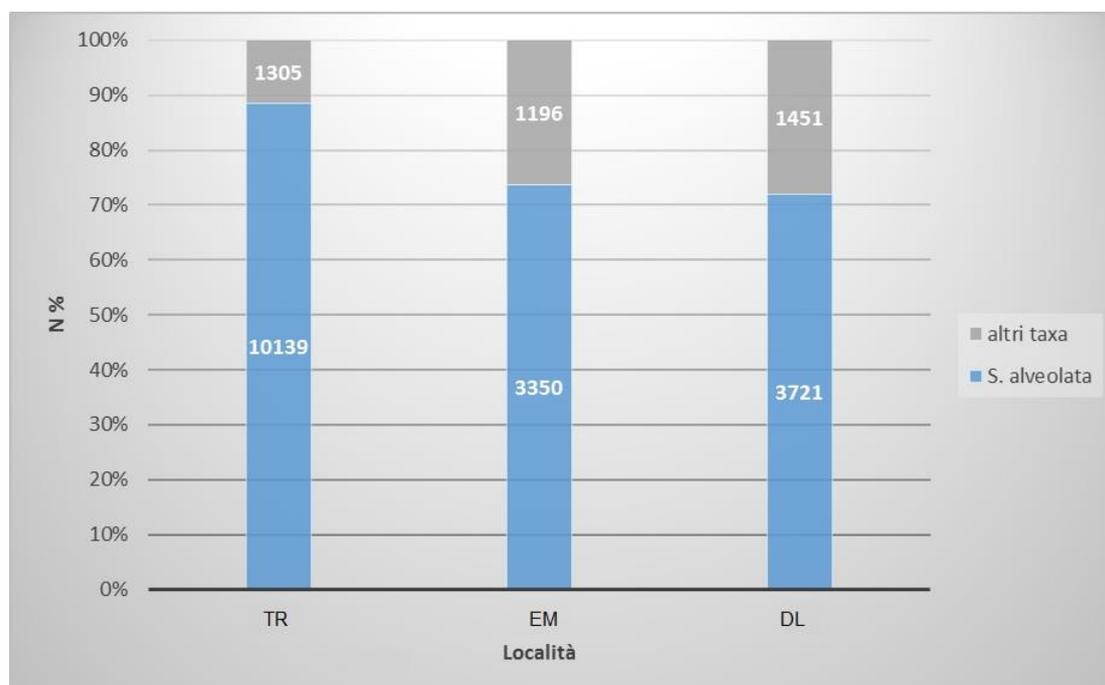


Fig. 45 – Frequenza del numero di individui di *Sabellaria alveolata* nelle tre località di studio: TR (Triscina), EM (Eraclea Minoa), DL (Donnalucata).

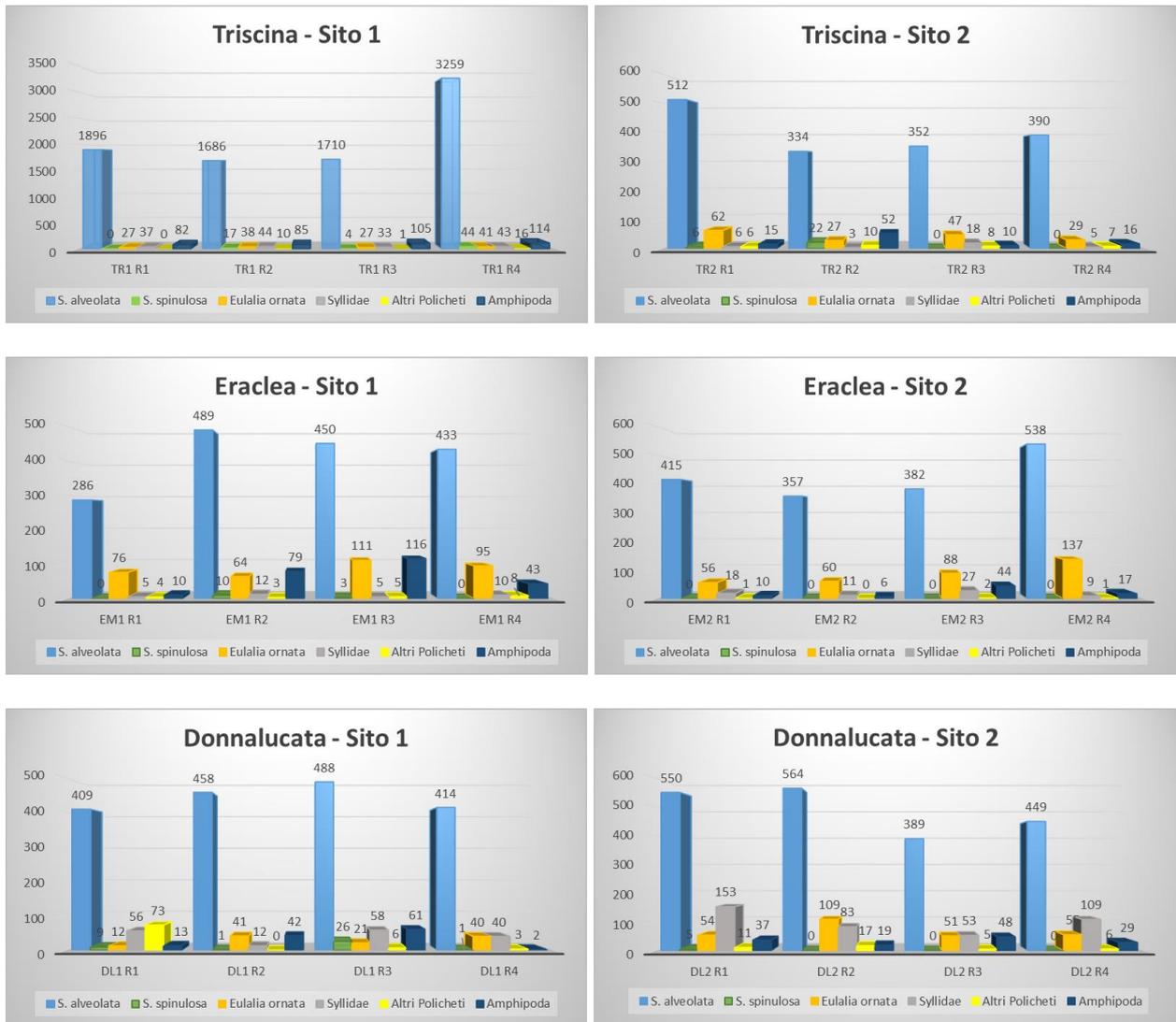


Fig. 46 – Abbondanza dei principali taxa per i quali si è raggiunta una identificazione fino a livello di specie, per località, sito e replica

### 3.4 Identificazione dei caratteri tassonomici nel genere *Sabellaria*

L'uso di un approccio integrato con analisi tassonomiche associate ad osservazioni di microscopia elettronica (SEM) e microtomografia (Micro-ct), ha permesso di studiare la diversità intraspecifica delle specie appartenenti al genere *Sabellaria*. Le immagini al SEM ottenute a diversi ingrandimenti, hanno in particolare messo in evidenza la morfologia di individui di piccole dimensioni non sempre facilmente identificati con la sola osservazione al microscopio ottico. Il SEM principalmente utilizzato per lo studio delle superfici ha permesso di confermare l'uso delle strutture opercolari come chiave di identificazione morfologica. Tale tecnica ha permesso inoltre di dare una giusta rilevanza diagnostica ad un altro carattere tassonomico rappresentato dalla struttura delle chete paratoraciche, chete presenti nei tre segmenti del torace. Il Micro-ct ha fornito informazioni circa la struttura interna dei campioni analizzati, mediante osservazioni tridimensionali e sezioni virtuali. Dettagli sulla caratterizzazione vengono presentati nei paragrafi seguenti.

#### 3.4.1 Identificazione morfologica tradizionale

Il riconoscimento al microscopio ottico degli individui di *S. alveolata* non ha destato particolari difficoltà né in esemplari di grandi dimensioni (10-60 mm), né in campioni di piccole dimensioni (6-10 mm). Gli individui più piccoli mostravano una colorazione bianca cremosa che tendeva all'arancio in individui più sviluppati. I membri delle specie esaminate presentavano un corpo con la tipica suddivisione presente nella famiglia dei Sabellaridi (Fig. 47 A-B.), con un prostomio caratterizzato da due lobi opercolari fusi alla base, dal quale risultava visibile in posizione anteriore l'organo mediano, giunzione dorsale alla base dell'opercolo (Fig. 48). I numerosi filamenti tentacolari apparivano di colore giallo pallido o marrone con punte spesso rossastre. L'organo costruttore visibile come una banda semi-circolare scura ventralmente a descrivere la tipica forma a ferro di cavallo (Fig. 49), definiva il limite tra la testa e il torace suddiviso a sua volta in tre segmenti paratoracici portanti chete dalla forma lanceolata (Fig. 50). Le branchie nella porzione toracica presentavano un tipico aspetto falciforme (Fig. 50). L'identificazione di *S. spinulosa* ha, contrariamente a quanto avvenuto con la congenerica *S. alveolata*, suscitato inizialmente qualche dubbio. Gli individui della specie sono stati, infatti, distinti separatamente in campioni di dimensioni medio-grandi (10-30 mm) con una porzione anteriore integra mostrante caratteri diagnostici ben visibili (es. spine nicali), e individui di dimensioni inferiori (3-10 mm) in cui non sempre i caratteri chiave per il riconoscimento apparivano ben distinguibili (Fig. 51). Maggiori

difficoltà sono state riscontrate nell'osservazione dell'organo mediano, apparso piccolo, dall'aspetto simile ad una linea scura alla base dei lobi opercolari (Fig. 52).

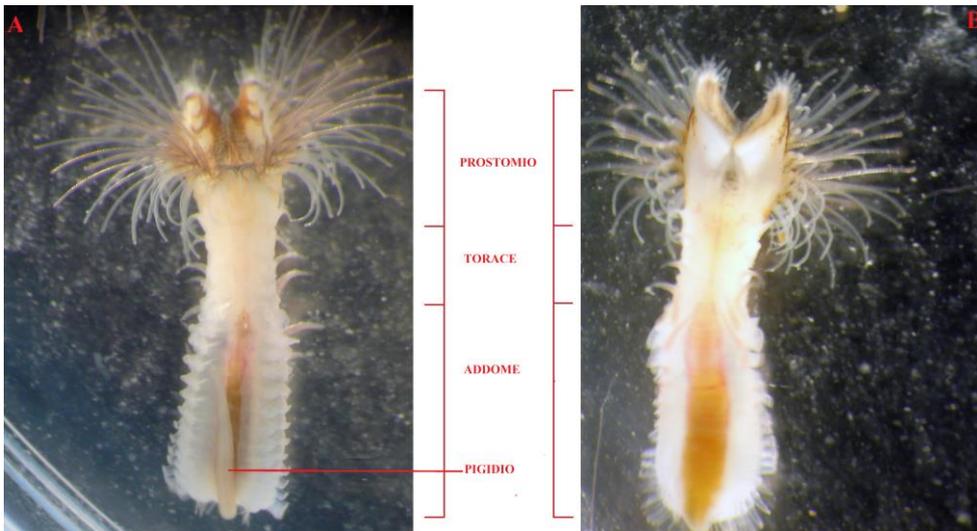


Fig. 47 – Porzioni del corpo di *S. alveolata* (A) Visione ventrale, (B) Visione dorsale



Fig. 48 – Regione opercolare in visione ventrale; (M), dettaglio organo mediano.



Fig. 49 – *S. alveolata* visione dorsale, (O) Organo costruttore



Fig. 50 – Adulto di *S. alveolata*. Dettaglio (B) branchie, (C) chete paratoraciche.



Fig. 51 – Individuo di *S. spinulosa* (10 mm).

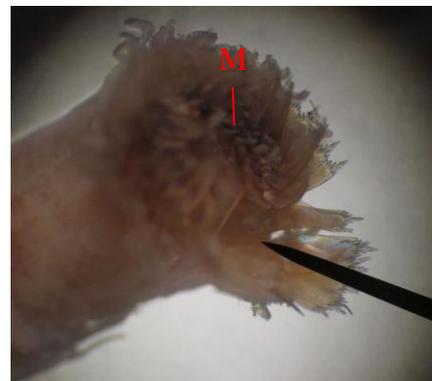


Fig. 52 – *S. spinulosa*. (M), dettaglio organo mediano.

Per entrambe le specie tuttavia la caratterizzazione morfologica si è basata prevalentemente sull'analisi della struttura opercolare, soprattutto per la forma delle pale esterne, carattere chiave nella delimitazione delle specie. La presenza/assenza delle spine nicali, ove possibile, ha favorito il riconoscimento della specie *S. spinulosa*.

A conferma dei dati bibliografici (Kirtley, 1994), nelle due specie di *Sabellaria*, è stato osservato un opercolo costituito da tre file circolari di pale di colore giallo-oro dalla specifica forma (Tab. 9). Le pale dissezionate e accuratamente fotografate sono mostrate nelle Figure 53-54. Le spine nicali sottoepidermiche, di numero 3-4, sono apparse chiaramente visibili solo in individui di *S. spinulosa* di dimensioni medio-grandi (Fig. 55).

Tab. 9 – Confronto tra i caratteri diagnostici (struttura opercolare e spine nicali) utili al riconoscimento delle due specie congeneriche

	<i>S. alveolata</i> (Fig. 53)	<i>S. spinulosa</i> (Fig. 54)
Pale esterne	3 denti ricurvi verso il margine sinistro	2-3 denti, allungati al centro a formare lunghe piume con denti di numero variabile
Pale mediane	Margine obovato (ovale)	Variabili in misura, forma e numero di tipi
Pale interne	Margine genicolato	Allungate, appiattite e ricurvi leggermente verso l'alto
Spine nicali	Assenti	3-4, sottoepidermiche in ogni lato della linea antero-distale



Fig. 53 – (A) Porzione anteriore dell'opercolo di *S. alveolata*, (B) particolare della pala esterna con margine ricurvo verso lato sinistro

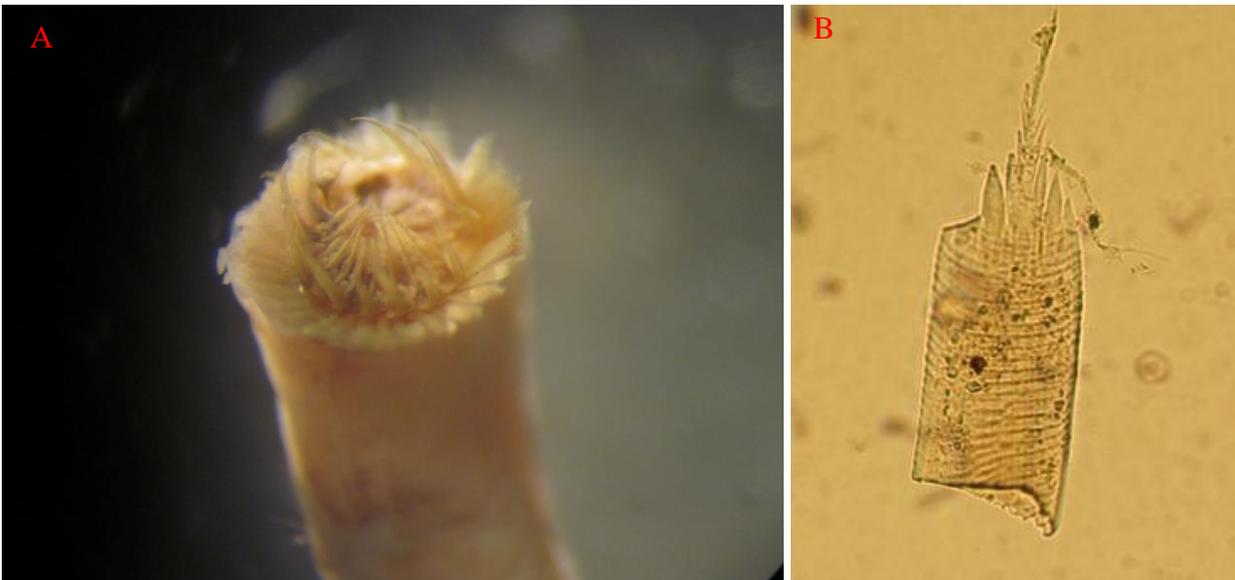


Fig. 54 – (A) Porzione anteriore dell'opercolo di *S. spinulosa*, (B) particolare della pala esterna dal margine piumoso



Fig. 55 – Coppia di spine nicali sottoepidermiche visibile nella porzione dorsale del prostomio di *S. spinulosa*

### 3.4.2 Caratterizzazione al SEM genere *Sabellaria*

La morfologia esterna caratterizzante l'intero corpo delle specie in esame è stata osservata al microscopio elettronico a scansione. Le immagini degli individui interi sono mostrate in Figura 56. Le immagini sono risultate vantaggiose nello studio della morfologia della specie *S. spinulosa*, i cui caratteri diagnostici in individui di piccole dimensioni non erano stati facilmente osservati con i metodi di tassonomia tradizionale.

In dettaglio la struttura opercolare è apparsa regolare in tutti gli individui di *S. alveolata* osservati, con file di pale esterne dal margine ricurvo verso il lato sinistro (Fig. 57A). In *S. spinulosa* le pale esterne presentavano 2 dentelli sul margine distale dal quale si sviluppava una struttura dalla forma simile ad una piuma. Le immagini al SEM hanno permesso inoltre di distinguere con chiarezza il numero di dentelli presenti su ogni lato della pala, carattere non osservato al microscopio ottico soprattutto in individui di piccole dimensioni. Ad ogni lato della pala il numero dei dentelli è apparso pari a 9 (Fig. 57B), confermato i dati bibliografici secondo cui la specie dovrebbe possedere una pala piumosa con un numero di dentelli compreso tra 5 e 12. Tale carattere è risultato utile alla discriminazione di *S. spinulosa* dalla specie congenerica, *S. alcocki*, a cui diversi studi attribuiscono un numero di dentelli pari a 20 per ogni lato della pala.

Le immagini ottenute hanno permesso infine di analizzare la struttura delle chete della porzione paratoracica del corpo delle specie. In particolare il confronto ha evidenziato differenze sia nella forma delle chete presenti in porzione latero-dorsale (notochete) che quelle in posizione latero-ventrale (neurochete) del terzo segmento paratoracico. Le notochete in *S. alveolata* hanno mostrato un aspetto di remo piatto-lanceolato (Fig. 58A), con un ramo rettangolare dal quale si sviluppano una fila trasversale di 6-8 grandi sete alternate a sottili sete di par numero, con una lunghezza superiore alla metà dell'estensione delle sete maggiori. Le sete mostravano una punta appuntita ma non intera (Fig. 59A). Le neurochete, diametralmente opposte alle chete dorsali, apparivano più piccole ma anche esse dalla forma rettangolare. Mostravano sete sottili, lunghe e di numero pari a 14 (Fig. 60A). Una forma tondeggiante è stata osservata nelle notochete di *S. spinulosa*. Dal margine trasversale del ramo si sviluppano 6-7 sete cilindriche alternate a sete sottili e corte, la cui lunghezza non superava la metà dell'estensione delle sete principali (Fig. 58B). La punta delle sete anche essa dall'aspetto arrotondato, appariva sfacciettata (Fig. 59B). Le neurochete hanno mostrato aspetto rotondeggiante e dimensioni minori rispetto alle medesime nella specie congenerica *S. alveolata*. Esse possedevano sete capillari lunghe e di numero pari a 8-10 (Fig. 60B).

Le osservazioni al SEM non hanno permesso di visualizzare le spine nucleari (secondo carattere chiave nell'identificazione della specie) in quanto sottoepidermiche.

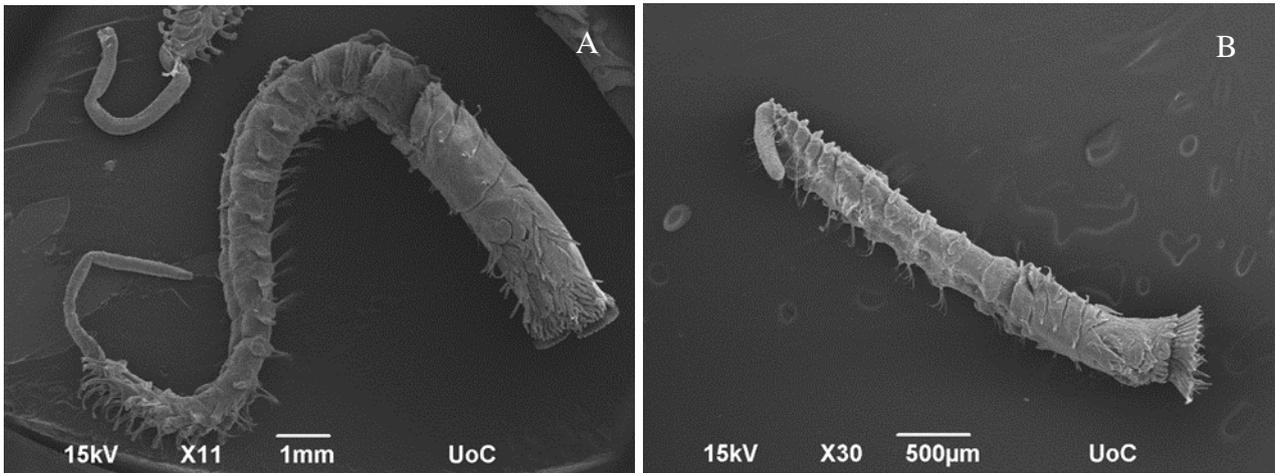


Fig. 56 – Esemplici mineralizzati pronti per le osservazioni (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

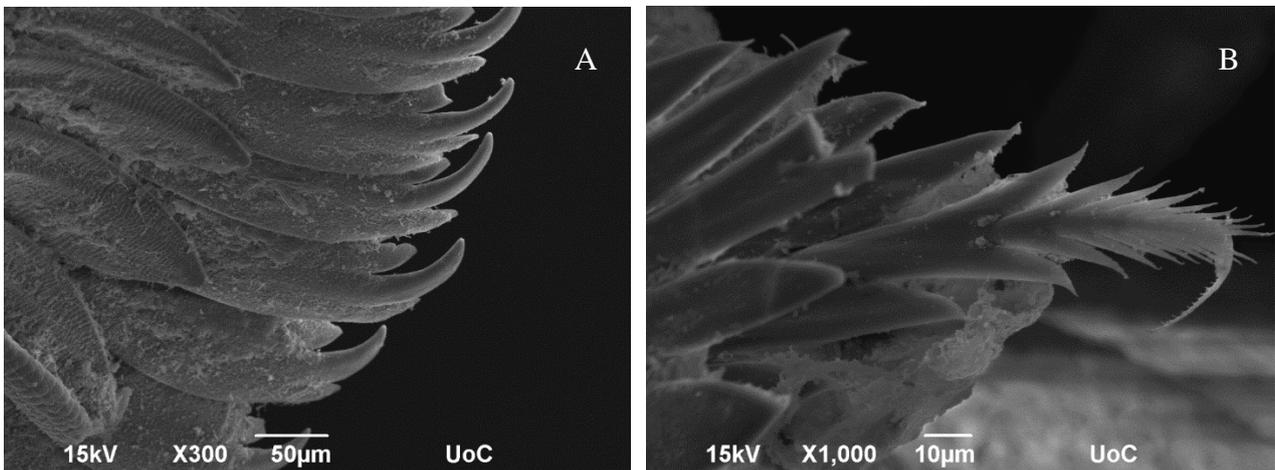


Fig. 57 – Margine pale opercolari esterne (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

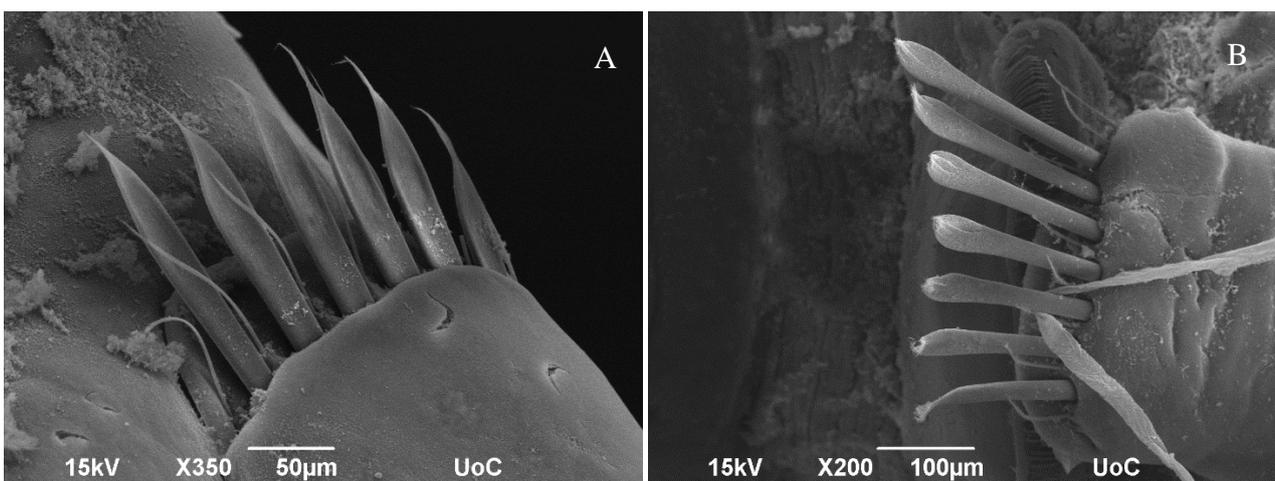


Fig. 58 – Notochete della porzione paratoracica del corpo (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

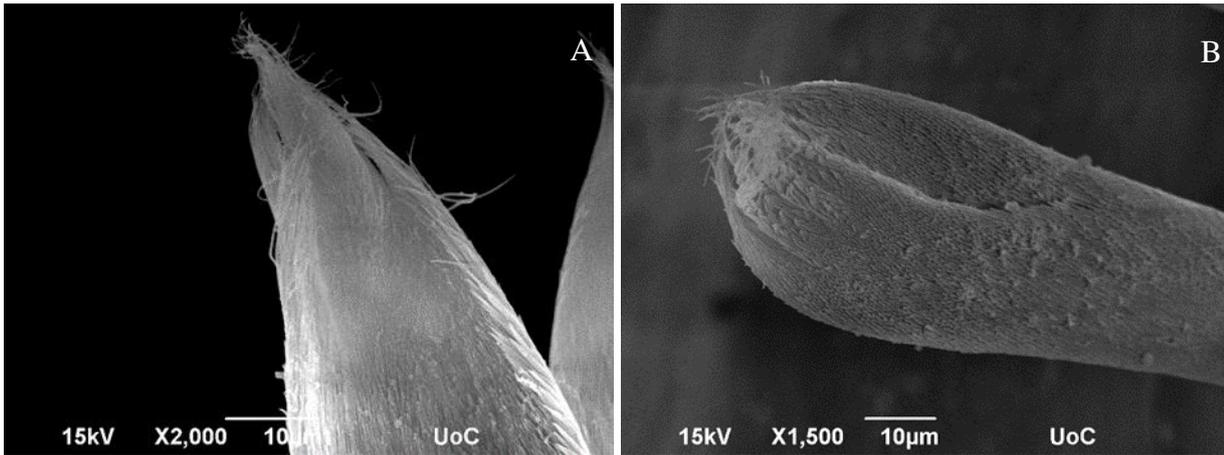


Fig. 59 – Dettaglio punta della notocheta (A) lanceolata in *S. alveolata*, (B) tondeggiante in *S. spinulosa*

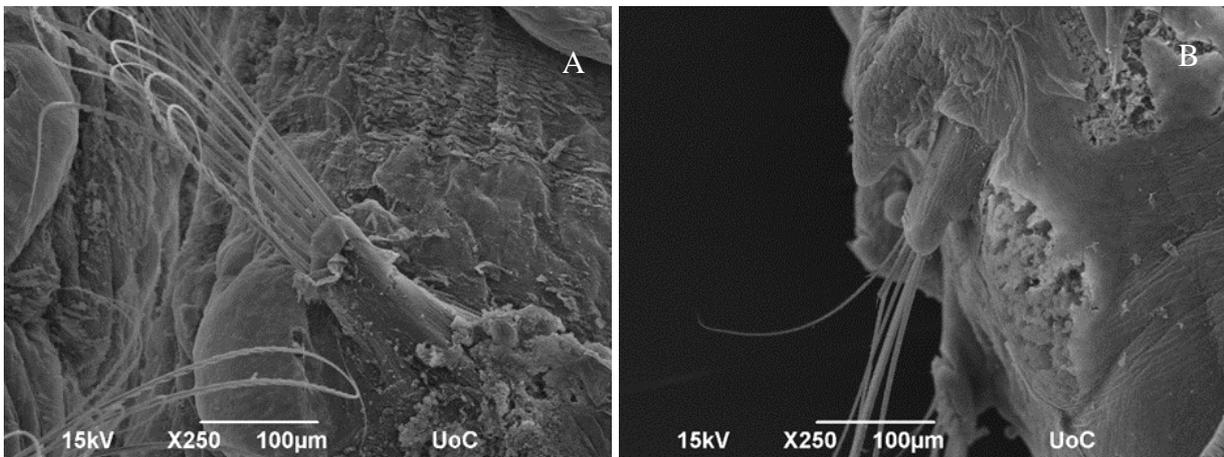


Fig. 60 – Neurochete del terzo segmento paratoracico in (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

### 3.4.3 Osservazioni al Micro-ct genere *Sabellaria*

I campioni di *S. alveolata*, osservati senza mezzo di contrasto, non hanno mostrato immagini utili per ulteriori approfondimenti. Per l'osservazione degli stessi è risultato pertanto più utile utilizzare il mezzo di contrasto PTA: l'acido fosfotungstico che ha lavorato molto bene su tutti gli esemplari studiati favorendo l'osservazione di strutture interne ed esterne (Fig. 61). Nel caso di *S. spinulosa* buoni risultati sono stati ottenuti sia con che senza l'ausilio di colorante (PTA).

Di seguito vengono riportate solo alcune delle immagini ottenute e considerate riepilogative della morfologia delle specie. Le osservazioni complete sugli esemplari sono disponibili in supporto video. Non sono state inserite foto delle strutture opercolari, già ampiamente analizzate con i precedenti metodi di studio, e comunque osservate per un ulteriore confronto. Nessuna differenza strutturale è stata riscontrata nella morfologia delle pale descritta in precedenza.

Mediante sezioni virtuali degli individui, sono stati osservati il sistema muscolare e l'apparato digerente. Grazie all'ausilio di PTA, legatosi preferenzialmente ad alcune proteine, è stato possibile visualizzare muscoli circolari, longitudinali e cuticola (Fig. 62). In particolare la parete del corpo rivestita da un epitelio monostratificato che secerne una cuticola sottile ha fornito un aspetto iridescente agli individui. Al di sotto della cuticola, è stato possibile osservare la muscolatura circolare che rivestiva interamente il corpo dei campioni e, più all'interno, la muscolatura longitudinale, rappresentata da due fasci dorsali e da due fasci ventrali decorrenti per tutta la lunghezza del corpo.

Incorporati nei muscoli dorsali dei segmenti paratoracici anteriori, sono stati osservati i sacchi chitinosi. Tali strutture repute alla formazione delle pale opercolari e delle chete della porzione paratoracica, sono disposti longitudinalmente e presenti in doppia coppia, una interna e una esterna (Fig. 63A,B). In *S. spinulosa* i sacchi chitinosi, dalla forma allungata (Fig. 64A) si sviluppano posteriormente alle spine nicali sottoepidermiche. Quest'ultime apparse in numero di quattro, due per ogni lobo opercolare, si estendevano in tutta la parte prostomiale degli individui. Apparivano piatte e ben sviluppate al di sotto delle file opercolari. Con lunghezza variabile, sono stati osservati in tutti gli individui, anche di piccole dimensioni (es. 3 mm) (Fig. 64B,C).

Proseguendo con le indagini, in entrambe le specie è stato possibile osservare l'organo costruttore di forma simile ad un ferro di cavallo circondante i labbri della bocca (Fig. 65A,B). L'organo, appare molto più sviluppato in *S. alveolata* rispetto che in *S. spinulosa* in accordo con le maggiori dimensioni dei campioni.

Infine sono state ottenute immagini delle porzioni del tratto digerente delle specie. L'esofago si estendeva nella porzione toracica (Fig. 66A,B) fino a raggiungere il ventriglio nella regione addominale (Fig. 67). L'esofago mostrava una tipica forma a sacco mentre il ventriglio era caratterizzato da numerose estroflessioni. Le immagini fotografano solo il tratto anteriore dello intestino (Fig. 67A-B).

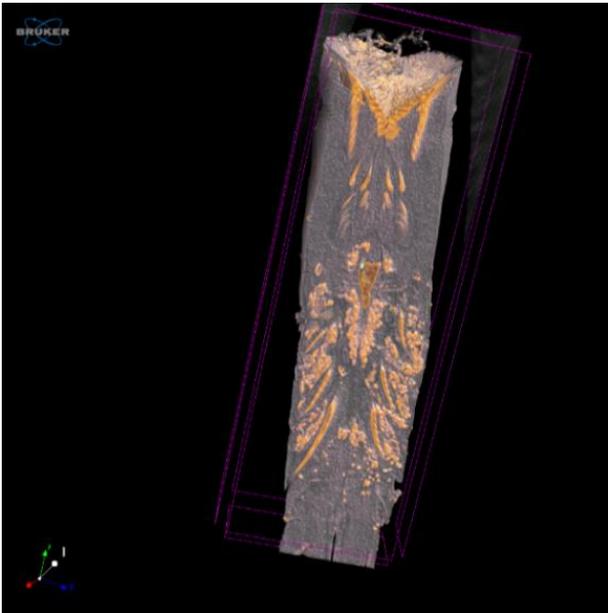


Fig. 61 – Anatomia corpo *S. alveolata*, visualizzazione strutture chitinose interne ed esterne

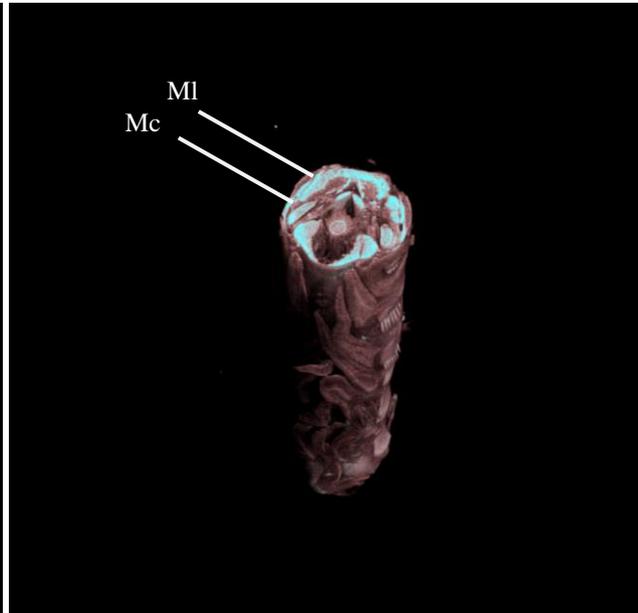


Fig. 62 – Virtuale dissezione del corpo di *S. alveolata* mostrante muscoli (Mc) circolari, (MI) longitudinali ventrali

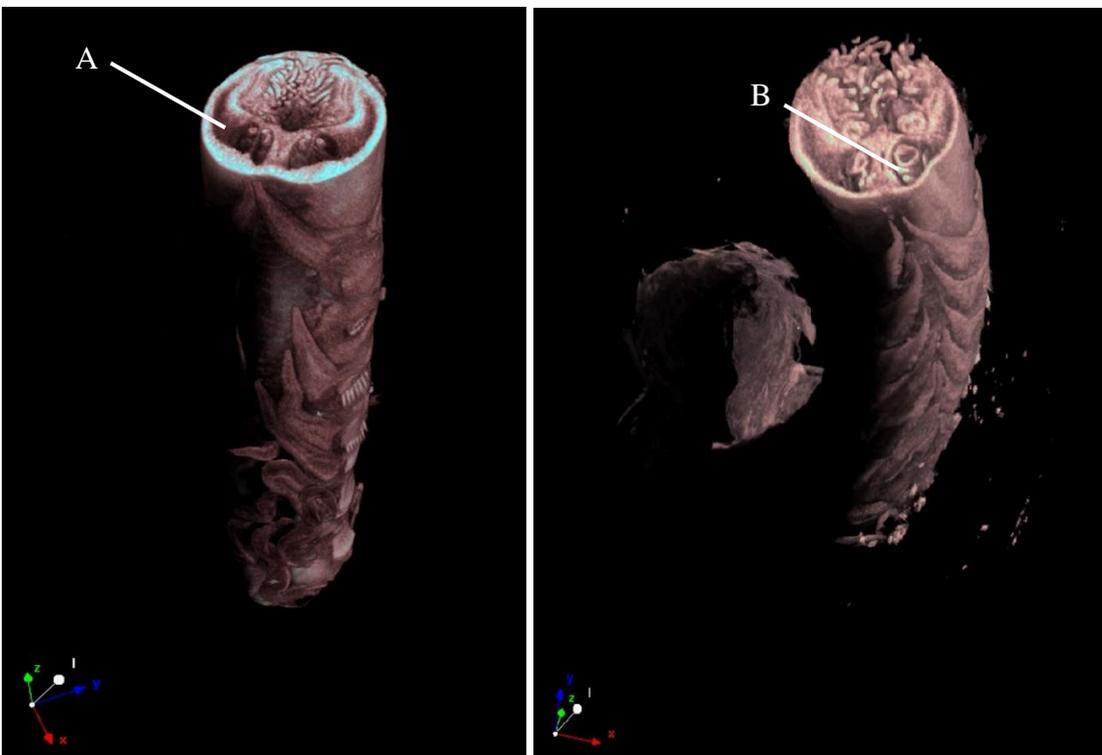


Fig. 63 – Coppia di sacchi chitinosi nella porzione toracica in (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

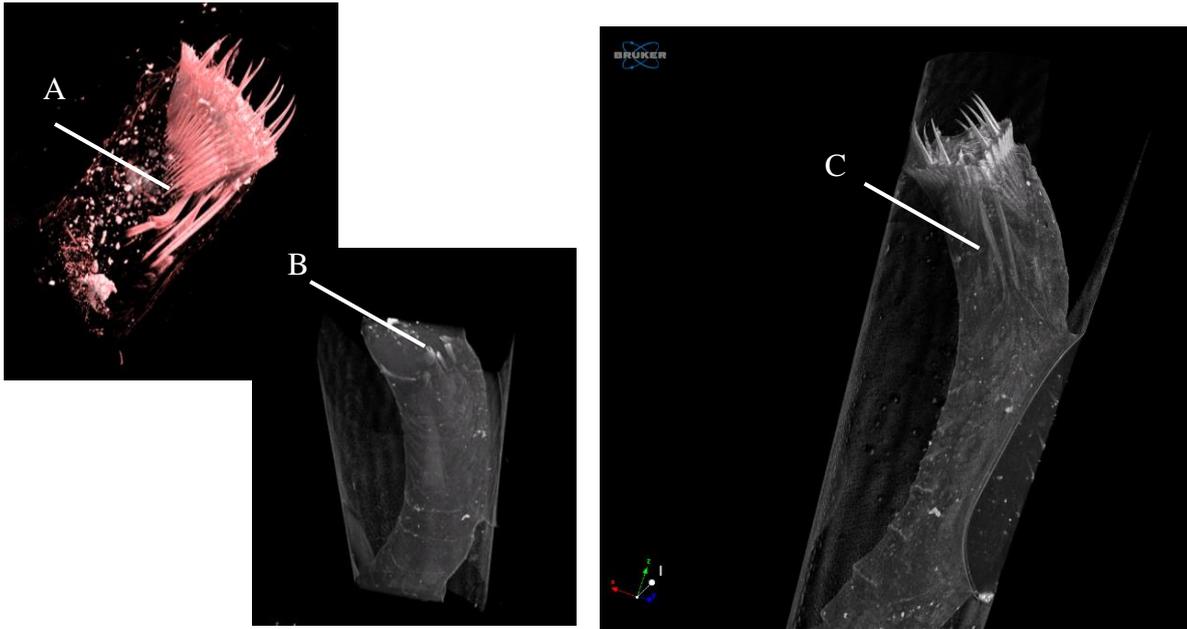


Fig. 64 – (A) Disposizione dei sacchi chitinosi di forma allungata dietro le spine nicali, (B) coppia di spine nicali in giovane di *S. spinulosa* (3 mm), (C) spine nicali in adulto di *S. spinulosa* (10 mm).

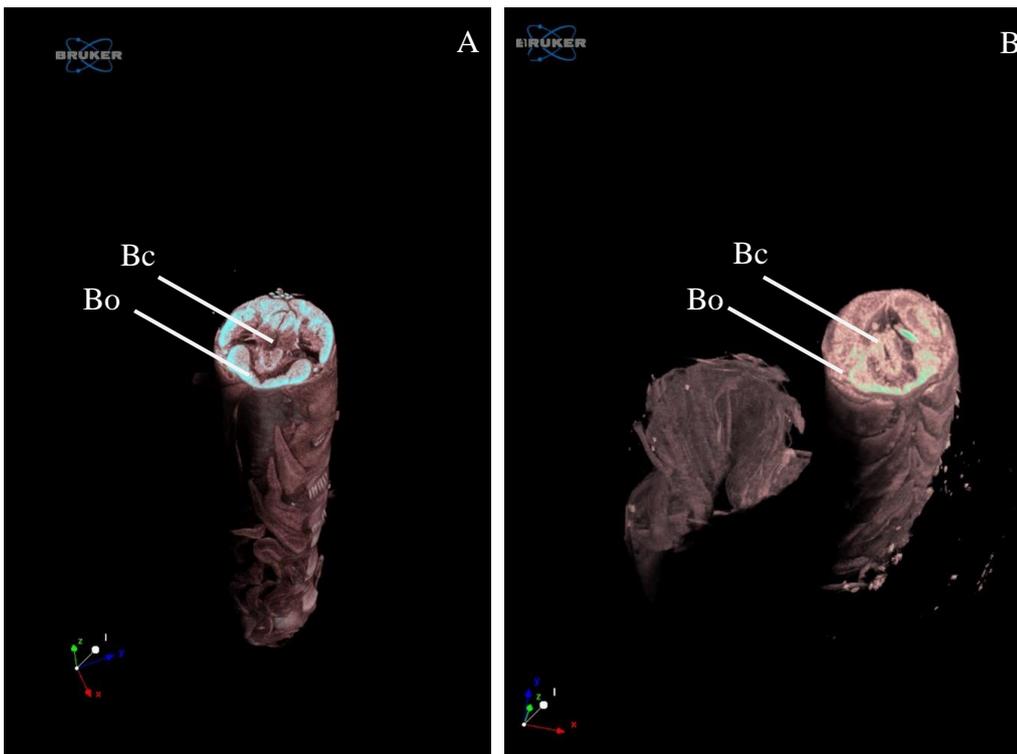


Fig. 65 – (Bo) Organo costruttore di forma semiconcentrica; (Bc) bocca in (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*



Fig. 66 – Primo tratto dell'apparato digerente (esofago) in (A) *S. alveolata*, (B) *S. spinulosa*

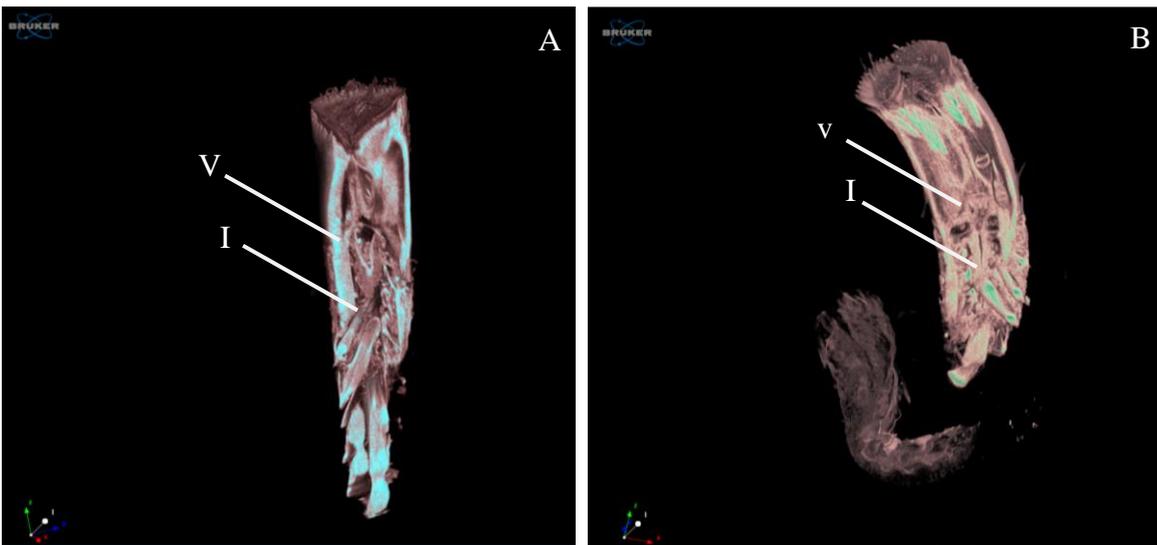


Fig. 67 – Osservazioni (V) ventriglio, (I) primo tratto dell'intestino di (A) *S. alveolata* e (B) *S. spinulosa*

### 3.5 Sistematica ed identificazione morfologica Famiglia Phyllodocidae Örsted, 1843

Phylum: Annelida

Classe: Polychaeta Grube, 1850

Sottoclasse: Errantia Audouin & H Milne Edwards, 1832

Ordine: Phyllodocida Dales, 1962

Famiglia: Phyllodocidae Örsted, 1843

Sottofamiglia Eteoninae Bergström, 1914

Genere *Eulalia* Savigny, 1822

Specie *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888 (Fig. 68)

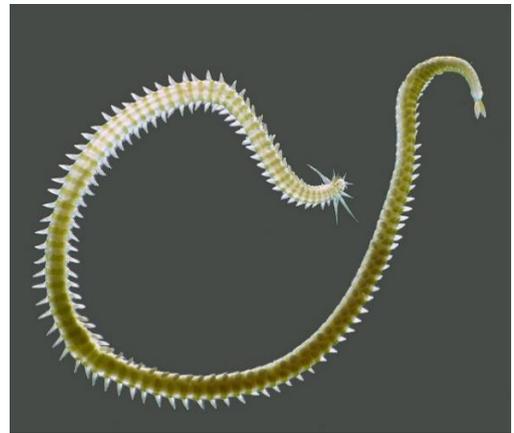


Fig. 68 – *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888



Fig. 69 – Parti del corpo con caratteri diagnostici

La famiglia è attualmente suddivisa in tre sottofamiglie in cui si annoverano 11 generi (Pleijel, 1991), tra i quali l'unico presente all'interno delle biocostruzioni in esame è il genere *Eulalia* Savigny, 1822. In particolare in tutte le località campionate, è stata registrata la presenza di una unica specie: *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888 i cui individui sono stati riconosciuti per caratteri diagnostici presenti nel capo e nel corpo (Fig. 69).

La colorazione tipicamente gialla degli individui vivi è andata perduta durante gli studi a causa della conservazione in alcool etilico dei campioni, che hanno mostrato conseguentemente un colore giallo scuro, verdastro o marrone. In tutti gli esemplari osservati, tuttavia, il modello di pigmentazione si è mantenuto: il corpo attraversato da due coppie di bande trasversali di colore verde oliva, presentava macchie marroni scure ai lati di ogni segmento del corpo. Nel prostomio rotondo una antenna mediana situata di fronte agli occhi appariva leggermente più corta delle due antenne laterali. La faringe estroflessa, si presentava densamente ricoperta da papille di ugual misura.

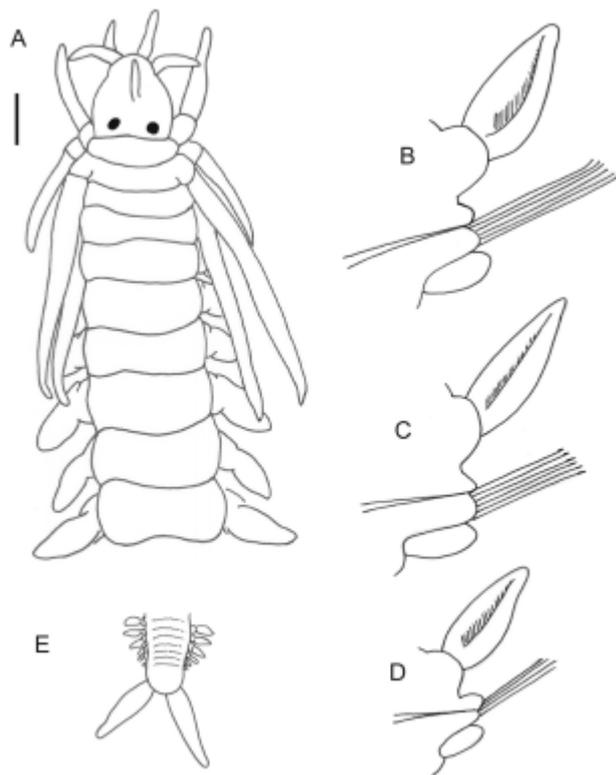


Fig. 70 – Iconografia *Eulalia ornata* (Schimmenti et al., 2016)

I caratteri diagnostici principali nel riconoscimento morfologico della specie sono stati individuati nella forma e nella misura dei cirri dorsali presenti nei primi tre segmenti del corpo. In particolare i cirri tentacolari del segmento 1 raggiungevano il segm. 3-4, mentre i cirri dorsali dei segmenti 2-3 raggiungevano i segm. 8-9. Una accurata descrizione della forma e della lunghezza dei cirri ha mostrato diversità nelle differenti porzioni del corpo degli individui: i cirri mostravano punte arrotondate o lanceolate con ineguali rapporti di lunghezza/larghezza.

La creazione di una tavola iconografica dei caratteri tassonomici chiave per l'identificazione della specie (Fig. 70) ha permesso un confronto visivo immediato con le rappresentazioni della specie fino ad oggi possedute.

I caratteri morfologici della specie *E. ornata* siciliana sono apparsi morfologicamente simili ai caratteri presenti in due specie congeneriche: *E. viridis* ed *E. clavigera* fino ad oggi segnalate nel bacino del Mediterraneo. Un confronto tra le specie è stato pertanto reputato necessario. In *E. viridis* e *E. clavigera* il prostomio appare cordiforme o triangolare. Le due specie mostrano una faringe meno stretta e clavata con papille coniche e crescenti in dimensioni dalla base all'estremità distale. L'antenna mediana mostra la stessa lunghezza del paio di antenne laterali. In *E. viridis*, i cirri tentacolari del segmento 1 sono brevi, lanceolati e raggiungono i segmenti 2-3 mentre i cirri dorsali dei segmenti 2-3 raggiungono i segm. 6-7. In *E. clavigera*, i cirri tentacolare del segmento 1 raggiungono il segmento 3 mentre i cirri dorsali dei segmenti 2-3 raggiungono i segm. 7-8. Il rapporto lunghezza/larghezza dei cirri lungo tutto il corpo nelle due specie congeneriche appare inferiore a quello registrato in *E. ornata* (Tab. 10).

Nella Figura 71 è stato rappresentato il rapporto tra il numero dei segmenti e la lunghezza del corpo di individui di *E. ornata* del Canale Sicilia rispetto ad esemplari Atlantici, provenienti da Brittany e Arcachon (Francia). I 24 campioni scelti tra le tre località hanno mostrato una lunghezza del corpo compresa tra i 4-60 mm, con valore medio minimo registrato a Triscina ( $22,1 \pm 13,29$  DS) e

massimo a Eraclea Minoa ( $27,4 \pm 18,27$  DS). Il numero di segmenti presenti in tutto il corpo era compreso tra 20-190. I campioni di Triscina hanno mostrato un corpo dal più basso numero di segmenti ( $101,4 \pm 42,92$  DS), mentre gli esemplari di Eraclea Minoa un corpo mediamente dal numero più alto di segmenti ( $111,8 \pm 51,47$  DS). Nella Figura 71 i rombi blu rappresentanti campioni siciliani sono apparsi sparsi tra i quadrati celesti, rappresentanti gli esemplari Atlantici. Le linee di tendenza hanno mostrato una pendenza simile (rispettivamente 0.44 e 0.49). Il test ANOVA non ha rivelato alcuna differenza significativa tra le distribuzioni ( $MS = 1.7684$ ;  $F_{1,47} = 0.60887$ ;  $p = 0.45$ ).

Tab. 10 – Confronto caratteri diagnostici delle tre specie di *Eulalia* presumibilmente presenti in Mediterraneo

	<i>Eulalia ornata</i>	<i>Eulalia viridis</i>	<i>Eulalia clavigera</i>
Colorazione	Giallo debole	Verde	Verde smeraldo
Pattern pigmentazione	2 paia di bande trasversali verde-oliva e macchie scure mediane su segmenti	A volte bande rossastre e/o macchie scure sui parapodi	A volte macchie scure sui parapodi
Antenna mediana posta anteriormente agli occhi (prostomio)	Leggermente più corta delle antenne anteriori	Stessa misura delle antenne anteriori	Stessa misura delle antenne anteriori
Papille	Rotonde, stessa misura lungo tutta proboscide	Coniche, di misura crescente verso l'estremità	Coniche, di misura crescente verso l'estremità
Cirri tentacolari sui primi 3 segmenti	Generalmente appiattiti Cirri segm. 1 raggiungono segm. 3-4 Cirri segm. 2,3 raggiungono segm. 8-9	Generalmente lanceolati Cirri segm. 1 raggiungono segm. 2-3 Cirri segm. 2,3 raggiungono segm. 6-7	Generalmente fusiformi Cirri segm. 1 raggiungono segm. 2-3 Cirri segm. 2,3 raggiungono segm. 7-8
Cirri dorsali: porzione anteriore	Con punta arrotondata, lanceolati dal segm. 10	Ampiamente rotondi, lanceolati dal segm. 8	Ampiamente rotondi, allungati e di forma triangolare dal segm. 8
Porzione mediana	Lanceolate, leggermente asimmetriche, 3-3 ¼ volte più lungo che largo	Lanceolate, triangolari 2¼ - 3 volte più lungo che largo	Lanceolate, asimmetriche 1 ¾ - 2 ¼ volte più lungo che largo
Porzione posteriore	Lanceolate, asimmetriche 3 - 3 ½ più lungo che largo	Asimmetriche, 2½ - 3½ più lungo che largo	Simmetriche, circa 2 ½ volte più lungo che largo

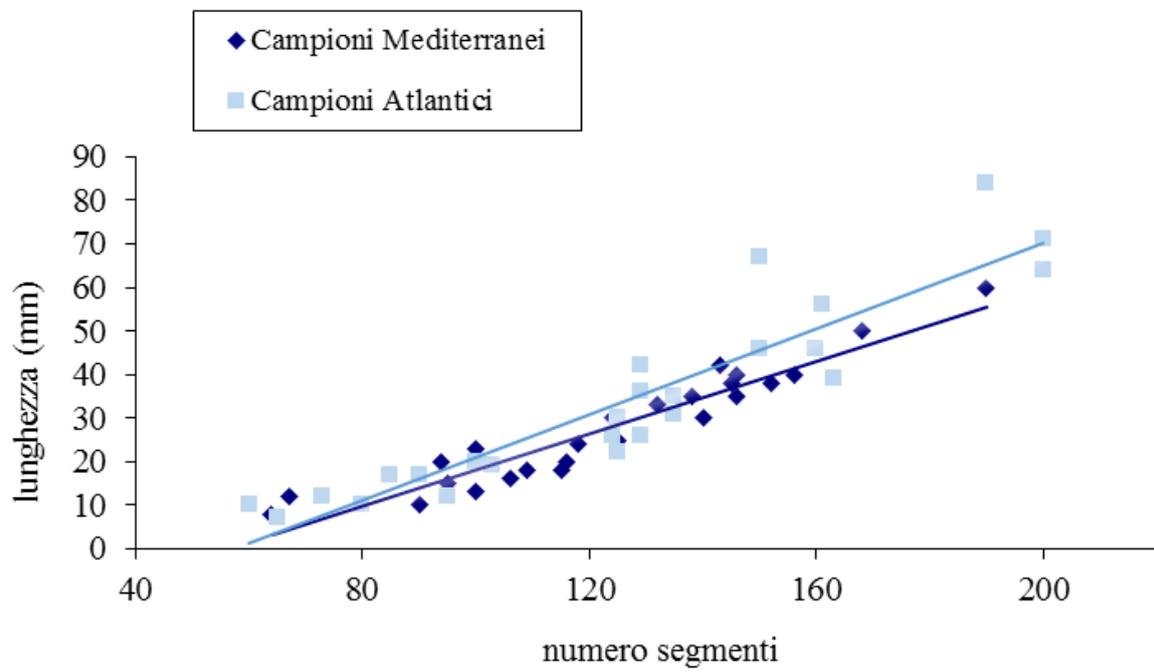


Fig. 71 – Confronto tra individui di *Eulalia ornata* campionati in reef siciliani (blu) e in reef delle coste francesi (celeste); in dettaglio rapporto tra numero segmenti-lunghezza corpo dei campioni.

### 3.6 Sistematica ed identificazione morfologica Famiglia Syllidae Grube, 1850

Phylum: Annelida

Classe: Polychaeta Grube, 1850

Sottoclasse: Errantia Audouin & H Milne Edwards, 1832

Ordine: Phyllodocida Dales, 1962

Sottordine: Nereidiformia

Famiglia: Syllidae Grube, 1850 (Fig. 72)



Fig. 72 – *Syllis* sp.



Fig. 73 – *Syllis gracilis* (Triscina)

Gli individui mostravano un corpo giallastro semi trasparente, raramente opaco o di colore violaceo, con pattern di pigmentazione costituiti da fasce longitudinali o trasversali o da macchie scure (Fig. 73). Il corpo di forma cilindrica, spesso appiattito lungo l'asse dorso ventrale, mostrava lunghezza variabile compresa tra 1-9 mm, ad eccezione di alcune specie di *Syllis* che superavano il centimetro. Esso mostrava una caratteristica metameria con segmenti simili fra loro (segmentazione omonoma), ad eccezione di quelli presenti nel capo e nel pigidio e un proventricolo facilmente osservabile in individui con colorazione del corpo semitrasparente.

Caratteri diagnostici utili per l'identificazione tassonomica sono stati rappresentati dai quattro occhi più o meno evidenti presenti nel prostomio ben sviluppato e di forma semicircolare e/o rettangolare, e dal numero (generalmente tre), dalla posizione (una centrale e due laterali) e dalla forma delle antenne.

All'interno dei reef in dettaglio, sono state identificate 12 specie. Tra esse 4 specie hanno mostrato frequenza maggiore tra le repliche: *Bramia arminii* (Langerhans, 1881), riconosciuta per la presenza di 2 paia di cirri tentacolari di forma lobata e per la presenza di ghiandole alla base dei parapodi; *Syllis armillaris* (Muller, 1776), *Syllis gracilis* (Grube, 1840) e *Syllis pulvinata* (Langerhans, 1881), distinte per la struttura dei parapodi e delle chete ad esse annesse. Ad ognuna delle specie identificate, depositata presso il Museo Zoologico dell'Università di Palermo (MZPA), è stato attribuito un codice museale (Tab. 11). Oltre i Sillidi, la restante comunità di Policheti è stata rappresentata da 12 differenti famiglie distinte in 21 specie (Tab. 12).

Tab. 11 – Check-list Sillidi presenti nei reef siciliani

Fam. Syllidae	Specimen voucher	TRISCINA								ERACLEA MINOA								DONNALUCATA								TOT
		TR1				TR2				EM1				EM2				DL1				DL2				
		R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	
<i>Bramia arminii</i> (Langerhans, 1881)	MZPA-ANN-0026	1		1														3	7	5	12	36	11	5	81	
<i>Exogone naidina</i> (Ørsted, 1845)	MZPA-ANN-0027																							1	1	
<i>Exogone rostrata</i> (Naville, 1933)	MZPA-ANN-0028						1	1																	2	
<i>Odontosyllis ctenostoma</i> (Claparède, 1868)	MZPA-ANN-0029			1																					1	
<i>Salvatoria clavata</i> (Claparède, 1863)	MZPA-ANN-0030																				1	1			2	
<i>Sphaerosyllis pirifera</i> (Claparède, 1868)	MZPA-ANN-0031		1	1	2					1	2							1			1				9	
<i>Syllis armillaris</i> (O.F. Muller, 1776)	MZPA-ANN-0032	28	31	16	29	2	1	9	1	2	3	1	5	1				2		12	7	12	5	6	17	190
<i>Syllis variegata</i> (Grube, 1860)	MZPA-ANN-0033																				5	1	4		10	
<i>Syllis garciai</i> (Campoy, 1982)	MZPA-ANN-0034	1	4	3		1	1	3	4														1		18	
<i>Syllis gracilis</i> (Grube, 1840)	MZPA-ANN-0035	2	3	3	10	2				1	6	4	2	16	11	27	9		1	1			1		99	
<i>Syllis prolifera</i> (Krohn, 1852)	MZPA-ANN-0036																							1	1	
<i>Syllis pulvinata</i> (Langerhans, 1881)	MZPA-ANN-0037	5	5	8	2	1		5		1	1	3	1				54	7	38	28	122	40	30	85	436	



Tab. 12 – Check-list “altri Policheti” presenti nei reef siciliani

Famiglia	Specie	Specimen voucher	TRISCINA								ERACLEA MINOA								DONNALUCATA								TOT
			TR1				TR2				EM1				EM2				DL1				DL2				
			R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	
Nereididae	<i>Platynereis dumerilii</i> (Audouin & Milne Edwards, 1834)	MZPA-ANN-0016				1							1							1							3
Oeonidae	<i>Arabella iricolor</i> (Montagu, 1804)	MZPA-ANN-0017				1														11		1		3	3	2	21
Opheliidae	<i>Armandia cirrhosa</i> Filippi, 1861	MZPA-ANN-0018		6		1						2								1							10
Pholoidae	<i>Pholoe inornata</i> Johnston, 1839	MZPA-ANN-0019				1							1							1							3
Polynoidae	<i>Lepidonotus clava</i> Johnston, 1839	MZPA-ANN-0020																		1					1		2
Polynoidae	<i>Harmothoe bellani</i> Barnich & Fiege, 2000	MZPA-ANN-0021		2		11																					13
Polynoidae	<i>Harmothoe extenuata</i> (Grube, 1840)	MZPA-ANN-0022				1																					1
Polynoidae	<i>Malmgreniella liliana</i> Pettibone, 1993	MZPA-ANN-0023														1				1							2
Spionidae	<i>Spio decoratus</i> Bobretzky, 1870	MZPA-ANN-0024												1						1							2

### 3.7 Sistematica ed identificazione Ordine Amphipoda Latreille, 1816

Phylum: Arthropoda

Sotto Phylum: Crustacea Brünnich, 1772

Classe: Malacostraca Latreille, 1802

Sottoclasse: Eumalacostraca

Superordine: Peracarida Calman, 1904

Ordine: Amphipoda Latreille, 1816



Fig. 74 – *Jassa ocia* (Eraclea Minoa)

L'identificazione delle specie è apparsa a tratti complessa per le dimensioni del corpo degli individui comprese tra 1-40 mm (Fig. 74).

All'interno dei reef siciliani gli individui rinvenuti sono stati suddivisi in 23 specie (Tab. 13). Tra i siti campionati le specie più abbondanti sono apparse *Jassa ocia* (Bate, 1862) e *Gammaropsis ulrici* Krapp-Schickel & Myers, 1979, rispettivamente con abbondanza dell'ordine delle centinaia e non delle decine come per le restanti specie. I caratteri tassonomici utili alla discriminazione delle due specie hanno riguardato la forma del secondo gnatopode (Gn2) e del terzo uropode (Ur3).

In particolare gli individui di *Jassa ocia* mostravano uno Gn2 subchelato con base corpulenta portante lunghe pettinate sete, carpo molto ridotto e a forma di coppa, propode con palmo con 2-3 escavazioni, dattilo falfaco e uno Ur3 biramoso con peduncolo robusto di lunghezza maggiore dei rami uguali in lunghezza. Gli individui di *Gammaropsis ulrici* mostravano uno Gn2 subchelato con carpo dalla lunghezza pari ad 1/3 dell'intero del propode e uno Ur3 biramoso, con un peduncolo robusto e due rami mostranti la stessa lunghezza (Fig. 75). Peculiarità nella forma complessiva degli gnatopodi e degli urosomi, con particolare riferimento alla forma e ai rapporti di lunghezza delle parti che li costituiscono, hanno portato all'identificazione delle restanti specie.

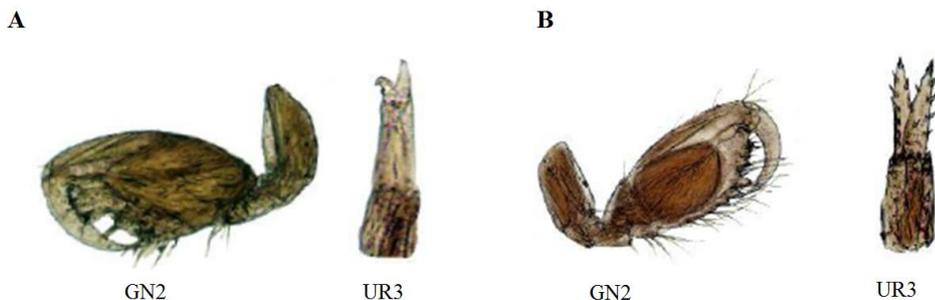


Fig. 75 – Immagine illustrativa caratteri diagnostici di (A) *Jassa ocia*, (B) *Gammaropsis ulrici*

Tab. 13 – Check-list Anfipodi presenti nei reef siciliani

Famiglia	Specie	Specimen voucher	TRISCINA								ERACLEA MINOA								DONNALUCATA								TOT		
			TR1				TR2				EM1				EM2				DL1				DL2						
			R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4			
Amphilochidae	<i>Apolochus neapolitanus</i> Della Valle, 1893	MZPA-AMPH-0029	2		1								1							1	9	10			5	1	4		34
Ampithoidae	<i>Ampithoe ramondi</i> Audouin, 1826	MZPA-AMPH-0030																		1	2					1	1	2	7
Aoridae	<i>Microdeutopus chelifer</i> (Bate, 1862)	MZPA-AMPH-0031				1						1												1	3			6	
Aoridae	<i>Tethylembos viguieri</i> (Chevreux, 1911)	MZPA-AMPH-0032	3	5	1			13	2	2											3							1	30
Caprellidae	<i>Caprella acanthifera</i> Leach, 1814	MZPA-AMPH-0033			1			1	1												9	1					10	23	
Caprellidae	<i>Caprella dilatata</i> Krøyer, 1843	MZPA-AMPH-0034																							1			1	
Caprellidae	<i>Caprella liparotensis</i> Haller, 1879	MZPA-AMPH-0035		9	2										1												4	16	
Caprellidae	<i>Pseudolirius kroyeri</i> (Haller, 1897)	MZPA-AMPH-0036															1											1	
Caprellidae	<i>Pseudoprotella phasma</i> (Montagu, 1804)	MZPA-AMPH-0037												1														1	
Caprellidae	<i>Caprella rapax</i> Mayer, 1890	MZPA-AMPH-0038	6																					6	5	19		36	
Corophiidae	<i>Apocorophium acutum</i> (Chevreux, 1908)	MZPA-AMPH-0039		1	1																5					1		8	
Corophiidae	<i>Leptocheirus guttatus</i> (Grube, 1864)	MZPA-AMPH-0040		1		2																						3	

Tab. 13 – Check-list Anfipodi presenti nei reef siciliani

Famiglia	Specie	Specimen voucher	TRISCINA								ERACLEA MINOA								DONNALUCATA								TOT	
			TR1				TR2				EM1				EM2				DL1				DL2					
			R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4		
Corophiidae	<i>Leptocheirus pilosus</i> Zaddach, 1844	MZPA-AMPH-0041						5																			5	
Hyalidae	<i>Hyale pontica</i> Rathke, 1847	MZPA-AMPH-0042	1					1									1	1			1	1	1				1	8
Ischyroceridae	<i>Erichthonius brasiliensis</i> (Dana, 1855)	MZPA-AMPH-0043															1										1	
Ischyroceridae	<i>Jassa ocia</i> (Bate, 1862)	MZPA-AMPH-0044	14	26	23	22	3	1	1		3	31	54	14	4	3	26	9	11	8	41	1	7	3	10	7	322	
Liljeborgiidae	<i>Liljeborgia dellavallei</i> Stebbing, 1906	MZPA-AMPH-0045	2	2		2	1	3	1	3		1	1														16	
Maeridae	<i>Maera grossimana</i> (Montagu, 1808)	MZPA-AMPH-0046	1				2		1		1		1			1											7	
Melitidae	<i>Melita hergensis</i> Reid, 1939	MZPA-AMPH-0047																					14				14	
Photidae	<i>Gammaropsis ulrici</i> Krapp-Schickel & Myers, 1979	MZPA-AMPH-0048	39	34	52	63	12	15	3	5	3	31	52	26	1		11	4		4	3		2				360	
Photidae	<i>Photis longicaudata</i> (Bate & Westwood, 1862)	MZPA-AMPH-0049						3																			3	
Podoceridae	<i>Podocerus schieckei</i> Ruffo, 1987	MZPA-AMPH-0050																						1			1	
Stenothoidae	<i>Stenothoe monoculoides</i> (Montagu, 1813)	MZPA-AMPH-0051				1										1	1						1				4	

### 3.8 Identificazione molecolare genere *Sabellaria* in Mediterraneo

A supporto dell'identificazione morfologica è stata condotta una analisi molecolare sulle specie di riferimento che ha permesso di caratterizzare e delimitare le specie e di contribuire al riconoscimento degli individui di dubbia identificazione. Un frammento del gene mitocondriale COI è stato sequenziato con successo in entrambe le specie appartenenti al genere *Sabellaria*. Un totale di circa 610 coppie di basi per entrambe le specie sono state allineate e analizzate. In particolare sono stati confrontati 4 esemplari, di cui 3 provenienti dai *reef* siciliani e morfologicamente identificati come *S. alveolata*, *S. spinulosa* e *S. cf. alcocki* e un individuo proveniente dall'Atlantico orientale, la cui sequenza è stata scaricata da Genbank (AN KF808174).

La lettura dall'albero Neighbor-Joining costruito secondo il modello Kimura-2-parametri (K2P) ha permesso di discriminare due cladi monospecifici, ascrivibili alle specie *S. alveolata* e *S. spinulosa*.

Gli individui di *S. cf. alcocki* sono stati identificati come ascrivibili a *S. spinulosa*, come si evince dai valori di distanza genetica schematizzati nell'albero Neighbor-Joining mostrante nodi supportati da alti indici di bootstrap (> 90%) (Fig. 76).

All'interno del clade di *S. spinulosa* le distanze erano minori allo 0,9% mentre la distanza interspecifica è stata stimata superiore al 2%, tanto da sostenere la delimitazione tra le specie *S. alveolata* e *S. spinulosa*. Una differenziazione genetica tra gli aplotipi di *S. spinulosa* mediterranei e quello atlantico potrebbe essere causata da un isolamento geografico.

Il sequenziamento del gene nucleare 28S ha mostrato una singola mutazione per transizione tra *S. alveolata* e *S. spinulosa* e *S. cf. alcocki*.

I risultati hanno permesso di risolvere le ambiguità tassonomiche del genere *Sabellaria* consentendo di rafforzare l'ipotesi secondo cui le segnalazioni di *S. alcocki* del Mediterraneo derivano da errate identificazioni di giovanili di *S. spinulosa*.

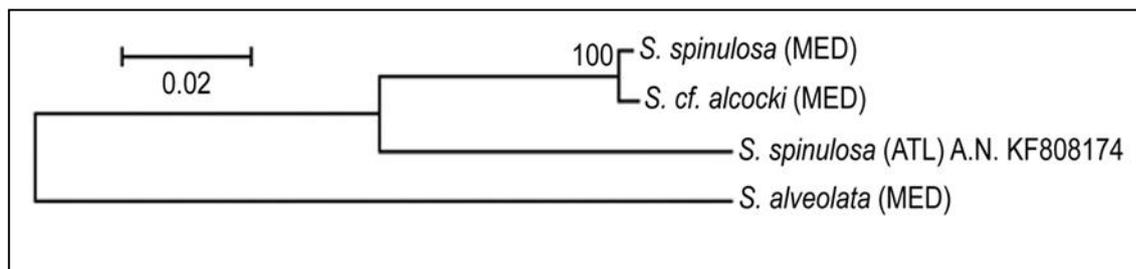


Fig. 76 – Albero NJ costruito sul modello K2P da sequenze di COI. MED: raccolto in Mediterraneo; ATL: raccolto in Atlantico (Schimmenti et al., 2015).

Il DNA delle sequenze ottenute dalle analisi molecolari, sottomesse in GenBank è stato depositato presso il Museo di Zoologia dell'Università di Palermo (MZPA) insieme ad un frammento dell'esemplare corrispondente (Tab. 14).

Tab. 14 – Campioni sequenziati il cui DNA è stato depositato in MZPA.

Specie	<i>Voucher-code</i> museale	Genbank Accession Number (COI)	Genbank Accession Number (28S)
<i>S. alveolata</i>	MZPA-ANN-0001	KR022647	KR028390
<i>S. spinulosa</i>	MZPA-ANN-0002	KR013048	KR028391
<i>S. spinulosa</i> cfr. <i>alcocki</i>	MZPA-ANN-0003	KR013049	KR028392

### 3.9 Identificazione molecolare specie *Eulalia ornata* in Mediterraneo

L'identificazione morfologica delle specie *Eulalia ornata* è stata avvalorata dai risultati delle analisi genetiche ottenute sequenziando un frammento del gene mitocondriale COI. Sequenze di *E. ornata* sono state confrontate con un set di sequenze COI presenti in Genbank ed appartenenti a due specie congeneriche provenienti da diverse località: *E. viridis* e *E. clavigera*. Relazioni di parentela tra le specie sono state rappresentate graficamente in un albero Neighbor-Joining (NJ) costruito secondo il modello Kimura-2-parametri (K2P) che ha permesso di valutare la distanza genetica tra le specie. In dettaglio, i risultati molecolari hanno discriminato le tre specie congeneriche in tre cladi monospecifici, sostenuti da robusti nodi (valore bootstrap = 100%), come mostrato in Figura 77.

Il clade di *E. ornata*, costituito da due individui raccolti nel Mar Mediterraneo e da un esemplare proveniente dal canale di Bristol, è apparso chiaramente distinguibile dagli altri due cladi, rispettivamente costituiti, nel caso di *E. viridis*, da esemplari provenienti dall'oceano Atlantico nord-orientale (Mare di Norvegia, Mare del Nord e Golfo di San Lorenzo), e dal Mar Glaciale Artico (Mar Bianco); e nel caso del di *E. clavigera*, da campioni del nord-est Atlantico (Manica) e del Mediterraneo occidentale (Francia).

Le distanze intra-specifiche K2P erano pari a 0,004-0,013, mentre distanze K2P tra le specie congeneriche (inter-specifiche) erano di 0,19-0,22. Il metodo ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*), generato sulle distanze K2P, ha permesso di rappresentare graficamente un Gap, dal quale si è evinto come gli intervalli di divergenza intra-specifici non devono sovrapporsi agli intervalli di divergenza inter-specifica (Fig. 78).

Tali modelli illustrano l'utilità di sequenze COI nel fornire risoluzione a livello di specie, confermando che la specie *E. ornata* appare chiaramente delimitata dalle specie congeneriche. I risultati hanno suggerito che la stabilità dell'associazione *E. ornata*-*S. alveolata* riportata in Atlantico sia tale anche in Mediterraneo tanto da ipotizzare che le precedenti segnalazioni mediterranee di *E. viridis* in associazione con sabellarieto siano da attribuire a *E. ornata* (Fig. 79).

I risultati ottenuti mediante analisi molecolari integrate a studi morfologici hanno consentito di indicare *E. ornata* come nuovo polichete nella fauna del Mediterraneo e di ri-descrivere il suo areale mediante la distinzione dalle altre specie congeneriche prese in esame (*E. viridis* e *E. clavigera*). *Eulalia viridis* si conferma specie nordica, pertanto si ipotizza che le segnalazioni lungo il bacino del Mediterraneo derivano da errori di identificazione con le due specie congeneriche di accertata distribuzione mediterranea (Fig. 79, Allegato 2).

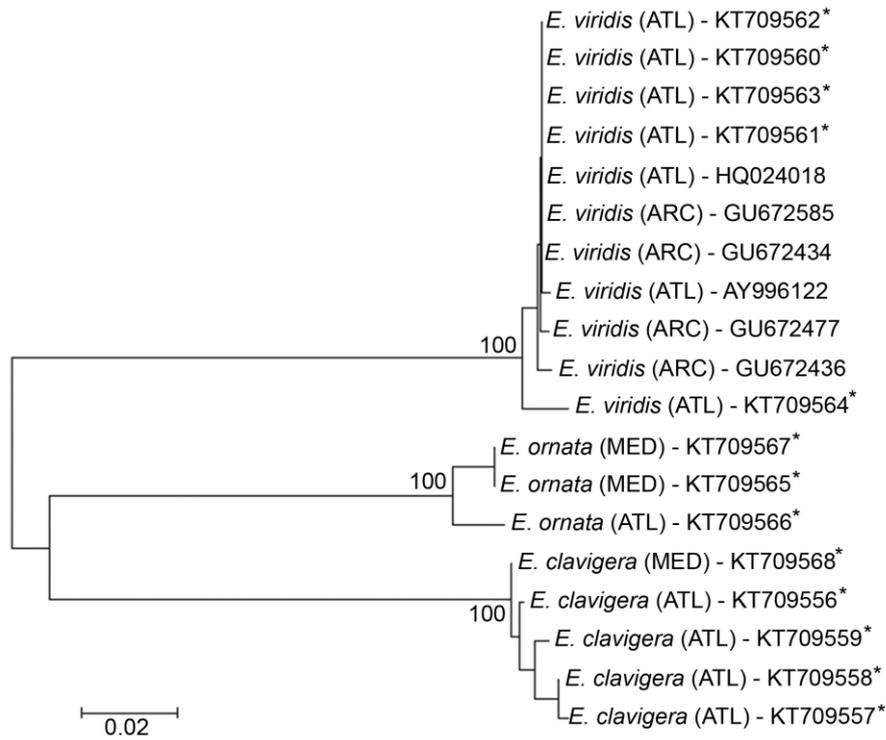


Fig. 77 – Albero NJ costruito sul modello K2P da sequenze di COI. MED: raccolto in Mediterraneo; ATL: raccolto in Atlantico; ARC raccolto nel Mar Glaciale Artico (Schimmenti et al., 2016).

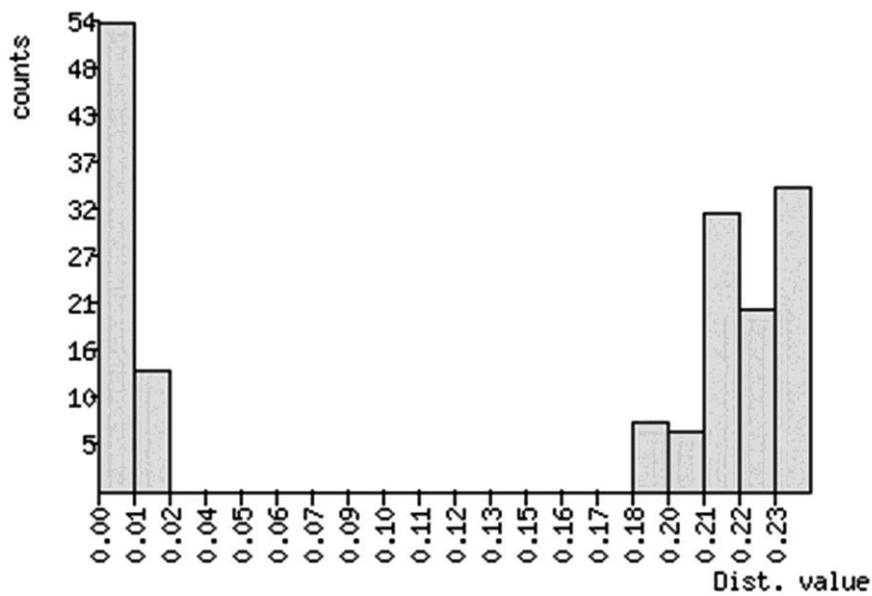


Fig. 78 – Distribuzione dei valori di distanza K2P eseguiti da ABGD e mostranti un “Gap” tra la massima divergenza intra-specifica (0.02) e la minima divergenza inter-specifica (0.18) (Schimmenti et al., 2016).

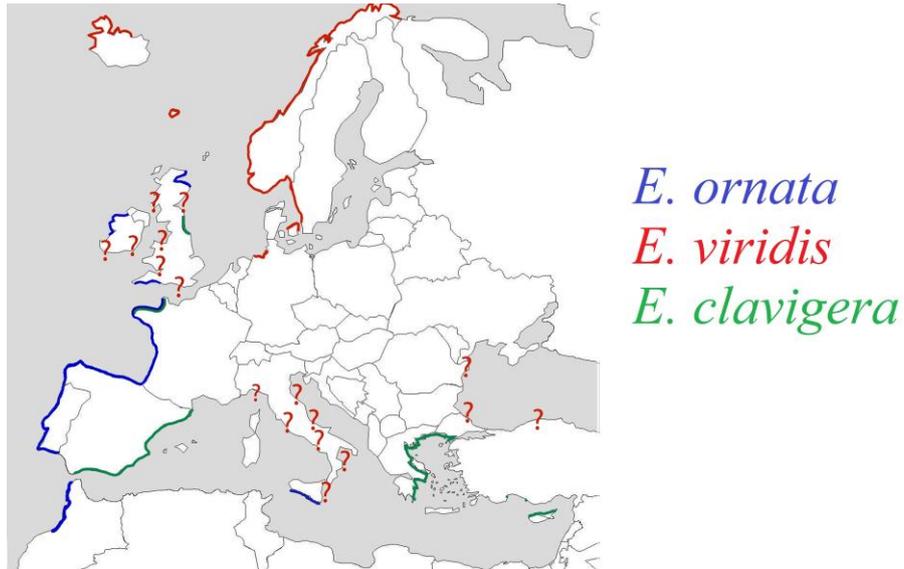


Fig. 79 – Distribuzione specie *Eulalia* in esame a seguito dei risultati della ricerca, (?) segnalazioni considerate dubbie

Il DNA delle sequenze ottenute dalle analisi molecolari, sottomesse in GenBank è stato depositato presso il Museo di Zoologia dell'Università di Palermo (MZPA) insieme ad un frammento dell'esemplare corrispondente (Tab. 15).

Tab. 15 – Campioni di *E. ornata* provenienti da reef siciliani ed Atlantici depositati in MZPA.

Specie	Specimen voucher	accession number	Località campionamento
<i>E. ornata</i>	MZPA-ANN-0025	KT709565	Donnalucata (Mediterraneo centrale)
	MZPA-ANN-0025	KT709566	Canale di Bristol (Oceano Atlantico)
	MZPA-ANN-0025	KT709567	Donnalucata (Mediterraneo centrale)

### 3.10 Descrizione delle Collezioni di Policheti-Anfipodi del Museo di Zoologia “P. Doderlein”

Il *Voucher-code* museale per le specie del genere *Sabellaria* ed *Eulalia* riconosciute mediante analisi morfologiche-molecolari e lo specifico *Accession Number* assegnato alle specie le cui sequenze sono state caricate in Genbank, sono stati dettagliatamente riportate in Tabella 14-15. Per le restanti specie rinvenute nelle formazioni del Canale di Sicilia lo *Specimen voucher* è stato inserito nelle check-list di specie (Tab. 11-12-13).

I codici museali assegnati alle specie già presenti al Museo Doderlein dell’Università degli Studi di Palermo e revisionate durante questo studio, sono stati elencati nella Tabella 16; ad essi è stata assegnata una numerazione progressiva a quella degli esemplari di Policheti dei *reef* siciliani collezionati. La revisione delle collezioni di Policheti esistenti al Museo ha rivelato una collezione composta da un numero esiguo di esemplari. Sono stati rinvenuti 24 campioni distinti tra specie sedentarie ed erranti. Tra essi 4 campioni hanno richiesto una revisione tassonomica a livello di genere mentre due hanno mostrato una errata identificazione a livello di classe di appartenenza. Gli individui appartenenti alla stessa specie sono stati identificati con lo stesso codice museale data la mancanza di informazioni sulla data e località di campionamento.

Tutti gli esemplari attuali sono stati conservati in alcool; cinque di essi sono esposti in vetrine del Museo, i restanti custoditi in tre armadi (n. 13-14-15). Per quasi tutti i campioni mancano informazioni sulla località di provenienza e sulla data di raccolta; in pochi casi vengono riportati: 1968-70 come data di campionamento e Capo Zafferano, Golfo di Palermo e coste di Alcamo (Trapani) come località di campionamento. Tra la collezione in particolare si è registrato un solo campione secco di *Sabellaria alveolata* esposto in una delle vetrine del Museo su un supporto di polistirene. I restanti campioni appartengono a 10 differenti famiglie (Tab. 16).

Agli individui appartenenti alle 23 specie di Anfipodi presenti nei *reef* siciliani e destinati alla collezione museale, sono stati assegnati i codici (MZPA-AMPH-0029/0045) riportati in Tabella 13 con una numerazione progressiva a quella assegnata alle specie già presenti nel database (Tab. 17). L’inventario museale riporta infatti 28 specie provenienti sia dal bacino del Mediterraneo (Stagnone di Marsala-Trapani, Israele, Turchia) che da coste atlantiche (Portogallo, Francia, Canada) e campionate tra il 2015-2016, periodo contemporaneo all’inserimento dei campioni siciliani. Tra essi i codici MZPA-AMPH-0012, 0013, 0014, 0018, 0019, 0020 identificano specie presenti in *reef* di *S. alveolata* delle coste del Portogallo e pertanto utili al confronto con le stesse specie presenti nei *reef* del Canale di Sicilia. Ad eccezione degli esemplari sopra elencati, nel database non sono stati rinvenuti altri anfipodi. La collezione risulta ridotta anche per il gruppo dei Crostacei per i quali

sono stati rinvenuti soltanto 12 campioni di Decapodi a cui tuttavia non viene associato nessun dettaglio di campionamento.

Tab. 16 – Campioni appartenenti al taxon dei Policheti rinvenuti tra le collezioni museali (1968-1970)

Famiglia	Specie	Revisione Nomenclaturale	Voucher-code museale	Note
Aphroditidae	<i>Aphrodita aculeata</i>		MZPA-ANN-0038	5 distinti esemplari
			MZPA-ANN-0039	
Arenicolidae	<i>Arenicola marina</i>		MZPA-ANN-0040	
Chaetopteridae	<i>Chaetopterus variopedatus</i>		MZPA-ANN-0041	
Eunicidae	<i>Eunice aphoditois</i>		MZPA-ANN-0042	
Nephtyidae	<i>Nephtys hombergi</i>		MZPA-ANN-0042	
	<i>Nephtys scolopendroi</i>	<i>Nephtys hombergii</i> Savigny in Lamarck, 1818	MZPA-ANN-0042	
	<i>Hyalinoecia tubicola</i>		MZPA-ANN-0043	
Onuphidae			MZPA-ANN-0044	
Onuphidae	<i>Nothria conchylega</i>		MZPA-ANN-0045	
Sabellariidae	<i>Sabellaria alveolata</i>		MZPA-ANN-0046	
	<i>Branchiomma kollikeri</i>	<i>Acromegalomma lanigerum</i> (Grube, 1846)	MZPA-ANN-0047	2 distinti esemplari
Sabellidae	<i>Sabella spallanzani</i>		MZPA-ANN-0047	
Sabellidae	<i>Spirographis spallanzanii</i>	<i>Sabella spallanzanii</i> (Gmelin, 1791)	MZPA-ANN-0047	
Sabellidae	<i>Galeolevia quadrivalvis</i>	<i>Galeolevia</i> sp.	MZPA-ANN-0048	
Serpulidae	<i>Vermiliopsis infundibulum</i>		MZPA-ANN-0049	
Serpulidae			MZPA-ANN-0050	
Serpulidae	<i>Protula tubularia</i>		MZPA-ANN-0051	
Sternaspidae	<i>Sternaspis scutata</i>		MZPA-ANN-0052	
	<i>Eupolymnia nebulosa</i>		MZPA-ANN-0052	
Terebellidae				2 distinti esemplari
Acanthobdellidea		Phylum Annelida Class Clitellata		

Tab. 17 – Campioni appartenenti al taxon degli Anfipodi rinvenuti tra le collezioni museali (2015-2016)

Famiglia	Specie	Revisione Nomenclaturale	Voucher-code museale	Note	DNA
Hyalidae	<i>Parhyale plumicornis</i>	<i>Ptilohyale plumicornis</i>	MZPA-AMPH-0001	Sicilia	si
Talitridae	<i>Orchestia stephenseni</i>		MZPA-AMPH-0002		si
Talitridae	<i>Orchestia mediterranea</i>		MZPA-AMPH-0003		si
Talitridae	<i>Orchestia montagui</i>		MZPA-AMPH-0004		si
Hyalidae	<i>Parhyale aquilina</i>		MZPA-AMPH-0005		si
Stenothoidae	<i>Stenothoe bella</i>		MZPA-AMPH-0006		
Stenothoidae	<i>Stenothoe levantina</i>		MZPA-AMPH-0007		
Aoridae	<i>Grandidierella bonnieroides</i>		MZPA-AMPH-0008		
Dexaminidae	<i>Dexamine spiniventris</i>		MZPA-AMPH-0009		
Dexaminidae	<i>Guernea coalita</i>		MZPA-AMPH-0010		
Oedicerotidae	<i>Perioculodes aequimanus</i>		MZPA-AMPH-0011		
Stenothoidae	<i>Stenothoe monoculoides</i>		MZPA-AMPH-0012	Portogallo	
Caprellidae	<i>Caprella acanthifera</i>		MZPA-AMPH-0013	Portogallo	
Caprellidae	<i>Caprella dilatata</i>		MZPA-AMPH-0014	Portogallo	
Caprellidae	<i>Caprella santosrosai</i>		MZPA-AMPH-0015		
Microprotopidae	<i>Microprotopus longimanus</i>		MZPA-AMPH-0016		
Ischyroceridae	<i>Ischyrocerus inexpectatus</i>		MZPA-AMPH-0017		
Ischyroceridae	<i>Jassa ocia</i>		MZPA-AMPH-0018		
Photidae	<i>Photis longicaudata</i>		MZPA-AMPH-0019		
Aoridae	<i>Microdeutopus chelifer</i>		MZPA-AMPH-0020		
Ampithoidae	<i>Ampithoe helleri</i>		MZPA-AMPH-0021		
Maeridae	<i>Quadrimaera inaequipes</i>		MZPA-AMPH-0022		
Hyalidae	<i>Hyale stebbingi</i>		MZPA-AMPH-0023		
Hyalidae	<i>Ptilohyale littoralis</i>		MZPA-AMPH-0024		si
Hyalidae	<i>Ptilohyale sp.</i>		MZPA-AMPH-0025		si
Hyalidae	<i>Parhyale plumicornis</i>	<i>Ptilohyale plumicornis</i>	MZPA-AMPH-0026	Verona	si
Maeridae	<i>Maera schieckei</i>		MZPA-AMPH-0027		si
Hyalidae	<i>Parhyale plumicornis</i>		MZPA-AMPH-0028		si

### 3.11 Analisi dei dati: indici di diversità

La struttura della comunità bentonica all'interno dei *reef* e la diversità negli assemblaggi è stata studiata mediante gli indici di diversità.

Le tabelle 18-19-20 riportano i valori degli indici calcolati per le quattro repliche di ogni sito di campionamento e il valore medio degli stessi per sito e per località.

Per semplicità d'interpretazione l'andamento degli indici tra le aree in esame è stato graficizzato (Fig. 80-81-82). Tutti gli indici hanno mostrato valori decrescenti da Triscina ad Eraclea Minoa con valori più elevati nel sito 1 di Triscina e più bassi nel Sito 2 di Eraclea Minoa. Gli indici hanno assunto valori piuttosto simili tra il sito 2 di Triscina e Donnalucata.

In particolare a livello di sito, l'indice di Shannon ( $H'$ ) oscilla intorno ai valori medi di 3,28 ( $\pm 0,12$  DS) e 2,77 ( $\pm 0,68$  DS) rispettivamente per i due siti di Triscina (TR1 e TR2), mentre mostra valori compresi tra 1,52 ( $\pm 0,42$  DS) e 2,12 ( $\pm 0,47$  DS) tra EM2 e EM1. Nei due siti di Donnalucata rispettivamente si registrano valori di 2,85 ( $\pm 0,58$  DS) e 2,71 ( $\pm 0,25$  DS).

I valori più elevati dell'indice di Evenness ( $J'$ ) sono stati registrati rispettivamente nei due siti di Triscina (TR1 0,75  $\pm 0,02$  DS; TR2 0,66  $\pm 0,10$  DS), seguiti da Donnalucata (DL1 0,70  $\pm 0,07$  DS; DL2 0,65  $\pm 0,07$  DS) ed Eraclea Minoa (EM1 0,54  $\pm 0,11$  DS; EM2 0,46  $\pm 0,10$  DS). Stesso andamento si registra per i valori dell'indice di Diversità di Simpson ( $D'$ ), più alti nei due siti di Triscina (TR1 0,85  $\pm 0,01$  DS; TR2 0,71  $\pm 0,12$  DS), seguiti da Donnalucata (DL1 0,78  $\pm 0,08$  DS; DL2 0,75  $\pm 0,05$  DS) ed Eraclea Minoa (EM1 0,61  $\pm 0,17$  DS; EM2 0,47  $\pm 0,14$  DS).

L'analisi parametrica mediante l'uso della statistica del t di Student non ha mostrato differenze significative tra gli indici analizzati a livello di sito. L'unica eccezione è stata riscontrata per l'indice di diversità di Simpson che ha valutato il confronto tra le i due siti di Triscina ( $t(D')_7=1,89$ ;  $p \leq 0,05$ ). A livello di località, l'analisi mediante t-test non ha riscontrato differenze significative per nessuno degli indici analizzati.

Tab. 18 – Valori degli indici di struttura misurati per la località di Triscina (TR)

Indici	Repliche				Sito	Dev. St	Repliche				Sito	Dev. St	Loc	Dev. st
	TR1 R1	TR1 R2	TR1 R3	TR1 R4			TR1	TR2 R1	TR2 R2	TR2 R3				
$H'$	3,2085	3,4140	3,1823	3,3501	3,2887	0,1113	2,0876	3,7061	2,5702	2,7200	2,7710	0,6792	3,0298	0,5288
$H_{max}$	4,2479	4,3219	4,3219	4,6438	4,3839	0,1767	3,9068	4,7004	4,0874	3,8073	4,1255	0,4004	4,2547	0,3180
$J'$	0,7553	0,7899	0,7363	0,7214	0,7507	0,0295	0,5343	0,7884	0,6288	0,7144	0,6665	0,1096	0,7086	0,0869
$D'$	0,8461	0,8754	0,8393	0,8641	0,8563	0,0165	0,5694	0,8806	0,6712	0,7235	0,7112	0,1298	0,7837	0,1155

Tab. 19 – Valori degli indici di struttura misurati per la località di Eraclea Minoa (EM)

Indici	Repliche				Sito	Dev. St	Repliche				Sito	Dev. St	Loc	Dev. st
	EM1 R1	EM1 R2	EM1 R3	EM1 R4			EM1	EM2 R1	EM2 R2	EM2 R3				
H'	1,5447	2,6863	2,2468	2,0158	2,1234	0,4756	1,76101	1,1928	1,9998	1,1472	1,5252	0,4219	1,8243	0,5248
Hmax	3,9068	4	4,0874	3,7004	3,9236	0,1661	3,4594	2,8073	3,4594	3,3219	3,2620	0,3099	3,5928	0,4220
J'	0,3953	0,6715	0,5496	0,5447	0,5403	0,1130	0,5090	0,4248	0,5780	0,3453	0,4643	0,1010	0,5023	0,1072
D'	0,3819	0,7777	0,7020	0,5959	0,6144	0,1719	0,5373	0,3862	0,6459	0,3201	0,4724	0,1471	0,5434	0,1664

Tab. 20 – Valori degli indici di struttura misurati per la località di Donnalucata (DL)

Indici	Repliche				Sito	Dev. St	Repliche				Sito	Dev. St	Loc	Dev. st
	DL1 R1	DL1 R2	DL1 R3	DL1 R4			DL1	DL2 R1	DL2 R2	DL2 R3				
H'	3,3719	2,9027	3,1232	2,0222	2,8550	0,5873	2,7284	2,4808	3,0559	2,5803	2,7113	0,2512	2,7832	0,4252
Hmax	4,8579	3,8073	4,0874	3,3219	4,0186	0,6427	4,3923	4,2479	4	4,0874	4,1819	0,1738	4,1003	0,4445
J'	0,6941	0,7624	0,7641	0,6087	0,7073	0,0733	0,6211	0,5840	0,7639	0,6312	0,6501	0,0785	0,6787	0,0767
D'	0,8302	0,7801	0,8497	0,6668	0,7817	0,0820	0,7304	0,7131	0,8282	0,7380	0,7524	0,0515	0,7671	0,0653

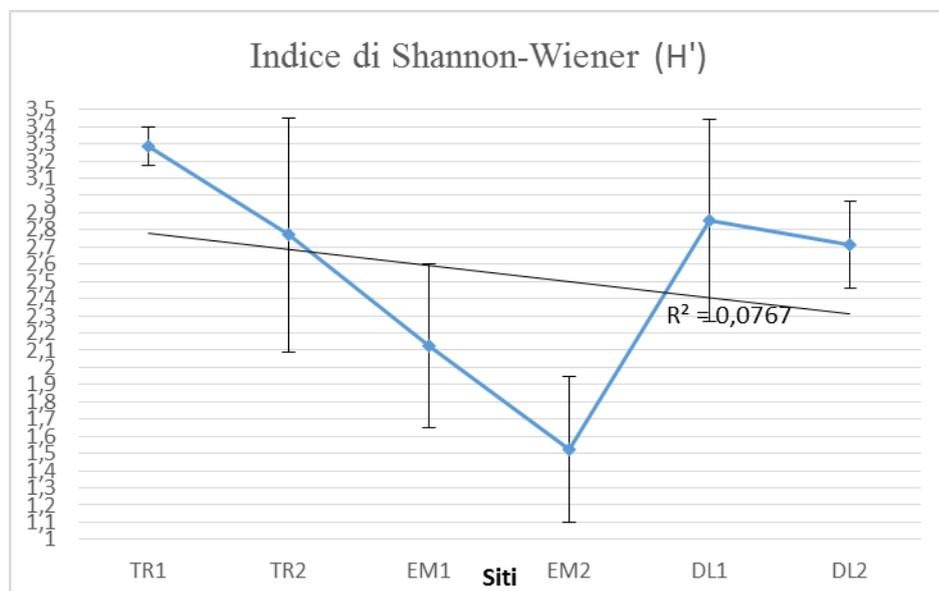


Fig. 80 – Andamento indice di Shannon (H') tra i siti delle tre località siciliane

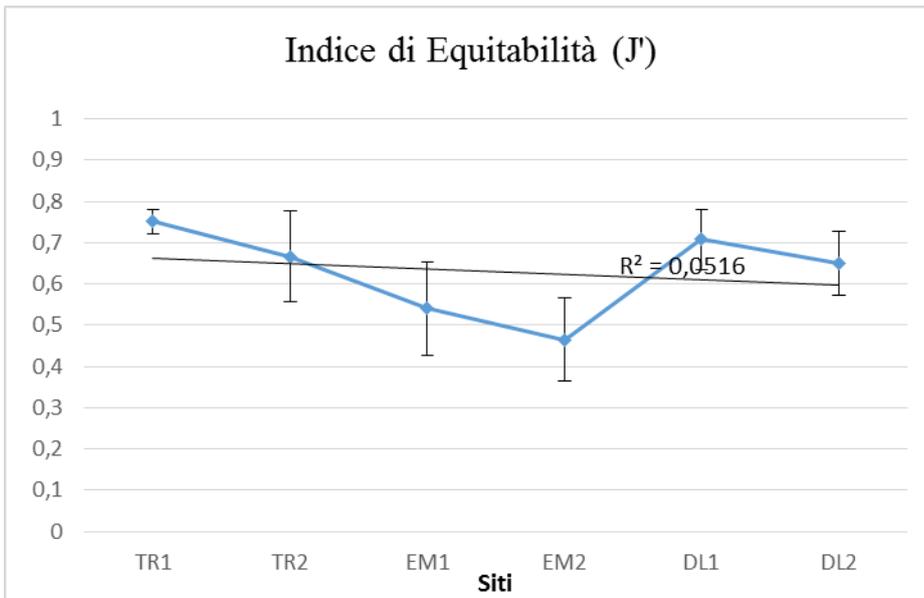


Fig. 81 – Andamento indice di Equitabilità (J') tra i siti delle tre località siciliane

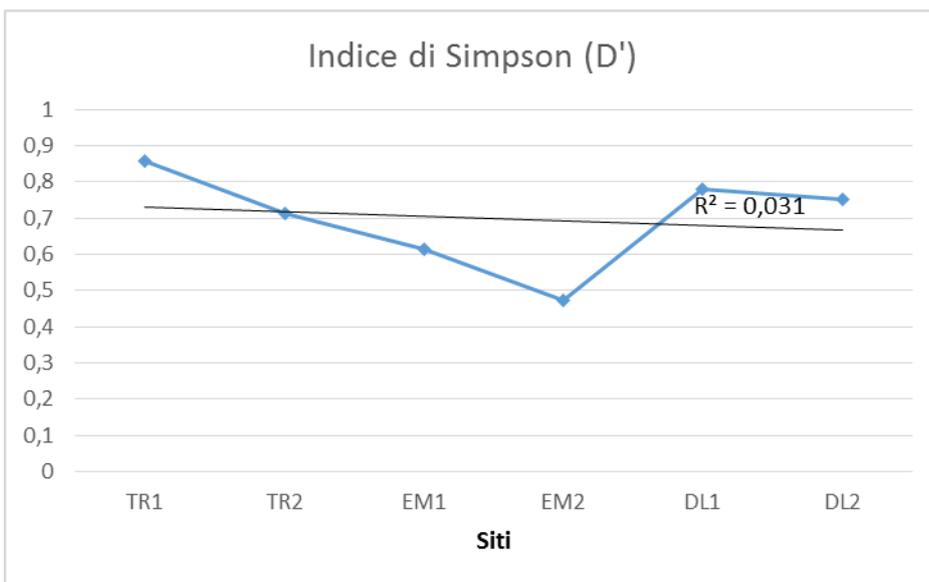


Fig. 82 – Andamento indice di Shannon (H') tra i siti delle tre località siciliane

### 3.12 Confronto habitat delle tre località: Analisi statistiche multivariate

La *Cluster Analysis* (Fig. 83) su matrici di abbondanza ha permesso di identificare la presenza di due raggruppamenti separati ad un livello di similarità poco più del 40%. Nel primo raggruppamento sono state inserite sette delle otto repliche campionate in entrambi i siti di Donnalucata, mentre nel secondo raggruppamento sono state osservate un'unica replica di Donnalucata (DL1-R2) e tutte le repliche di Triscina ed Eraclea Minoa. Considerando un livello di similarità maggiore, l'analisi ha evidenziato *clusters* più ristretti all'interno dei siti studiati che tuttavia non hanno permesso di individuare suddivisioni nette l'interno delle località in esame. Unica eccezione potrebbe essere descritta dall'assemblaggio presente tra le quattro repliche del sito 1 di Triscina con una similarità pari al 50% circa come si evince dal grafico. Similarità superiore all'80% si registra tra due repliche del sito 2 di Eraclea Minoa (EM2-R1, EM2-R2) (Fig. 83). La *Cluster analysis* su matrici di presenza/assenza ad un livello di similarità di poco superiore al 40% ha mostrato tre raggruppamenti (Fig. 84) che tuttavia non hanno permesso di classificare siti o località utili allo studio. Unica eccezione è il *cluster* identificato ad un livello di similarità pari poco più al 50% per il sito 2 di Triscina.

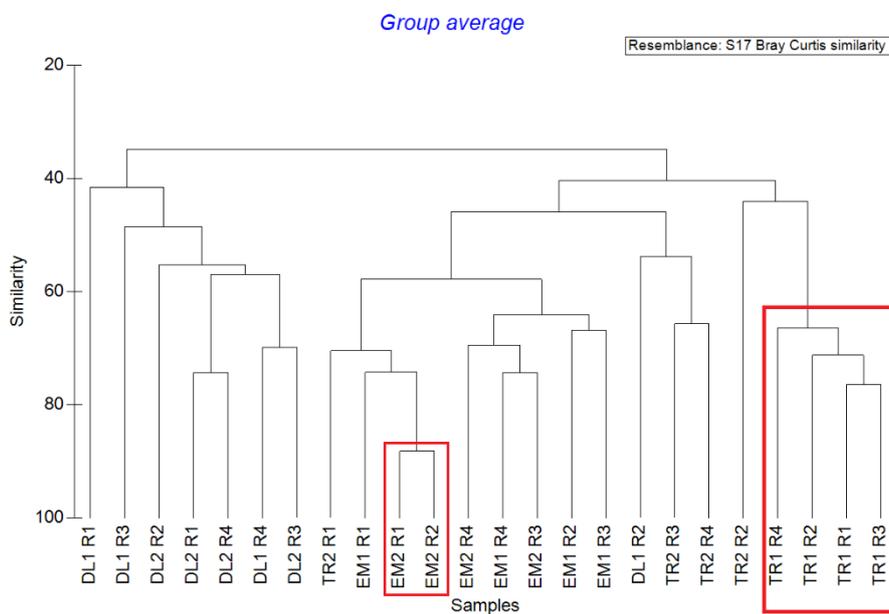


Fig. 83 – *Cluster analysis* condotta tra le tre località della costa siciliana su matrici di abbondanza; dettaglio cluster sito 1 di Triscina (riquadro rosso).

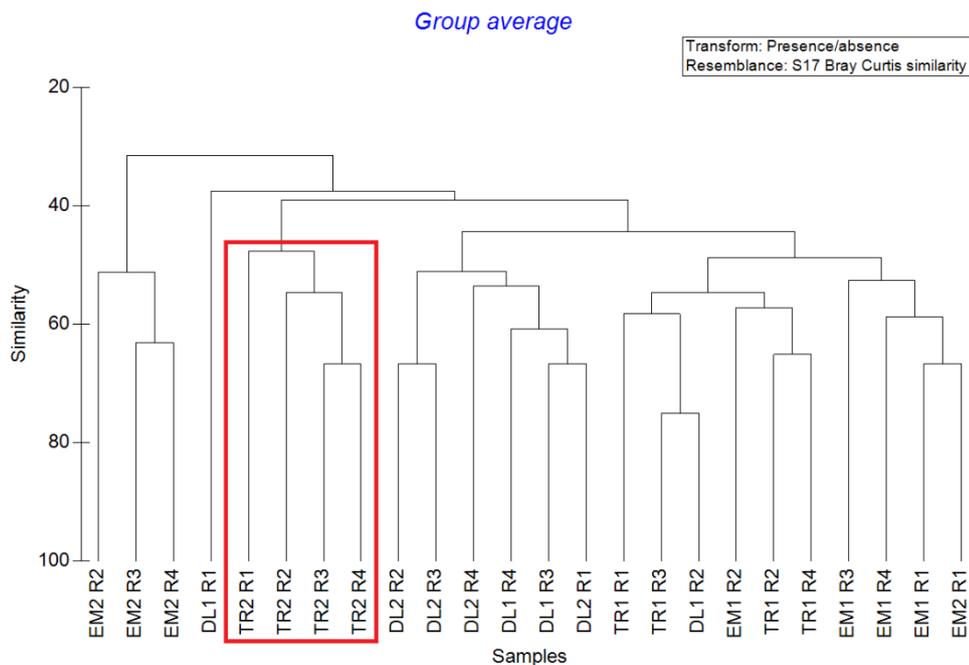


Fig. 84 – *Cluster analysis* condotta tra le tre località della costa siciliana su matrici di presenza-assenza; dettaglio cluster sito 2 di Triscina (riquadro rosso).

L'ordinamento mediante l'nMDS in nessuna delle due analisi tuttavia ha mostrato una netta separazione tra i punti-campioni all'interno delle località in esame. Nelle Figure 85-86 vengono riportati i risultati ottenuti e graficizzati con una stima di distorsione (stress) compresa nel range (0,10-0,19) considerata utile all'interpretabilità dei dati. Unico gruppo separato da un punto di vista faunistico per i dati di abbondanza appare il sito 1 di Triscina (Fig. 85) mentre sulla base dei dati presenza/assenza delle specie, unico raggruppamento è stato riscontrato nel sito 2 di Triscina (Fig. 86). L'analisi nMDS ha dato pertanto risultati comparabili con la *Cluster Analysis* per entrambe le matrici utilizzate (Fig. 87-88).

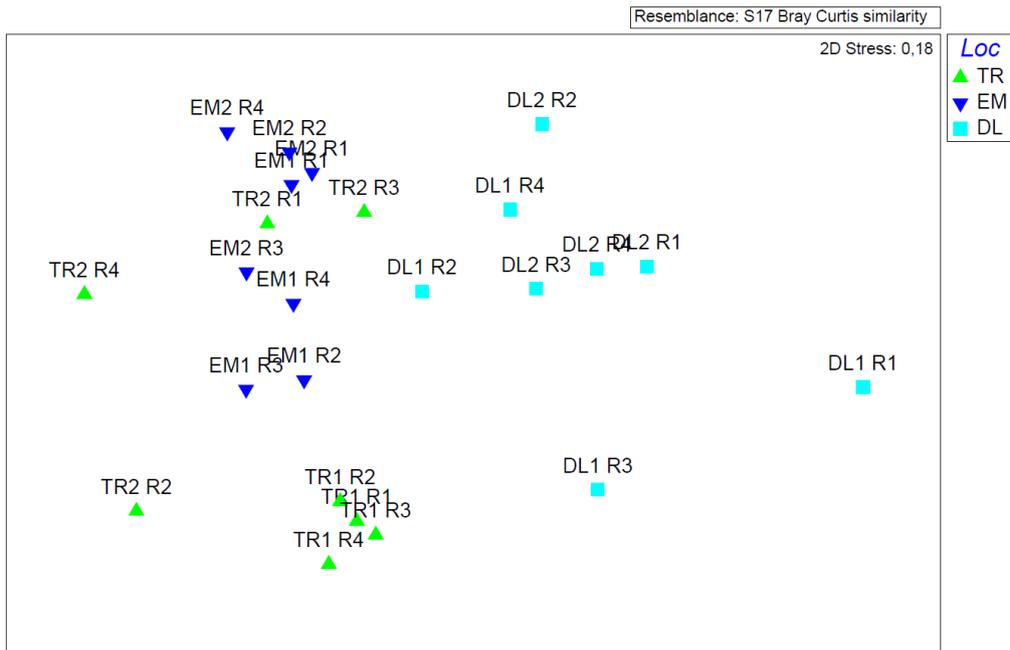


Fig. 85 – nMDS - *non-metric Multi-Dimensional Scaling* ottenuto tramite indice di Bray-Curtis calcolato sui dati di abbondanza. Le tre località campionate sono rappresentate con simboli diversi, riportanti etichetta con sigla replica.

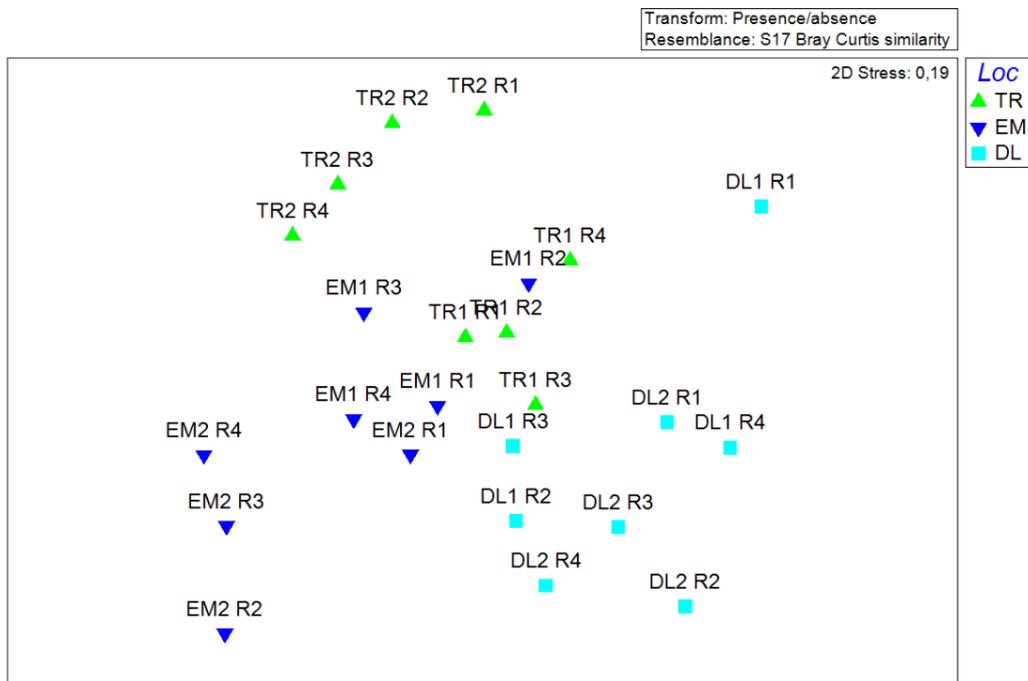


Fig. 86 – nMDS - *non-metric Multi-Dimensional Scaling* ottenuto tramite indice di Bray-Curtis calcolato su matrice presenza/assenza specie. Per ogni simbolo viene riportata la replica della località campionata.

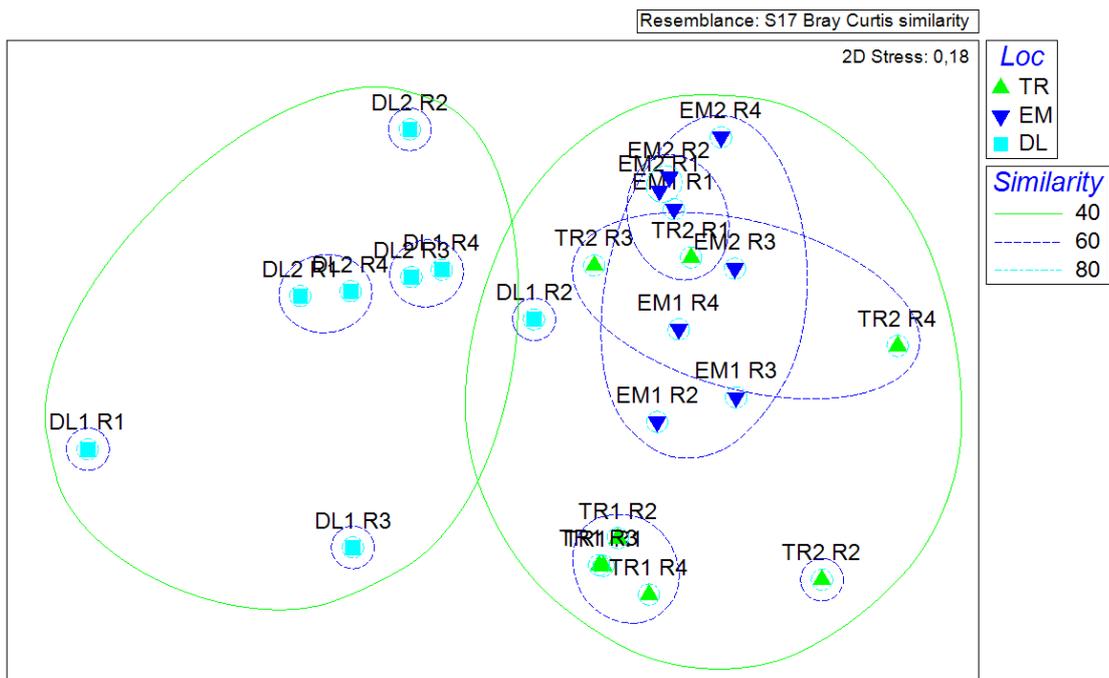


Fig. 87 – Comparazione raggruppamenti ottenuti mediante *Cluster analysis* e nMDS su matrici di abbondanza.

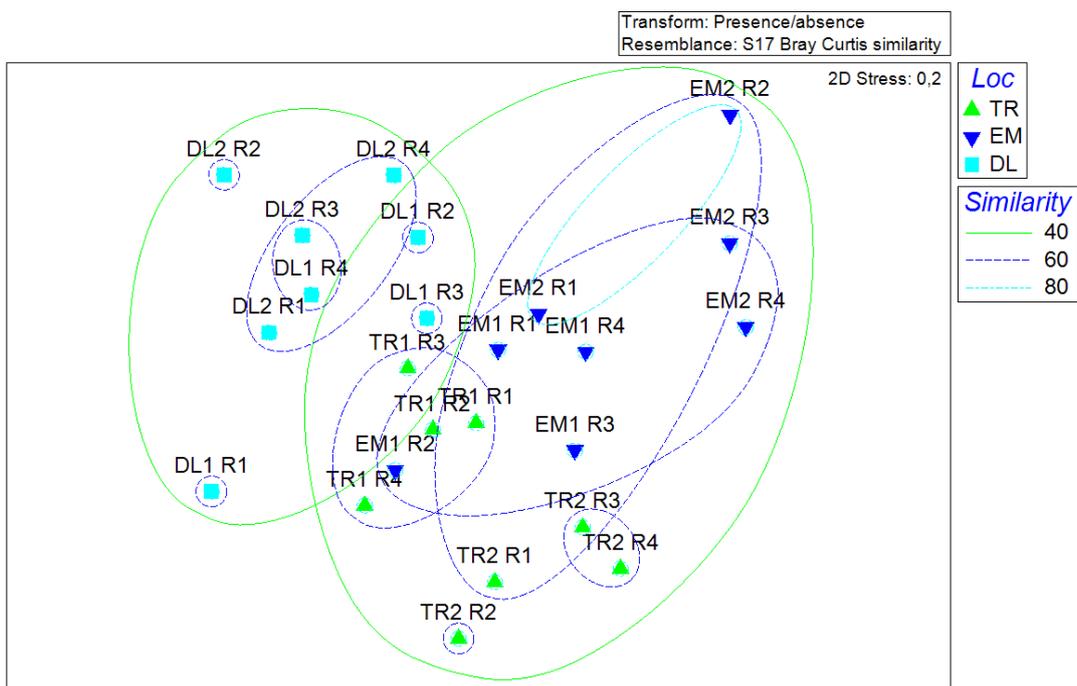


Fig. 88 – Comparazione raggruppamenti ottenuti mediante *Cluster analysis* e nMDS su matrici di presenza/assenza.

Le Figure 89-90 riportano la distribuzione simulata della statistica R mediante test ANOSIM sotto l'ipotesi nulla di nessuna differenza tra i siti e località di campionamento.

Il Test ANOSIM ha permesso di visualizzare la distribuzione delle frequenze attese di R (istogramma) a confronto con il valore di R osservato (linea continua alla destra del grafico) fra le repliche campionate tra siti e località.

In entrambe le analisi differenze significative sono state riscontrate a livello di sito e località. L'ipotesi nulla è stata respinta poichè R osservato ricade al di fuori della distribuzione delle R simulate (Tab. 21): le località in esame appaiono ben separate ( $R=0,741$ ;  $p<0,001$ ), i siti moderatamente separati ( $R=0,49$ ;  $p<0,002$ ).

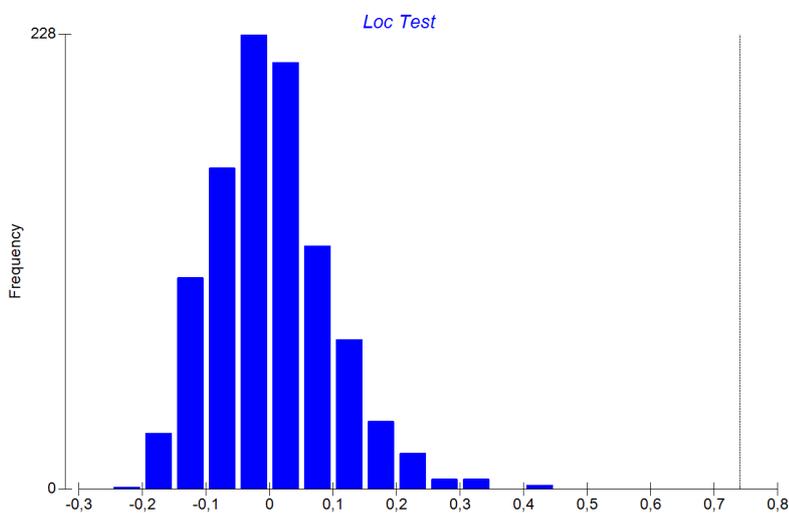


Fig. 89 – Rappresentazione grafica del test ANOSIM in base al fattore Località

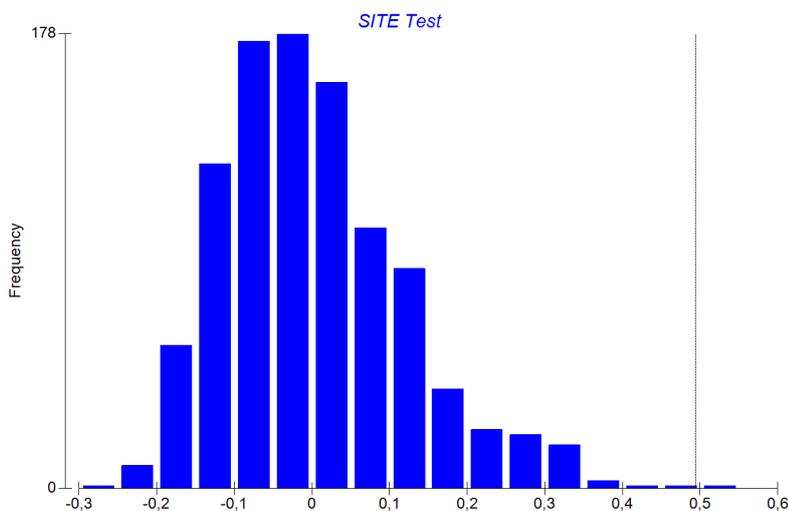


Fig. 90 – Rappresentazione grafica del test ANOSIM in base al fattore Sito

Tab. 21 – Valore di R e stima della significatività calcolata con il test ANOSIM per valutazione differenze significativa assemblaggi a livello di località e sito (PRIMER-E v.6).

TESTS FOR DIFFERENCES BETWEEN LOC GROUPS	TESTS FOR DIFFERENCES BETWEEN SITE GROUPS
Global Test	Global Test
Sample statistic (Global R): 0,741	Sample statistic (Global R): 0,495
Significance level of sample statistic: 0,1%	Significance level of sample statistic: 0,2%

L'analisi multivariata permutazionale della varianza (PERMANOVA) sulla struttura degli assemblaggi di specie presenti nei reef (ad esclusione di *S. alveolata*), svolta sulla base di matrici di abbondanza o presenza/assenza, ha mostrato una variazione significativa ad ogni scala esaminata (Tab. 22-23).

Tab. 22 – Risultati della PERMANOVA mostranti variazioni assemblaggi specie su matrici di abbondanza. g.d.l., gradi di libertà; SS, devianza; MS, varianza; P(perm) valore calcolato.

Sorgente variazione	g.d.l.	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
<b>Abbondanza</b>						
Località	2	15486	7742,9	2,9001	0,015*	998
Sito(Loc)	3	8009,6	2669,9	3,0197	0,003**	997
Residuo	18	15914	884,14			

Tab. 23 – Risultati della PERMANOVA mostranti variazioni assemblaggi specie su matrici di abbondanza. g.d.l., gradi di libertà; SS, devianza; MS, varianza; P(perm) valore calcolato. \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001.

Sorgente variazione	g.d.l.	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
<b>Presenza/Assenza</b>						
Località	2	11912	5956	2,4567	0,013**	998
Sito(Loc)	3	7273	2424,3	2,0651	0,001***	999
Residuo	18	21131	1174			

L'analisi SIMPER ha permesso di quantificare l'abbondanza media delle specie (Av.Abund) all'interno di ogni località e di determinare il loro contributo medio alla similarità tra gli assemblaggi. Il Fillodocide *E. ornata* è stata l'unica specie a contribuire alla similarità dell'assemblaggio di Eraclea Minoa (Av.Abund 85,88%); la similarità dell'assemblaggio di Triscina è stata definita da *E. ornata* (Av.Abund 37,25%), dall'Anfipode *Gammaropsis ulrici* (Av.Abund 27,88%) e dal Sillide *Syllis armillaris* (Av.Abund 14,63%), mentre quella di Donnalucata da *E. ornata* (Av.Abund 47,88%), dal Sillide *Syllis pulvinata* (Av. Abund DL 50,50%) e dall'Anfipode *Jassa ocia* (Av. Abund 11,00%).

L'analisi ha inoltre permesso di valutare il contributo, espresso in %, delle specie responsabili della diversità tra assemblaggi, calcolando il grado di dissimilarità tra coppie di località.

In particolare come mostrato nelle Tabelle 24-25-26 sono state identificate 10 specie che forniscono oltre il 75% della totale dissimilarità tra le tre località in esame. Quest'ultime sono state riportate in tabella in ordine decrescente sulla base del contributo fornito per la discriminazione degli assemblaggi. Triscina si differenzia da Donnalucata con una dissimilarità del 65,54% grazie alla presenza di 9 specie mentre con valori di dissimilarità pari a 56,09% si distingue da Eraclea Minoa per la presenza di 6 specie. Eraclea Minoa appare distinta da Donnalucata per la presenza di 7 specie con un grado di dissimilarità del 63,38%.

In generale, la diversità tra assemblaggi delle tre località sembra essere principalmente causata da differenze nella abbondanza delle specie. Tra le specie che hanno contribuito a differenziare tutti gli assemblaggi esaminati il Fillodocide *Eulalia ornata* e gli Anfipodi *Jassa oia* e *Gammaropsis ulrici*, sono state condivise tra tutte le località seppure con abbondanza diversa. Il Fillodocide *E. ornata* in particolare è stata registrata in tutte le località come specie più abbondante.

Tab. 24 – Confronto a coppie tra le località Triscina-Eraclea Minoa; in dettaglio il contributo in percentuale delle specie alla dissimilarità fra assemblaggi (PRIMER-E v.6).

Group TR & EM						
Average dissimilarity:	Group TR	Group EM				
56,09						
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Dim/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Eulalia ornata</i>	37,25	85,88	17,66	1,81	31,47	31,47
<i>Gammaropsis ulrici</i>	27,88	16,00	8,31	1,37	14,82	46,30
<i>Jassa oia</i>	11,25	18,00	5,52	1,25	9,84	56,13
<i>Syllis armillaris</i>	14,63	1,50	4,55	1,20	8,10	64,24
<i>S. spinulosa</i>	11,63	1,63	3,73	0,91	6,64	70,88
<i>Syllis gracilis</i>	2,50	9,50	3,33	0,99	5,95	76,82

Tab. 25 – Confronto a coppie tra le località Triscina-Donnalucata; in dettaglio il contributo in percentuale delle specie alla dissimilarità fra assemblaggi (PRIMER-E v.6).

Group TR & DL						
Average dissimilarity:	Group TR	Group DL				
65.54						
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Dim/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Syllis pulvinata</i>	3,25	50,50	14,89	1,61	22,72	22,72
<i>Gammaropsis ulrici</i>	27,88	1,13	8,18	1,37	12,49	35,21
<i>Eulalia ornata</i>	37,25	47,88	7,74	1,25	11,80	47,01
<i>Jassa ocia</i>	11,25	11,00	4,20	1,17	6,41	53,43
<i>Syllis armillaris</i>	14,63	7,63	3,96	1,43	6,04	59,46
<i>S. spinulosa</i>	11,63	5,25	3,82	1,01	5,83	65,29
<i>Bramia arminii</i>	0,25	9,88	3,07	1,02	4,69	69,98
<i>Nereis splendida</i>	0,38	9,38	2,94	0,69	4,49	74,47
<i>Caprella rapax</i>	0,75	3,75	1,35	0,59	2,05	76,52

Tab. 26 – Confronto a coppie tra le località Donnalucata-Eraclea Minoa; in dettaglio il contributo in percentuale delle specie alla dissimilarità fra assemblaggi (PRIMER-E v.6).

Group EM & DL						
Average dissimilarity:	Group EM	Group DL				
65.38						
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Dim/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Syllis pulvinata</i>	0,75	50,50	15,22	1,74	24,20	24,20
<i>Eulalia ornata</i>	85,88	47,88	14,62	1,58	23,24	47,44
<i>Jassa ocia</i>	18,00	11,00	4,87	1,11	7,74	55,18
<i>Gammaropsis ulrici</i>	16,00	1,13	4,46	0,96	7,08	62,27
<i>Syllis gracilis</i>	9,50	0,38	3,18	1,07	5,05	67,31
<i>Bramia arminii</i>	0,00	9,88	3,04	1,04	4,83	72,15
<i>Nereis splendida</i>	0,88	9,38	2,76	0,67	4,39	76,54

#### 4. DISCUSSIONE

Lo studio dei *reef* edificati dal polichete *Sabellaria alveolata* Linneo, 1767, presenti nel Canale di Sicilia (Mediterraneo centrale), ha rappresentato un importante contributo alla conoscenza dei sabellarieti del Mediterraneo per l'originalità della segnalazione, unico *record* in quest'area del bacino, se si esclude il ritrovamento di Molinier & Picard presso le spiagge di San Leone (Agrigento) nel 1953, a cui non è stato associato nessuno studio di carattere faunistico o ecologico.

Anche se i risultati ottenuti possono essere applicati esclusivamente al momento specifico in cui è stata condotta tale ricerca per la mancanza di repliche temporali di campionamento, essi si considerano un punto di riferimento per le future analisi su tali habitat. I suddetti studi costituiscono infatti un punto di partenza per l'analisi della struttura interna alle formazioni, soprattutto in termini di composizione della macrofauna associata, di modelli di distribuzione e di risposte morfologiche/fisiologiche alle condizioni ambientali che influenzano lo sviluppo dei *reef*. Come tali potranno essere utilizzati come fonte di confronto per studi spaziali-temporali futuri.

Analizzando la struttura delle biocostruzioni, caratterizzando la comunità bentonica e segnalando nuovi *record* per il bacino del Mediterraneo, lo studio ha valorizzato la peculiarità di questo habitat in una area di grande rilievo ecologico ed oceanografico, quale è il Canale di Sicilia la cui peculiare posizione geografica sembra influenzare la struttura dei *reef*.

La ricerca ha inoltre sottolineato il ruolo che tale habitat svolge nell'offrire dei benefici all'ecosistema in cui si trova offrendo riparo e cibo ad una diversificata fauna associata. Tale ruolo rende queste formazioni habitat peculiari da tutelare con piani di protezione.

##### Genere *Sabellaria*

Conoscere e classificare le biocostruzioni è una necessità indispensabile per il loro studio, inteso in termini di complessità strutturale, processi di formazione, di sviluppo e di protezione. Tuttavia è di primaria importanza prestare attenzione anche agli organismi biocostruttori che con le loro strategie vitali, il loro ciclo riproduttivo, i loro caratteri morfologici e il tipo di interazione istaurato con altre specie all'interno delle biocostruzioni, possono essere definiti gli agenti responsabili della struttura delle formazioni stesse (Bianchi, 2001). L'identificazione tassonomica assume pertanto un ruolo particolarmente importante in studi di biodiversità. In particolare, nei sistemi di classificazione biologica, ancor prima di studiare e stabilire relazioni tra le specie, è necessario identificare ogni organismo, avendo a disposizione un numero sufficiente di caratteristiche peculiari dell'individuo,

in modo da poter comparare gli altri organismi che sono simili o dissimili a livello di specie o almeno di genere (Pappas, 2006).

Il primo obiettivo raggiunto da tale ricerca è stato proprio quello di fornire un quadro il più possibile completo sulle caratteristiche morfologiche e funzionali delle specie appartenenti al genere *Sabellaria* presenti nelle formazioni siciliane. Lo studio ha confermato l'importanza dei metodi di identificazione morfologica tradizionali (chiavi analitiche) come base di ogni studio faunistico, ma al contempo ha sottolineato la crescente importanza di tecniche di analisi più innovative quali analisi di microscopia elettronica (SEM), microtomografia (Micro-ct) ed analisi molecolari (DNA *Barcoding*) nel correggere errori o approfondire descrizioni presenti nelle chiavi analitiche e nell'apportare vantaggi in termini di facilità di acquisizione dati e oggettività dei risultati.

L'uso di un approccio integrato ha confermato la co-presenza nei *reef* delle specie *S. alveolata*, dominante in tutte le repliche campionate, e *S. spinulosa*, presente con abbondanza minore in tutte le tre località esaminate. Il confronto morfologico ha permesso di ipotizzare la diversità dei ruoli funzionali e comportamentali delle due specie all'interno delle biocostruzioni.

In dettaglio le iniziali analisi tassonomiche classiche hanno favorito la discriminazione delle specie sulla base dell'osservazione dei caratteri opercolari, con particolare riferimento alla forma della fila di pale esterne: in *S. alveolata* esse mostravano un margine ricurvo verso lato sinistro, in *S. spinulosa* invece 2-4 denti allungati al centro a formare lunghe strutture piumose.

Le osservazioni al microscopio hanno inoltre permesso di confrontare la struttura dell'organo mediano apparso più sviluppato in *S. alveolata* rispetto che in *S. spinulosa*. È probabile che il maggiore sviluppo di tale organo nella specie dominante possa indicare il ruolo svolto da *S. alveolata* nella regolazione del ciclo di sviluppo dell'intera formazione. Come specie biocostruttrice essa è infatti responsabile delle fasi di crescita del *reef*. L'organo mediano, secondo quanto riportato in testi bibliografici, sembra mostrare una diversità di forme e dimensioni specie specifiche, apparendo particolarmente sviluppato in specie solitarie e meno esteso in specie gregarie (Faroni-Perez et al., 2016). Nelle specie solitarie esso sembra essere coinvolto in processi riproduttivi come la mediazione della gametogenesi o la deposizione delle uova mentre negli adulti di molte specie gregarie come nel genere *Sabellaria* sembra svolgere insieme ai palpi un importante ruolo sensoriale (Kirtley, 1994; Lechapt & Kirtley, 1996; Nishi & Núñez, 1999). In particolare è noto che esso possa svolgere la funzione di chemiorecettore nel favorire l'insediamento larvale mantenendo le larve in prossimità di specifiche zone di insediamento (Browne & Zimmer, 2001). Il trasporto delle larve nei luoghi di insediamento può essere il risultato pertanto non solo dei processi

idrodinamici, della migrazione verticale della colonna d'acqua all'interno del tubo ma anche della risposta larvale a segnali chimici (Faroni-Perez et al., 2016).

Le analisi morfologiche hanno infine permesso di confrontare la struttura delle branchie apparse per entrambe le specie con un aspetto falciforme. Molto più estese in *S. alveolata* che in *S. spinulosa* in accordo con le complessive maggiori dimensioni della specie biocostruttrice, esse sembrano svolgere un duplice ruolo: consentire un efficace assorbimento di ossigeno dall'acqua grazie ai vasi capillari posseduti e regolare mediante il loro movimento il flusso di acqua all'interno del tubo dal quale le specie sospensivore traggono le sostanze nutritive (fitoplacton).

Le successive immagini al SEM hanno permesso di ottenere dettagli vantaggiosi nella descrizione morfologica delle due specie coesistenti nel reef. In particolare esse hanno favorito l'osservazione di un'ulteriore carattere tassonomico, che potrebbe rafforzare la validità delle due specie. Si tratta della forma delle chete, considerate parapodi modificati presenti nei segmenti paratoracici. Differenze sono state riscontrate sia nel numero che nella forma delle notochete (chete dorsali) e delle neurochete (chete ventrali). Lanceolate in *S. alveolata*, le notochete hanno mostrato un aspetto rotondeggiante in *S. spinulosa*. Tali forme sono state mantenute anche nelle neurochete apparse tuttavia di più piccole dimensioni.

Sebbene non si conosca la loro specifica funzione, si suggerisce il loro uso come nuovo carattere diagnostico distintivo da utilizzare soprattutto in casi di dubbia delimitazione delle specie. La forma delle chete (ad uncino, lombate, a falce, pettinate, capillari), è riconosciuta tra i Policheti come carattere morfologico importante nell'identificazione delle specie, tuttavia la sua importanza appare ancora sottovalutata poiché richiede accurate osservazioni al microscopio (Fauchald, 1977). Il maggior sviluppo delle chete paratoraciche in *S. alveolata* rispetto che in *S. spinulosa* potrebbe rispecchiare un adattamento della specie alle maggiori esigenze energetiche durante la costruzione del tubo.

Esse infatti riescono a garantire la posizione verticale del Polichete all'interno del tubo favorendo l'ancoraggio alla parete. Inoltre mantenendo uno spazio tra l'animale e le pareti del tubo, esse permettono lo spostamento dell'individuo al suo interno (Pearce et al., 2011).

Le chete paratoraciche infine in quanto parapodi modificati, insieme alle branchie e ai parapodi presenti nella restante parte del corpo degli individui, aumentano con la loro superficie l'area respiratoria (Tilic et al., 2014).

Le immagini al SEM hanno inoltre permesso la descrizione morfologica e il riconoscimento degli individui di piccole dimensioni e di dubbia identificazione e favorito la risoluzione di ambiguità

tassonomiche sulla distribuzione delle specie di *Sabellaria* spp. nel bacino del Mediterraneo. L'integrazione con microtomografia (fase esplorativa) e microscopio elettronico a scansione (fase di morfologia analitica ad alta risoluzione) ha permesso di ottenere immagini riepilogative della morfologia delle due specie coesistenti nei reef (*S. alveolata* e *S. spinulosa*) e mostrato dettagli diagnostici in *S. cf. alcocki* non osservati al microscopio ottico per via della piccola taglia degli individui. Il riconoscimento delle specie rinvenute nei reef aveva infatti destato inizialmente qualche dubbio in individui di dimensioni inferiori ai 4-5 mm, classificati, in un primo momento, come *Sabellaria cf. alcocki*. *Sabellaria alcocki* Gravier, 1906 è una delle tre specie, insieme a *S. alveolata* e *S. spinulosa*, riportata fino ad oggi nel Mediterraneo anche se, come confermato da studi precedenti, dalla distribuzione incerta all'interno del bacino. La specie descritta come indo-pacifica (Gravier, 1906; Day, 1967), sebbene non riportata nel Mediterraneo da Coll et al. (2010), è ancora presente in lavori faunistici del Mar Tirreno centrale, delle coste atlantiche della Spagna, del Mediterraneo orientale, talvolta, riportata anche come varietà di *S. spinulosa*. Essa è inoltre considerata morfologicamente simile alla congenerica *S. spinulosa*, al punto da indurre errori di identificazione che possono essere attribuiti alla variabilità morfologica intraspecifica di caratteri tassonomici presenti nell'opercolo. *Sabellaria spinulosa* durante lo sviluppo, mostra infatti una notevole variazione nella morfologia opercolare, da far apparire i giovani della specie somiglianti a *S. alcocki* (Lezzi et al., 2015).

In particolare, il SEM, oltre a favorire la visualizzazione della forma delle pale in tutte le specie in esame (*S. alveolata*, *S. spinulosa* e *S. cf. alcocki*), ha permesso di osservare il numero di dentelli che caratterizzava le pale esterne in *S. spinulosa* e *S. cf. alcocki*. Il numero dei dentelli presenti ad ogni lato della pala può essere considerato uno dei caratteri utili alla distinzione tra *S. spinulosa* e *S. alcocki*, insieme alla presenza/assenza delle spine nicali sottoepidermiche come descritto da Kirtley, 1994 e Lezzi et al., 2015. Gli individui di *S. spinulosa* così come gli individui di *S. cf. alcocki* hanno mostrato pale con 5-12 dentelli ogni lato della piuma distale.

Inoltre gli stessi individui osservati al Micro-ct hanno mostrato la presenza di 4 spine nicali sottoepidermiche.

Tali caratteri hanno permesso di identificare gli individui di *S. cf. alcocki* come ascrivibile a *S. spinulosa* e di escludere la presenza nei reef della specie congenerica *S. alcocki*, che avrebbe dovuto mostrare piume distali dai 18-20 dentelli e assenza di spine nicali (Kirtley, 1994; Lezzi et al., 2015).

L'identificazione morfologica è stata supportata infine dall'analisi molecolare che ha permesso una chiara delimitazione delle specie. I risultati molecolari ottenuti dal sequenziamento di un frammento

del gene mitocondriale COI nelle specie *S. alveolata*, *S. spinulosa* e *S. cf alcocki*, hanno permesso di distinguere le specie in due cladi sostenuti da nodi robusti. Il clade di *S. alveolata* costituito da esemplari raccolti nei *reef* del Canale di Sicilia è apparso chiaramente distinto dal clade costituito da individui di *S. spinulosa* provenienti dal Mar Mediterraneo e da un individuo proveniente dall'Atlantico orientale (Genbank AN KF808174), mostrandone una discreta differenziazione genetica dagli aplotipi mediterranei per probabile isolamento geografico.

Tali risultati molecolari hanno pertanto permesso di identificare individui inizialmente indicati con il nome di *S. cf. alcocki*, come ascrivibili a *S. spinulosa* come si evince dai valori di distanza genetica schematizzati nell'albero NJ; di rafforzare l'ipotesi secondo la quale i *record* di *S. alcocki* nel Mediterraneo probabilmente derivano da errori di identificazione con giovani di *S. spinulosa*, e di confermare l'ipotesi secondo cui *S. alcocki* non è presente nel bacino del Mediterraneo (Lezzi et al., 2015). Le sequenze ottenute dal sequenziamento del gene nucleare 28S e sottomesse in Genbank costituiscono il primo dato molecolare al riguardo per le specie del genere presenti nel Mediterraneo, utile riferimento per futuri studi, data la nota utilità di tale marcatore nella ricostruzione di relazioni filogenetiche tra taxa di rango sopraspecifico.

Infine ulteriori descrizioni anatomiche interne sulle due specie coesistenti nel *reef* sono state fornite dalle analisi al Micro-ct, con immagini riepilogative sulla presenza di cuticola, sistema muscolare e strutture interne (l'organo costruttore, bocca, apparato digerente e sacchi chitinosi) non visibili con i precedenti metodi di studio.

La presenza di una cuticola che copre l'epidermide può essere correlata, così come in molti gruppi di Anellidi, a diverse funzioni, come la difesa contro lesioni meccaniche e agenti patogeni, l'agglutinazione delle particelle alimentari e lo scambio gassoso (Mastrodonato, 2005). Il suo spessore può dipendere principalmente dalle dimensioni dell'individuo (Gustavsson, 2000; Gustavsson & Erséus, 2001). I muscoli longitudinali accorciano i segmenti e di conseguenza il corpo dell'animale, mentre i muscoli circolari ne riducono il diametro allungando il corpo. Questi movimenti abbinati alla flessibilità del corpo dovuta alla metameria sono un carattere che favorisce la loro strategia alimentare. Nelle specie in esame i muscoli sono apparsi ben sviluppati testimoniando la capacità degli individui, come abili filtratori sospensivori, di nutrirsi delle particelle sospese in acqua, catturate attraverso il battito delle ciglia e filtrate attraverso il canale alimentare. Quest'ultimo ha mostrato in entrambe le specie una tipica suddivisione in quattro porzioni.

La mancanza di differenze anatomiche nella struttura interna sottolinea una uniformità nello stile di vita delle specie, nelle loro abitudini alimentari e conseguentemente nel ruolo trofico che esse

svolgono negli ecosistemi che riescono a colonizzare. Differenze nei caratteri morfologici esterni potrebbero invece rappresentare distinti adattamenti funzionali sviluppati durante la costruzione e lo sviluppo dei *reef* che favorirebbero la loro coesistenza. Le due specie pur mostrando stesso ruolo ecologico probabilmente riescono a coesistere in conseguenza di un differenziamento delle loro nicchie ecologiche non sovrapposte. Le due specie probabilmente competono per lo spazio e per il cibo, e contemporaneamente interagiscono attraverso interazioni non competitive la cui natura non appare ancora chiara. Essendo due specie gregarie, è ipotizzabile che la loro associazione aumenti le probabilità di sopravvivenza di entrambe, di difesa dai predatori e di successo riproduttivo. Come dimostrato per altri taxa, è probabile che il comportamento gregario fornisce agli aggregati un ulteriore vantaggio derivante dall'aumento dei segnali di avvertimento nei confronti dei predatori naturali o aumenti la produzione di segnali chimici che stimolano ed inducono l'insediamento larvale.

Nei Sabellaridi la struttura e la forma delle pale opercolari e delle chete parapodiali sono correlate ad uno stile di vita tubicolo delle specie, utilizzati per resistere alle forze d'attrito interne al tubo, per regolare le correnti d'acqua necessarie all'apporto di nutrienti e alla rimozione delle feci (Tilic et al., 2016). Una struttura più robusta in *S. alveolata* potrebbe essere conseguenza del ruolo di specie costruttrice, la cui anatomia, sembra dunque influenzare i processi di alimentazione ma anche di edificazione dei *reef* come la scelta selettiva dei granuli di sabbia e la forma e la grandezza dei tubi, che indirettamente influenzano la densità della fauna associata presente e il tipo di interazioni esistenti. La dominanza di *S. alveolata* in tutte le repliche analizzate conferma che nel Mediterraneo le biocostruzioni sono monospecifiche per quanto riguarda le specie responsabili della loro edificazione (Bianchi, 2001). Tuttavia la coesistenza delle due specie nei *reef* siciliani potrebbe essere legata alla peculiare posizione del Canale di Sicilia in cui correnti marine provenienti dal bacino orientale si mescolano a correnti occidentali.

Ad oggi l'uso di un approccio multidisciplinare appare il metodo più utile alla descrizione e alla classificazione delle specie, in quanto permette di ridurre gli svantaggi che ogni singolo metodo può possedere, consentendo una identificazione spesso molto più affidabile e/o rapida. Anche se si ritiene indispensabile l'uso di metodi di studio classici che costituiscono la base di ogni riconoscimento tassonomico, il presente lavoro ha sottolineato l'importanza di altre metodologie di lavoro. In particolare, si sottolinea l'importanza della microscopia computerizzata come potente nuovo strumento per la generazione di illustrazioni multidimensionali e interattive, nonché una delle tecniche non distruttive più utili in studi sistematici. I modelli tridimensionali di specie possono essere studiati e virtualmente dissezionati senza distruggere gli esemplari (Keklikoglou et

al., 2016). Negli ultimi anni infatti il Micro-ct ha visto un forte aumento del suo utilizzo nei settori della ricerca biologica, come la tassonomia, la sistematica e la filogenesi tanto da produrre set di dati tridimensionali di campioni biologici (Faulwetter et al., 2015) tra cui si annoverano studi anche su specie di Policheti (Dinley et al., 2010; Faulwetter et al., 2012, 2013; Paterson et al., 2014; Parapar & Hutchings, 2015). Modelli 3D per la sistematica del genere *Sabellaria* non sono ancora conosciuti; non si possiede nessuna immagine tridimensionale o video illustrativo l'anatomia interna delle specie. Al riguardo, i risultati ottenuti da tale ricerca appaiono innovativi e meritevoli di attenzione.

Prima segnalazione di *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888 nel Mediterraneo

L'uso di un approccio multidisciplinare nello studio del popolamento dei *reef* si è confermato strumento utile ad accelerare il tasso di scoperta di nuove specie. Lo studio morfologico integrato con analisi molecolari ha permesso infatti di discriminare il polichete *Eulalia ornata*, di segnalarlo come un nuovo *record* per il Mar Mediterraneo e di ri-descrivere il suo areale.

I caratteri morfologici riscontrati in *E. ornata* sono stati messi a confronto con quelli di due specie congeneriche, la cui descrizione morfologica in passato aveva destato confusione registrando ambiguità tassonomiche. La discriminazione delle tre specie non era favorita neppure dallo studio della loro distribuzione. Le tre specie possedevano una distribuzione a tratti sovrapposta che faceva precludere errori nella loro distinzione. In questo contesto, la prima segnalazione di *E. ornata* nei *reef* del Mediterraneo suscitava dubbi nella reale distribuzione delle specie soprattutto all'interno del bacino. In particolare appariva dubbia la segnalazione di *E. viridis* nei *reef* delle coste laziali.

Prima del presente studio, in Mediterraneo *E. ornata* non era mai stata segnalata, a differenza di *E. viridis* comunemente campionata in associazione con *S. alveolata* nel Mediterraneo centro-occidentale (La Porta & Nicoletti, 2009; Marzialetti et al., 2009; Porras et al., 1996) e lungo le coste del Mediterraneo orientale; quest'ultima, area nella quale è stata recentemente accertata la presenza esclusiva di *E. clavigera* (Bonse et al., 1996; Çınar & Gönlügür-Demirci, 2005; Kurt Şahin & Çınar, 2012).

I caratteri diagnostici principali nel riconoscimento morfologico di *E. ornata* sono stati individuati nel pattern di colorazione del corpo con bande trasversali mai presenti nelle restanti due specie, nella lunghezza inferiore della antenna mediana disposta di fronte agli occhi mai apparsa uguale come nelle specie congeneriche, ma principalmente nella forma e nella misura dei cirri presenti nei

primi tre segmenti del corpo così come nella forma e nella lunghezza dei cirri dorsali lungo le differenti porzioni del corpo.

Per avvalorare l'identificazione morfologica della specie rinvenuti nei *reef* del Canale Sicilia è stata condotta un'analisi morfometrica seguendo il metodo adottato da Pleijel (1993), ovvero confrontando il rapporto tra il numero di segmenti e la lunghezza del corpo tra individui di *E. ornata* siciliani ed esemplari atlantici (Francia). I risultati analizzati con un test ANOVA non hanno rivelato alcuna differenza significativa tra le popolazioni, supportando l'identificazione di *E. ornata* in Mediterraneo congruente con quella in Atlantico.

L'identificazione morfologica è stata avvalorata inoltre dall'analisi molecolare che ha permesso una chiara delimitazione delle specie. Sequenze di *E. ornata* sono state confrontate con un set di sequenze COI presenti in Genbank e appartenenti alle due specie congeneriche provenienti da diverse località. I risultati molecolari hanno discriminato le tre specie in tre cladi monospecifici, sostenuti da nodi robusti. Il clade di *E. ornata*, costituito da due individui raccolti nel Mar Mediterraneo e da un esemplare proveniente dal canale di Bristol è apparso chiaramente distinguibile dagli altri due cladi, rispettivamente costituiti da esemplari di *E. viridis* provenienti dall'oceano Atlantico nord-orientale e dall'oceano Artico e da campioni di *E. clavigera* del nord-est Atlantico e del Mediterraneo occidentale. L'identificazione molecolare ha confermato dunque il morfo-riconoscimento di *E. ornata* e l'utilità del DNA Barcoding come strumento per la corretta delimitazione delle specie come si evince dai valori di distanza genetica schematizzati nell'albero NJ e ha rafforzato l'ipotesi secondo la quale i *record* di *E. viridis*, lungo le coste Tirreniche e spagnole derivano da errori di identificazione con le due specie di accertata distribuzione mediterranea (*E. ornata* ed *E. clavigera*), designando *E. viridis* come specie nordica.

## Analisi strutturale dei tubi

L'osservazione delle formazioni lungo il Canale di Sicilia ha permesso di constatare che il sabellarieto mostra una struttura articolata ma unica nel suo genere, dipendente durante la fase di sviluppo da parametri biotici (numero e dimensioni individui) ed abiotici (temperatura, salinità, correnti). Le biocostruzioni indipendentemente dalla località di origine, mostravano infatti caratteristiche tipiche dei *reef*. In particolare si sviluppavano in zone intertidali, parallelamente alla linea di costa e a profondità moderate (1,5-3,0 m di profondità) e si elevavano dal substrato roccioso per poi estendersi su substrato mobile, caratterizzato da un continuo apporto di sabbia garantito dalle correnti idrodinamiche continue e moderate. A Triscina esse si sviluppavano nei pressi di prateria di *Posidonia oceanica*, capace di vivere in bassi fondali con range di temperatura e salinità costanti che sembrano confermare gli intervalli di temperatura (14-22°C) e di salinità (37-38‰) misurati lungo la costa e considerati ottimali per la crescita dei *reef*.

La struttura delle formazioni organogene nel complesso si presentava costante in tutte le località in esame ed ascrivibile ad una forma a cuscinetto definita "*brain-like-structure*". Tuttavia le biocostruzioni hanno mostrato una variazione nel volume complessivo e nella dimensione dei tubi a livello di replica. In particolare, i *reef* di Triscina presentavano la minore estensione (diametro 0,5 m, altezza 30 cm) con tubi dal diametro più piccolo (0,5-2,0 mm), in taluni casi e prevalentemente nel sito TR2 intervallati da tubi dal diametro medio-grande (2,5-5,0 mm). Ad Eraclea Minoa le formazioni mostravano l'estensione maggiore (diametro 2 m, altezza 1,5 cm) con tubi dal diametro variabile e medio-grande (1-4 mm), mentre a Donnalucata un'estensione intermedia (diametro 1 m, altezza 0,5 cm) con tubi omogeneamente grandi (2-3,5 mm).

Confermando i dati bibliografici, le dimensioni dei tubi, sono apparse proporzionali alle dimensioni della specie costruttrice valutate mediante le misure opercolari di un campione rappresentativo di individui di *S. alveolata* selezionati dalle tre località (160 individui per località). La grandezza del tubo in cui l'individuo vive è infatti correlata alla taglia del polichete proporzionale al diametro della corona opercolare, considerato un importante parametro biometrico (Gruet, 1984).

In particolare a Triscina, tubi dal diametro più piccolo (diametro opercolare medio  $1,73 \pm 0,54$  DS) hanno ospitato individui di *S. alveolata* dalle dimensioni minori, eccetto per una replica nel sito TR2 (TR2-R3) dove il diametro medio opercolare è apparso più elevato (diametro opercolare medio  $2,51 \pm 1,23$  DS) mentre i tubi con diametro maggiore di Donnalucata ed Eraclea Minoa hanno ospitato individui di dimensioni medio-grandi (diametro opercolare medio DL  $2,24 \pm 0,23$  DS; EM  $2,14 \pm 0,09$  DS).

La distribuzione delle classi di taglia opercolare per ogni località, rappresentata graficamente mediante istogrammi di frequenza, ha confermato tali dati e mostrato andamenti leggermente differenziati tra le località. A Triscina una distribuzione con frequenze più elevate per le classi di taglia 1 e 0,5 mm e per le classi 2 e 4 mm è conseguenza di un elevato numero di tubi ed individui di piccole dimensioni occasionalmente intervallati da tubi con individui di medio-grande dimensioni; ad Eraclea Minoa una distribuzione di taglia descritta da 5 classi principali (1; 1,5; 2; 2,5; 3 mm) con il maggior numero di individui mostranti classe di taglia 2 mm è il risultato di una struttura con tubi ed individui di dimensioni variabili ma pur sempre medio-grandi; a Donnalucata una distribuzione di taglia raggruppata prevalentemente in tre classi (2; 2,5; 3 mm) è interpretabile come conseguenza di tubi omogenei nella forma e nella misura che si rispecchia in individui di taglia medio-grande.

Dall'analisi dei dati mediante box-plot si evince che la popolazione di Triscina appare mediamente di taglia inferiore rispetto alla popolazione delle restanti due località. Il 50% delle misurazioni effettuate ed espresse dalla mediana mostrano valore pari a 1,22 a differenza del valore dello stesso indice misurato a Donnalucata ed Eraclea Minoa pari a 2,16. Inoltre per tale località la classe di taglia 1 mm risulta la più frequente, come dimostrato dal valore di moda, a differenza delle restanti due località in cui la classe di taglia più frequente è pari a due (moda=2). Tuttavia il 75% delle misurazioni di Triscina ( $P_{0.75}=Q3$ ) risultano leggermente superiori alla mediana delle altre due località confermando che le differenze opercolari non sono significative a livello di località come dimostrato da un campo di variazione simile tra le località e come confermato dal test di Fisher e dai risultati ANOVA.

Differenze nelle dimensioni dei tubi a livello di replica fotografano probabilmente momenti diversi dello sviluppo degli individui nelle tre località del Canale di Sicilia con gli individui di Triscina, in particolare presenti nel sito 1, ipoteticamente più giovani. Seguendo quanto riportato da Allen et al. (2002), tubi dal diametro inferiore ai 2 mm potrebbero infatti descrivere individui ad un anno dall'insediamento, mentre tubi dal diametro compreso tra 2-3 mm, come i tubi costituenti le formazioni di Donnalucata ed Eraclea Minoa, potrebbero indicare popolazioni nei due/tre anni successivi all'insediamento. A tal proposito, investigazioni future si reputano pertanto necessarie.

La dimensione dei tubi, analizzata mediante le dimensioni opercolari degli individui di *S. alveolata*, ha inoltre permesso di valutare l'eventuale disponibilità degli stessi per la fauna associata. La dimensione del tubo direttamente proporzionale alla dimensione opercolare della specie costruttrice è di contro apparsa inversamente proporzionale alla sua abbondanza. Triscina, con tubi delle più piccole dimensioni, ha infatti mostrato il più elevato numero di individui di *S. alveolata* (10139),

mentre Donnalucata ed Eraclea Minoa, con tubi di dimensioni medio-grandi, hanno ospitato un numero di individui di *S. alveolata* più basso (3350 e 3721). In particolare, a Triscina le biocostruzioni presenti nel sito TR1 mostrandoti tubi con il diametro più piccolo, sono stati occupati dal 91% dalla specie costruttrice e dal 9% da fauna associata, mentre nel sito TR2 il 79% dei tubi è stato occupato da *S. alveolata* e il 21% dalla fauna associata. Percentuali leggermente più basse si sono registrate nelle restanti due località dove gli individui di *S. alveolata* hanno occupato rispettivamente il 72% dei tubi a Donnalucata e il 73% ad Eraclea Minoa.

I risultati ottenuti sembrano confermare la relazione inversa esistente tra l'abbondanza di *S. alveolata* e della fauna associata descritta per i reef Atlantici. Secondo quanto affermato da Allen et al., (2002), se dominante, *S. alveolata* lascia poco spazio ad altri organismi predatori tra cui si annoverano altri policheti e gasteropodi carnivori. Pertanto le percentuali di fauna associata per le biocostruzioni di Eraclea Minoa e Donnalucata potrebbero essere stati influenzati dalla presenza di numerosi interstizi o di tubi occasionalmente vuoti all'interno dei quali molte specie di Policheti di fauna associata vivono.

## Caratterizzazione comunità bentonica

La struttura della comunità macrozoobentonica è stata inizialmente analizzata in termini di abbondanza e ricchezza di specie per poi essere descritta da indici di struttura e analizzata con analisi statistiche multivariate. Conoscere tali caratteristiche ha permesso di sottolineare la peculiarità e la preziosità di tali habitat e la necessità di applicare idonee strategie gestionali di protezione dei *reef* anche nel bacino del Mediterraneo così come nel resto d'Europa.

Complessivamente all'interno delle tre località sono stati raccolti 21054 individui di dimensioni comprese tra 1-85 mm presenti all'interno dei tubi e tra gli interstizi costituenti le biocostruzioni.

Il popolamento è stato differenziato in 36 specie di Policheti, 23 specie di Anfipodi e in alcuni taxa appartenenti a diversi gruppi e presenti con abbondanze minori, non ancora identificati fino a livello di specie.

Tra i Policheti, dopo la famiglia dei Sabellaridi costituita da due specie, *S. alveolata* e *S. spinulosa*, il gruppo più abbondante è stato rappresentato dalla famiglia dei Fillodocidi (1368 individui) seguito dalla famiglia dei Sillidi (850 individui). Un approccio integrato con analisi morfologiche associate ad analisi molecolari e morfometriche ha permesso di stabilire che i Fillodocidi erano interamente rappresentati dalla specie *Eulalia ornata* mentre i Sillidi distinti in 12 specie. Quest'ultimi costituiscono una componente importante della endofauna di substrati duri come rocce calcaree o bioconcrezioni di alghe o altri animali (Westheide, 1974; San Martin, 1984). Essi tuttavia sono Policheti complessi da studiare, come dimostrato dalla loro sistematica che ha subito negli ultimi anni drastiche revisioni (Licher, 1999). Secondo alcuni autori la loro distribuzione potrebbe seguire un gradiente batimetrico (verticale), tuttavia è possibile che essa segua un gradiente orizzontale, parallelo alla costa, in base a particolari condizioni ambientali. Per tali ragioni, non è possibile stabilire con precisione quali fattori influiscono la loro distribuzione, anche se le condizioni idrodinamiche sembrano svolgere un ruolo cruciale (Giangrande, 1988; Licciano et al., 2002; Musco, 2012).

La composizione percentuale delle due famiglie (Fillodocidi e Sillidi) è apparsa variabile tra le località, con *E. ornata* presente con abbondanza più elevata ad Eraclea Minoa (15,10%) e i Sillidi numericamente dominati a Donnalucata (11,00%). La maggiore abbondanza delle due famiglie è probabilmente da attribuire alla capacità che le specie hanno di trovare riparo all'interno dei *reef* e di vivere sia all'interno che tra le intercapedini dei tubi, come nel caso delle biocostruzioni di Donnalucata ed Eraclea Minoa mostranti tubi dal diametro medio-grande con intercapedini numerose. Di contro la presenza dei due gruppi a Triscina con percentuali più basse (2,62% *E. ornata*, 1,66% Sillidi), probabilmente è conseguenza della struttura dei *reef* dai tubi piccoli e

prevalentemente occupati dalla specie costruttrice, come dimostrato dai dati di abbondanza registrati per *S. alveolata*.

La predominanza delle due famiglie inoltre sembra essere legata alle loro strategie alimentari: i due gruppi sono costituiti prevalentemente da specie carnivore non tubicole, che trovano nei *reef* una fonte di cibo, poiché capaci di nutrirsi di molti invertebrati (Fauchald & Jumars, 1979). *Eulalia ornata* in particolare è per lo più specie carnivora capace probabilmente, come molti Fillodocidi (Porras et al., 1996; La Porta et al., 2009; Jumars et al., 2015) di nutrirsi proprio di *S. alveolata*. I valori di abbondanza e la sua presenza costante in tutte le repliche analizzate, hanno infatti permesso di indicare la specie come “caratteristica” dei *reef*. Infine la restante comunità di Policheti è stata rappresentata da 12 differenti famiglie distinte in 21 specie, tuttavia non registrate in tutte le repliche e presenti con abbondanze basse, che fanno di esse specie poco comuni o occasionali nei *reef*. Tutte le specie rinvenute sono presenti nell’intero bacino del Mediterraneo (Coll et al., 2010), segnalate nei mari Italiani (Castelli et al., 2008) in tutti o quasi i settori biogeografici in cui sono suddivise le coste dell’intera penisola (sensu Bianchi, 2004). Unica eccezione è data dalla specie *Harmothoe bellani* Barnich & Fiege, 2000, segnalata come primo *record* nel Mar Adriatico ma la cui identificazione è già considerata dubbia dalla stessa autrice (Mikac, 2015).

Tra i Crostacei infine una componente importante è stata rappresentata dagli Anfipodi che hanno costituito la quasi totalità dei Crostacei presenti nelle formazioni studiate. Membri più abbondanti del superordine Peracadria (Calman, 1904), essi costituiscono un gruppo della macrofauna dominante nel meso-infralitorale, abbondante e diffuso a diverse latitudini. Oltre alla profondità, la loro distribuzione è legata a fattori quali idrodinamismo e presenza di vegetazione (Barnard & Karaman, 1991; Bellan-Santini & Ruffo, 2003). Le specie rinvenute vivono infatti in habitat acquatici generalmente su sabbia o fango, tra alghe, idrozoi e prateria di *P. oceanica* (Ruffo et al., 1998). Esse mostrano una varietà di modelli di alimentazione con specie sospensivore (es. *Jassa oca*, *Apolochus neapolitanus*), depositivore (es. *Gammaropsis ulrici*, *Photis longicaudata*, *Melita hergensis*), o onnivore (*Caprella acanthifera*). Pur costituendo uno dei gruppi dominanti associati a questo habitat, attualmente non è ancora definito il ruolo e i benefici che questi organismi traggono dall’associazione con i Policheti biocostruttori. E’ probabile che trattandosi di specie tubicole esse possano trovare riparo in tubi vuoti, tuttavia esse non appaiono dominanti probabilmente per le poche opportunità di colonizzare la costruzione fornite da *S. alveolata* ad altre specie sospensione (Porras et al., 1996).

Un’indicazione quantitativa dell’abbondanza delle specie e del grado della loro ripartizione all’interno di ogni località è stata valutata mediante gli indici di diversità. Questi hanno mostrato

una variabilità nella composizione della comunità bentonica presente nei siti e nelle località in esame. In particolare, la comunità seppur costituita da un numero elevato di individui, è stata rappresentata da una diversità di specie non troppo elevata a testimoniare la peculiarità di tali habitat nell'ospitare un numero di specie preferenziali (Porras et al., 1996; Dubois et al., 2002; Desroy et al., 2011).

Informazioni sull'incidenza quantitativa delle diverse specie all'interno della comunità esaminata sono state fornite dall'indice di Shannon-Wiener ( $H'$ ). Esso ha mostrato valori medio-bassi che hanno descritto una bassa diversità di specie presenti con abbondanza variabile. L'eterogeneità di distribuzione delle specie e la presenza di eventuali specie dominanti sono state invece descritte dall'indice di Evenness ( $J'$ ) e di Simpson ( $1-D'$ ) mostranti valori prossimi all'unità. I valori medi più bassi riscontrati ad Eraclea Minoa sembrano sottolineare la presenza di un popolamento più omogeneo rispetto alle popolazioni presenti nelle restanti due località, con la presenza di una o poche specie dall'abbondanza elevata. I valori più alti riscontrati a Triscina descrivono il caso contrario: un popolamento più diversificato. Osservando l'andamento degli indici si nota infatti che in tutti e tre i casi esaminati, essi assumono valori più elevati a Triscina e più bassi ad Eraclea Minoa. Testando la significatività delle differenze tra gli indici applicando il t-test non sono state tuttavia riscontrate variazioni significative tra le medie degli indici, eccetto per l'indice  $D'$  nel sito di Triscina. Le differenze non sono risultate significative a livello di località.

Analisi multivariate hanno permesso di descrivere una struttura degli assemblaggi differente tra le località. L'analisi PERMANOVA indipendentemente dai dati di abbondanza o presenza/assenza delle specie, ha descritto una variabilità degli assemblaggi a livello di replica, sito e località. Il dendrogramma derivante dalla *Cluster Analysis* condotto sui dati di abbondanza delle specie presenta due raggruppamenti che si separano al 40% di similarità, in particolare l'assemblaggio di Donnalucata sembra differenziarsi da quelli delle restanti due località mentre il sito 1 di Triscina si separa per un 50% circa di similarità. Il dendrogramma costruito su matrici di presenza/assenza separa il sito 2 di Triscina per un 50% di similarità. Stessi dati sono stati confermati dall'ordinamento mediante l'nMDS ed avvalorati dal test statistico ANOSIM che ha riscontrato una moderata separazione degli assemblaggi a livello di sito ( $R=0,49$ ) e una più netta distinzione a livello di località ( $R=0,741$ ).

Informazioni utili al riconoscimento delle specie che hanno contribuito a caratterizzare ogni singola località e nel contempo a differenziare tra loro le località sono state ottenute dall'analisi SIMPER.

Quest'ultima ha indicato le specie che hanno maggiormente caratterizzato le comunità in esame. In particolare a Triscina sono state identificate tre specie: *Eulalia ornata*, *Gammaropsis ulrici* e *Syllis*

*armillaris* (similarità 49,77%). Ad Eraclea Minoa il popolamento era caratterizzato dalla dominanza di *E. ornata* (similarità 63,08%) mentre a Donnalucata la comunità era influenzata dalla predominante presenza di *Eulalia ornata*, *Syllis pulvinata* e *Jassa ocia* (similarità 56,09%).

L'analisi SIMPER ha dimostrato come all'interno di ogni località *E. ornata* si presenta come specie che influenza maggiormente la composizione del popolamento, anche se con contributi percentuali differenti dovuti alle diversità di abbondanza tra le repliche. I dati permettono di confermare la stabilità dell'associazione *E. ornata*-*S. alveolata* suggerita per gli habitat atlantici (Pleijel, 1993; Dubois et al., 2003) descrivendo i *reef* come formazioni particolarmente adatte all'insediamento del Fillostocidide in qualsiasi fase dello sviluppo. Per tali ragioni, è ipotizzabile che anche *S. alveolata* trovi vantaggi nell'associazione con *E. ornata* che potrebbe proteggere *S. alveolata* dalla predazione di altre specie o garantirne la pulizia dei tubi. Purtroppo allo stato attuale, il comportamento alimentare di *E. ornata* è ancora ignoto.

Tra i Sillidi, la specie *S. pulvinata* sembra aver contribuito a differenziare maggiormente le coppie di località Triscina/Donnalucata e Donnalucata/Eraclea Minoa, seguita dalle specie *S. armillaris* e *S. gracilis* la cui presenza, in almeno due delle tre località in esame, fa di esse specie preferenziali ma non esclusive di un *reef*.

L'elevata abbondanza di *S. pulvinata* registrata in quasi tutte le repliche suggerisce che questo habitat è particolarmente adatto alla specie. La segnalazione si conferma importante per lo studio della distribuzione della specie nel bacino del Mediterraneo; la specie non viene riportata nella check-list della fauna italiana (Castelli et al., 2008) ma è stata segnalata solo in tempi relativamente recenti lungo le coste italiane (Musco et al., 2004).

La peculiarità dei *reef* siciliani è stata sottolineata anche dalla presenza di due specie di Anfipodi: *Jassa ocia* e *Gammaropsis ulciri* che hanno mostrato abbondanza alta e stabile tra tutte le località. La prima specie è stata registrata in tutte le repliche e la seconda è apparsa poco presente solo a Donnalucata. Come mostrato dai risultati dell'analisi SIMPER, esse hanno contribuito a caratterizzare il popolamento presente nelle tre località tanto da essere considerate caratteristiche ma non esclusive dell'habitat nell'area di studio. *Jassa ocia* è una specie tubicola presente in fondi molli e capace di costruire tubi utilizzando sedimento fine. La specie è stata descritta come dominante nei *reef* di *S. alveolata* delle coste laziali dove viene segnalata anche la congenerica *Jassa marmorata* Holmes, 1905, tuttavia assente nei *reef* siciliani (La Porta et al., 2009). *Gammaropsis ulciri* è una specie poco conosciuta, considerata da molti autori endemica del Mediterraneo (Ruffo, 1982), tuttavia segnalata nelle isole Canarie (Krapp-Schickel & Ruffo, 1990). È una specie non comune nei sabellarieti, vive in acque superficiali, soprattutto su fanerogame. La

sua abbondanza nei *reef* oggetto di studio sembra testimoniare che la comparsa di un sabellarieto costituisce un vantaggio per gli Anfipodi innescando processi ecologici altrimenti improbabili.

Differenze negli assemblaggi possono essere attribuite alle condizioni ambientali locali con particolare riferimento alle praterie di *P. oceanica* presenti a Triscina e substrati duri presenti nelle restanti due località. È noto che l'habitat formato da *P. oceanica* può essere considerato peculiare con una composizione faunistica e una struttura di popolamento nettamente diversi rispetto agli ambienti circostanti, che possono dunque aver influenzato i *reef* di Triscina inducendo in loro una maggiore diversità di specie. Come altre fanerogame marine, *P. oceanica* infatti può essere definita un "ingegnere ecosistemico" per la capacità di incrementare la complessità di habitat creando una miriade di microhabitat idonei all'insediamento e alla crescita di un gran numero di organismi che trovano in essa non solo favorevoli condizioni fisico-chimiche, ma anche risorse alimentari e rifugio dai predatori (Procaccini et al., 2003).

Tuttavia la struttura e la composizione degli assemblaggi potrebbero essere stati influenzati dalla peculiare posizione e dalle condizioni oceanografiche del Canale di Sicilia, con particolare riferimento alle correnti, che sembrano favorire la coesistenza all'interno delle formazioni di specie Atlantico-Mediterranee (Napolitano et al., 2003; Garofalo et al., 2007).

## Confronto *reef* Atlantico-Mediterranei

Il censimento della fauna dei *reef* siciliani ha conseguentemente permesso la segnalazione di nuovi *record* per il Mediterraneo che ha evidenziato il legame biogeografico nella distribuzione delle specie nell'area atlantico-mediterranea. Un confronto faunistico è stato pertanto effettuato tra *reef* presenti lungo le coste atlantiche e mediterranee per valutare quanto le condizioni locali possano influenzare lo sviluppo delle formazioni.

Il censimento della fauna contenuta all'interno dei *reef* del Canale di Sicilia e l'accertata presenza di specie preferenziali ed esclusive nelle tre località analizzate, fanno di tali formazioni habitat peculiari. Nonostante i numerosi benefici apportati all'ecosistema bentonico in cui si sviluppano, tali *reef* appaiono ancora poco studiati nel Mediterraneo (La Porta et al., 2009; Sandulli, 2012). Poche informazioni si possiedono infatti sulla loro attuale distribuzione e sulla composizione delle specie al suo interno che ne impediscono una reale valutazione delle dinamiche interne e un confronto completo con i *reef* atlantici maggiormente studiati e protetti. Rappresentati per la prima volta in tutte le sue componenti faunistiche, i *reef* del Canale di Sicilia pertanto hanno contribuito a ridurre le lacune esistenti nello studio di questo habitat nel bacino del Mediterraneo valorizzandolo in una area biogeografica di grande interesse ecologico. Essi hanno mostrato una quasi totalità di specie di Policheti e Anfipodi di distribuzione Atlantico-Mediterranea con poche specie di Anfipodi mostranti inoltre una distribuzione più ampia che interessa l'oceano Pacifico (*Apocorophium acutum*) e l'oceano Indiano (*Amphithoe raimondi*, *Erictonius brasiliensis*, *Photis longicaudata*) e con solo tre specie definite endemiche per il Mediterraneo (*Caprella rapax*, *Tethylembos viguieri* e *Podocerus skieckei*).

In termini di composizione tuttavia il popolamento dei *reef* siciliani è apparso notevolmente differente rispetto a quelli rinvenuti nelle coste atlantiche della Francia, del Canale della Manica o del Galles (Dubois et al., 2002, 2006; Cole & Chapman, 2007; Desroy et al., 2011; Schlund et al., 2016); mentre ha mostrato aspetti comuni con i popolamenti rinvenuti nelle coste portoghesi (Cole & Chapman, 2007; Plicanti et al., 2017). In particolare, tra i Policheti rinvenuti nei *reef* siciliani solo poche specie sono apparse comuni alle biocostruzioni atlantiche (*Eulalia ornata*, *Platynereis dumerili*) molte delle famiglie considerate abbondanti nelle formazioni atlantiche come i Nereidi o i Serpulidi, sono risultativ poco rappresentati nelle formazioni siciliane dove invece sono apparsi dominanti i Fillodocidi. Analogie sono state rinvenute per alcune delle specie di Sillidi, come *Syllis gracilis*, considerati abbondanti anche nelle coste portoghesi. Tra gli Anfipodi nessuna delle specie presente nei *reef* atlantici (*Corophium volutator*, *Melita palmata*, *Leucothoidae* sp., *Gammarus* sp.) è presente nei biocostruzioni siciliane. Di contro, il popolamento degli Anfipodi ha mostrato una

certa affinità con quello descritto nelle coste portoghesi grazie alla presenza di specie comuni (*Caprella acanthifera*, *Jassa oca*, *Photis longicaudata*, *Microdeutopus chelifer*, *Stenothoe monoculoides*).

La storia paleogeografica del Mar Mediterraneo potrebbe essere responsabile delle analogie/differenze con la fauna atlantica: esso infatti costituisce una distinta provincia della regione temperata-calda Atlantico-Mediterranea (Bianchi, 2007) la cui fauna sembra avere origine atlantica e relativamente recente. Il Mar Mediterraneo è infatti un immenso golfo collegato all'oceano attraverso lo stretto di Gibilterra, mediante il quale le acque superficiali atlantiche entrano trasportando con se molte specie. Grazie alla sua posizione geografica, la costa portoghese potrebbe rappresentare una regione di contatto tra le specie di acqua calda proveniente dal Nord Africa e dal Mar Mediterraneo e le specie d'acqua fredda provenienti dal Mare del Nord e dall'Artico (Plicanti et al., 2017) giustificando pertanto una maggiore analogia con la composizione faunistica dei reef mediterranei. Lo stesso ritrovamento nei reef del Canale di Sicilia di *E. ornata*, segnalata come nuovo record nelle acque del Mediterraneo, ha permesso di evidenziare un legame biogeografico tra l'area Atlantico-mediterranea. Alla luce dei risultati ottenuti da tale ricerca, anche le recenti segnalazioni di *E. viridis* lungo le coste atlantiche e portoghesi da riferirsi probabilmente ad *E. ornata*, già segnalata lungo le coste francesi e del Marocco, avvalorano ancor di più il ruolo di regione di contatto delle coste Portoghesi.

Infine dal confronto con i reef atlantici appare rilevante la mancanza del phylum dei Molluschi con particolare riferimento al gruppo dei bivalvi e alla specie *Mytilus edulis* considerata stabilmente associata ai reef di *S. alveolata* prevalentemente durante la fase di distruzione ed erosione del reef (Cunningham et al., 1984, Allen et al., 2002). Secondo quanto riportato da studi condotti in acque atlantiche infatti il Mollusco è in grado di colonizzare i reef soprattutto se danneggiati, coprendo l'apertura dei tubi, inducendo gradualmente il soffocamento degli individui rimasti al loro interno e causando la degradazione della costruzione stessa (Allen et al., 2002). La mancanza della specie nelle biocostruzioni siciliane potrebbe pertanto indicare un buono stato di crescita e conservazione delle formazioni. Quest'ultimo potrebbe essere confermato anche dal confronto con i pochi reef studiati all'interno del Mediterraneo, rinvenuti sia nelle acque poco profonde (0-2 m) del Golfo di Valencia (Spagna; Porras et al., 1996) che in acque di poco più profonde (1-2,5 m) del Mar Tirreno (Italia, La Porta & Nicoletti, 2009). Lungo le coste tirreniche, i reef sono stati studiati in tre diversi periodi (inverno-estate 2000, primavera 2001) e in tre località dal quale sono stati estratti blocchi di costruzione 20x20x20 cm mentre lungo le coste spagnole tra il 1989/1990 in 13 diverse località dalle quali sono stati estratti blocchi 15x15x15 cm. Per entrambi gli studi sono stati raggiunti gli

stessi risultati: una bassa abbondanza di *S. alveolata* accompagnata da un elevato numero di specie di fauna associata in *reef* in fase di distruzione, e di contro un elevato numero di *S. alveolata* con un basso numero di specie di fauna associata (bassa ricchezza specifica) durante una fase di crescita.

Sebbene i campionamenti nelle biocostruzioni siciliane non sono stati ripetuti in diversi periodi dell'anno e pertanto non è stato possibile valutare l'eventuale fase di crescita o di distruzione, i dati raccolti dalla caratterizzazione della loro fauna sembrano confermare i risultati delle coste tirreniche e spagnole con *S. alveolata* apparsa sempre dominante e mostrante una relazione inversa in termini di abbondanza con la fauna associata, a rafforzare l'ipotesi secondo cui i *reef* si trovano in uno stato di sviluppo, inoltre la ricchezza di specie non troppo elevata con predominanza di specie preferenziali e caratteristiche fa dei *reef* habitat peculiari. Infine gli stessi dati confermano il ruolo che questi habitat svolgono come promotori di biodiversità quando il loro stato di conservazione può dirsi inalterato: essi sono stati caratterizzati da una ricchezza faunistica più elevata (21054 individui) rispetto ai restanti *reef* mediterranei pur essendo stati campionati da blocchi con un volume (10x10x10 cm) rispettivamente 8 e 3,3 volte inferiore al volume dei *reef* tirrenici e spagnoli.

Tuttavia poche specie di Policheti possono considerati comuni tra le formazioni siciliane e laziali (*Arabella iricolor*, *Lepidonotus clava*, *Nereis pelagica*, *Platynereis dumerilii*, *Scoletoma funchalensis*), così come poche specie si registrano tra gli Anfipodi (*Jassa oca*, *Melita hergensis*, *Apocorophium acutum*). Differenze registrate nella composizione del popolamento probabilmente sono da attribuire alle diverse condizioni ambientali in cui le formazioni si sviluppano. Secondo quanto riportato da Bianchi (2007), l'isoterma invernale che taglia in due il Mediterraneo, in senso nord-sud lungo la congiungente Valencia-Cagliari-Napoli-Bari-Atene-Rodi, sembra rappresentare il limite superiore per l'attività biocostruttrice di molti organismi come coralli e vermetidi così come potrebbe costituirlo per *S. alveolata*, anche se ad oggi al riguardo dati bibliografici mancano. Inoltre il Mar Tirreno sembra avere condizioni ambientali diverse rispetto al Canale di Sicilia: esso è conosciuto nella letteratura oceanografica come un mare relativamente isolato dal resto del Mediterraneo occidentale (Astraldi et al., 1995) e ciò determina un aumento della temperatura superficiale media, che rimane alto per tutto l'anno. La sua biodiversità sembra essere meno elevata con un biota prevalentemente termofilo, con una elevata percentuale di specie ad affinità subtropicale e endemiche del Mediterraneo (Bianchi et al., 2012). L'area è caratterizzata dall'effetto del vento che si incanala tra la Sardegna e la Corsica e che produce un grande vortice, con intensi movimenti verticali, che è rilevabile dalla presenza di acqua fredda. La circolazione "ciclonica" legata a tale vento influenza anche la circolazione locale lungo la costa settentrionale del Lazio,

caratterizzata inoltre da una torbidità delle acque alta, da una bassa forza idrodinamica e dalla presenza di fiumi con un apporto di grandi quantità di acque dolci. È probabile che ad esclusione della batimetria (in entrambe gli studi, i *reef* si estendevano a profondità comprese tra 1-3 m), differenze possono essere attribuite a tali caratteristiche idrodinamiche e geografiche. Va ricordato infatti che il Canale di Sicilia, grazie alla sua posizione geografica, rappresenta una regione di contatto tra le correnti di acqua fredda e salinità più bassa proveniente dall'Atlantico e correnti d'acqua calda circolante nel bacino. Essa è influenzata da temperature moderate e da maree abbastanza ridotte noti per svolgere un ruolo chiave nel guidare la distribuzione delle specie e nell'incrementare la biodiversità (Napolitano et al., 2003; Gasparini et al., 2005; Bianchi, 2007). Differenze di estensione e di composizione faunistica si riscontrano anche con pochi *reef* presenti lungo la costa Adriatica, edificati nella costa pugliese dal polichete *S. spinulosa* e all'interno della area marina Torre del Cerrano (Abruzzo) dal polichete *S. alcocki* che tuttavia, alla luce dei risultati ottenuti da tale ricerca, può considerarsi di dubbia identificazione. I dati sulla distribuzione dei *reef* in questa area tuttavia risultano ancora frammentati, affidati a report di gestione di aree di Interesse Comunitario e dunque non di immediato confronto. Probabili differenze nel popolamento possono essere attribuite alle diverse condizioni geografiche dell'area. Il Mar Adriatico è un bacino con bassa profondità soprattutto nella parte settentrionale (35 m) dove l'esiguo volume d'acqua contenuto subisce fortissime variazioni termiche. La parte più settentrionale dell'area è forse il settore più peculiare di tutto il Mediterraneo caratterizzata da basse temperature e da un apporto di grandi quantità di acque dolci per lo sfociare dei fiumi che determina una diminuzione della salinità delle acque marine, condizioni che potrebbero non favorire lo sviluppo dei *reef* e che di contro, riflettono un biota comprendente specie Atlantico-adriatiche. Differente appare la zona più meridionale dell'area dove sono presenti acque più calde e salate (38‰) che si mescolano con quelle che provengono dallo Ionio. Tutto ciò provoca la presenza di tre strati d'acqua a differente densità che, unitamente al moto di rotazione della Terra e dei venti, instaurano un sistema di circolazione generale delle acque in senso antiorario che genera una circolazione ciclonica (Artegiani et al., 1997; Poulain, 2001; Bianchi et al., 2012). È importante sottolineare che la costa orientale dell'area è generalmente alta e rocciosa, mentre la costa occidentale è bassa e prevalentemente sabbiosa, condizione che facilita la formazione dei *reef* tra 0-3 m di profondità con altezze limitate a 20 cm; tuttavia è probabile che le specie di *S. spinulosa* risentono di variazioni stagionali di temperatura, salinità e correnti che non permettono lo sviluppo di estese formazioni come quelle presenti nel Canale di Sicilia edificate da *S. alveolata*. Al momento non appaiono ancora chiari i motivi per la diversa distribuzione delle specie di *S. alveolata* e *S. spinulosa* lungo le coste italiane. Ulteriori indagini si reputano necessarie.

## Importanza delle Collezioni Museali con riferimento alle collezioni di Policheti

Tutte le specie rinvenute nei *reef* sono state depositate presso il Museo di Zoologia «P. Doderlein» dell'Università di Palermo (MZPA) con un codice museale e una scheda descrittiva di riferimento.

La creazione di una raccolta museale, seppur ancora di piccola entità, degli organismi bentonici campionati nei *reef* di *S. alveolata* del Canale di Sicilia e la revisione delle collezioni presenti al Museo, costituisce l'unico esempio sul territorio locale di una collezione di Policheti e Anfipodi in cui sono state catalogate in maniera sistematica delle specie. Per questa ragione tale collezione può rappresentare un punto di riferimento per i futuri studi scientifici e tassonomici sui gruppi di invertebrati marini rinvenuti nel Mediterraneo.

Nell'ambito delle collezioni zoologiche in Italia esistono numerosi Musei contenenti collezioni di vertebrati e invertebrati tra cui, tuttavia, i principali gruppi curati sono prevalentemente Artropodi e Molluschi. Gli Anellidi Policheti a livello nazionale risultano invece un gruppo molto spesso trascurato anche in Musei come quello di Storia Naturale di Verona dove attualmente vengono registrate forse meno di una decina di vasi di policheti marini e qualche campione dulcacquicolo ancora da schedare (comunicazione personale con il conservatore del Museo Dott. L. Latella). Lo stesso Museo oggi è tuttavia considerato uno delle principali istituzioni nazionali ed europee ospitante le migliori collezioni di invertebrati con particolare riferimento alla collezione di Anfipodi di Sandro Ruffo composta da più di 1000 vasi contenenti oltre 30.000 provette e ricca di circa 300 tipi (Latella & Salmaso, 2009).

Tra le poche collezioni museali nazionali in cui compaiono anche gli Anellidi Policheti si annovera la collezione del Museo di Storia Naturale di Venezia, quella del Museo di Storia Naturale "La Specola" dell'Università di Firenze e una collezione recentemente rivista ed aggiornata al Museo "Pietro Parenzan", Università del Salento (Giangrande et al., 2015).

Diverso ruolo rivestono tali collezioni a livello internazionale dove svariati Musei ospitano cospicui reperti raccolti in diverse aree nel mondo. In particolare, in Europa il Museo che ospita un elevato numero di esemplari di Policheti ed Anfipodi è il Natural History Museum di Londra. Collezioni di Policheti altrettanto importanti sono situate presso i Musei di Parigi, Madrid, Amburgo, Francoforte e Copenaghen (Johnston, 1865; Hartman, 1959; Thurston & Allen, 1969; Lincon, 1979; Solis-Weiss et al., 2004).

L'implementazione delle collezioni del Museo Doderlein con reperti prevalentemente mediterranei, si inserisce nell'attuale attività di analisi e catalogazione informatica di tutti gli esemplari delle

collezioni del Museo finalizzati alla creazione di una banca dati che renda fruibile il materiale faunistico al mondo scientifico.

Fornendo i dati morfologici, ecologici e biologici delle specie e le informazioni di natura molecolare, come quelle relative alla sequenza del gene per la citocromo ossidasi ottenute per alcune delle specie oggetto di studio di tale ricerca, il database mira a divenire una fonte conoscitiva sulla varietà di forme viventi presenti intorno all'area mediterranea e una fonte documentaria insostituibile per confrontare lo stato del biotopo in cui le specie vivono.

La struttura fondata dall'omonimo Prof. Pietro Doderlein, primo titolare della cattedra di Zoologia ed Anatomia Comparata dell'Università degli studi di Palermo (1962-1894), costituisce uno dei sei Musei tematici del Sistema Museale di Ateneo (SIMUA), attraverso cui l'Università degli Studi di Palermo cerca di preservare e valorizzare un vasto patrimonio archeologico, storico, artistico e scientifico.

Il Museo con una collezione di esemplari animali dai più semplici Metazoi ai Primati, mira infatti a diventare un vero e proprio archivio culturale, capaci di conservare esemplari ereditati dai naturalisti del passato, ricostruire le interazioni dinamiche degli esemplari, documentare e classificare il mondo naturale attuale, e grazie ai più moderni metodi di catalogazione informatica, lasciare una testimonianza futura sull'evoluzione della vita.

Conoscere la check-list delle specie rinvenute in un peculiare habitat come quello rappresentato dai *reef* di *S. alveolata* del Canale di Sicilia, osservare gli individui caratterizzanti le formazioni e disporre di importanti informazioni anche genetiche, può infatti favorire il confronto tra stessi habitat presenti in altri punti del bacino del Mediterraneo.

La necessità di possedere collezioni sottolinea la rilevanza della conservazione museale come forma di salvaguardia della biodiversità, oggi sempre più soggetta a rischio di riduzione, e alla conseguente necessità di progettare piani di conservazione. Per monitorare e proteggere un sistema, è infatti necessario che gli elementi che lo compongono siano noti, descritti, registrati col loro proprio nome e conservati (Casellato, 2003; Mazzotti, 2010).

Potenziare i dati disponibili sui *reef* e sulle specie in esso presenti può pertanto favorire la protezione di questo habitat nel bacino del Mediterraneo, dove la mancata salvaguardia è proprio ostacolata dalla lacuna di dati disponibili sullo sviluppo delle formazioni e sulla fauna ad essi associata.

## Conclusione

Tale ricerca condotta mediante un approccio multidisciplinare con analisi tassonomiche integrate da osservazioni di microscopia elettronica, microtomografia, analisi molecolari ed ecologiche, costituisce un esempio di come la tassonomia, integrata dall'applicazione di approcci multipli e innovativi, costituisca il fondamento della biologia utile allo studio della biodiversità su diversi livelli (diversità intra-specifica, inter-specifica, a livello di comunità), alla risoluzione di ambiguità tassonomiche e alla segnalazione di nuove specie in ambiente marino.

La migliore comprensione del ruolo che le formazioni possono svolgere nell'ecosistema ha contribuito a valorizzare tale habitat come struttura capace di apportare numerosi benefici all'ambiente in cui si sviluppa come l'aumento della complessità topografica, un ruolo nelle reti trofiche e soprattutto l'incremento della biodiversità locale. Una varietà di taxa, prevalentemente costituita da specie carnivore, è stata riportata in associazione ai *reef* testimoniando il ruolo delle formazioni come fonte di cibo e riparo per specie che apparse caratteristiche e preferenziali rendono tale habitat peculiare e meritevole di protezione. Pur essendo riconosciuti come patrimonio biologico e paesaggistico dalla Direttiva habitat, i *reef* edificati da *S. alveolata* nel Mediterraneo necessitano ancora di essere studiati e tutelati con eventuali sistemi di monitoraggio ed osservazioni a medio e lungo termine.

Caratterizzando la fauna al suo interno, la ricerca ha contribuito ad incrementare le informazioni sulla biodiversità interna al bacino del Mediterraneo ancora sottostimata, come testimoniato dalla prima segnalazione del polichete *E. ornata* che sottolinea le lacune esistenti nella conoscenza di molte specie marine e nella loro distribuzione nel bacino, probabilmente dovute a ritardi nell'applicazione della Direttiva Habitat da parte delle società scientifiche, come denunciato da un recente importante documento della Commissione Fauna dell'UZI, conseguenti all'odierna crisi delle pratiche tassonomiche e degli studi strettamente faunistici. Pur essendo strettamente correlate e pur costituendo un conservation value di interesse per la gestione ambientale, la biocostruzionalità e la biodiversità non sono infatti ancora attenzionate a livello nazionale e all'interno del bacino del Mediterraneo come invece avviene per le formazioni atlantiche.

## APPENDICE

### LEGISLAZIONE A TUTELA DELLA BIODIVERSITÀ IN AMBIENTE MARINO

La tutela e la conservazione degli ecosistemi, in termini di salvaguardia degli habitat e della diversità biologica in essi contenuti, sono divenuti, con gli anni e in ogni parte del mondo, un tema sempre più di interesse comune e considerato primario nelle politiche nazionali ed internazionali.

Negli ultimi decenni gli argomenti legati alla conservazione hanno riguardato soprattutto l'ambiente terrestre, mentre la biodiversità marina ha ricevuto scarsa attenzione nell'ambito delle convenzioni e degli accordi internazionali. All'interno degli habitat definiti prioritari ai sensi della Direttiva Habitat (92/43/CEE), gli habitat marini meritevoli di protezione sono infatti soltanto nove (Boero 2005). Tuttavia, come previsto dalla stessa Direttiva e dalla Strategia Nazionale per la Biodiversità (SNB), essendo gli habitat marino-costieri continuamente soggetti a minacce di natura antropica, è compito delle istituzioni adottare misure di conservazione per preservare la loro integrità e per arrestare il loro degrado.

Tra le convenzioni a carattere essenzialmente settoriale, che si limitano a disciplinare taluni tipi di inquinamento, va segnalata una rete di accordi regionali, comprendente la **Convenzione di Copenaghen** per l'inquinamento del Mare del Nord da idrocarburi (16 settembre 1971) e la **Convenzione di Oslo** sulla prevenzione dell'inquinamento per scarico da navi e aerei (15 febbraio 1972) in vigore in più di dieci paesi europei.

Nella panoramica degli interventi che si sono succeduti, la **Conferenza ONU di Stoccolma del 1972** è stato un momento significativo poiché ha stabilito che: "la conservazione della biodiversità degli habitat marini è fondamentale per garantire il mantenimento dei servizi ecosistemici dell'ambiente e per permettere un uso sostenibile delle risorse naturali. Preservare l'integrità della biodiversità nell'ottica di uno sviluppo sostenibile significa soddisfare i bisogni dell'attuale generazione, senza compromettere la capacità di quelle future di rispondere alle loro esigenze".

Il Protocollo di Londra è un documento ufficiale della **Convenzione di Londra**, promossa dall'IMO (*International Maritime Organization*) alla quale aderiscono oggi 86 Stati (fra cui l'Italia), allo scopo di prevenire l'inquinamento marino da scarico di rifiuti e da altri materiali pericolosi. L'Italia ha ratificato la Convenzione con legge 2 maggio 1983, n. 305, entrata in vigore nel 1984. Nel corso degli anni la Convenzione del 1972 è stata modificata fino al raggiungimento del Protocollo del 1996, non ancora in vigore, che si pone come sostitutivo dell'intera Convenzione, rappresentando un deciso mutamento

nell'approccio alla questione dell'utilizzazione del mare come deposito di materiali di scarto. Mentre la Convenzione del 1972 consente gli scarichi in mare, purché vengano rispettate determinate condizioni in rapporto ai rischi ambientali che i vari materiali di scarto comportano, il Protocollo del 1996 è assai più restrittivo, proibendo lo scarico di qualunque rifiuto o altra sostanza, ad eccezione di quelle elencate nell'Allegato 1.

La **Convenzione delle Nazioni Unite sul diritto del mare** (*United Nations Convention on the Law of the Sea*, UNCLOS) è un trattato internazionale (320 articoli) definito dopo una serie di Conferenze delle Nazioni Unite cominciate nel 1973 e conclusosi con la firma a Montego Bay, Giamaica, il 10 dicembre 1982. È entrato in vigore nel 1994, dopo la firma della Guyana come sessantesimo Stato contraente e definisce i diritti e le responsabilità degli Stati nell'utilizzo dei mari e degli oceani, definendo linee guida che regolano le trattative, l'ambiente e la gestione delle risorse naturali. In particolare, con l'art. 194, comma 5, vengono proposte misure di tutela per la protezione degli ecosistemi rari o delicati e per gli habitat di specie in diminuzione o in via di estinzione. Uno dei diritti concessi dalla Convenzione di Montego Bay allo Stato costiero consiste nell'istituzione di Zone di Protezione Ecologica (ZPE), zone di sovranità funzionale ove esercitare poteri finalizzati prevalentemente alla protezione dell'ambiente marino. Nel Mediterraneo, l'istituzione di Zone di Protezione Ecologica si è avuta per la prima volta in Francia con la legge 2003/306, mentre in Italia l'istituzione di Zone di Protezione Ecologica è stata prevista dalla legge 8 febbraio 2006 n. 61 che ne ha stabilito la creazione a partire dal limite esterno del mare territoriale e fino ai limiti concordati attraverso intese con gli altri Stati limitrofi ed entro cui applicare tutte le misure di prevenzione e repressione dell'inquinamento marino, nonché di protezione dei mammiferi, della biodiversità e del patrimonio archeologico e storico, conformemente a quanto previsto dalla Convenzione delle Nazioni Unite sul diritto del mare (UNCLOS) e dalla Convenzione Unesco del 2001 sulla protezione del patrimonio culturale subacqueo (*Convention on the protection of the underwater cultural heritage* - C.P.U.C.H.).

In Europa, la protezione delle acque marine di interesse comunitario, è stato disciplinato, inoltre, da quattro convenzioni marittime regionali, stipulate tra gli Stati membri e i paesi vicini che condividono risorse idriche comuni, allo scopo di sviluppare diverse reti di zone marine protette. Si tratta in particolare della **Convenzione OSPAR** del 1992 (*Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic*), l'attuale normativa che regola la cooperazione internazionale in materia di protezione dell'ambiente marino nell'Atlantico nordorientale,

firmata a Parigi nel 1992 ed entrata in vigore nel 1998, a cui aderiscono 16 Stati Europei e la Commissione Europea; della **Convenzione di Helsinki** (HELCOM) del 1992 per la zona del Mar Baltico, entrata in vigore il 17 gennaio 2000 per garantire la protezione dell'intera regione del Mar Baltico, comprese le acque interne; della **Convenzione di Bucarest** per il Mar Nero adottata dalla Conferenza omonima (Bucarest, 21-22 Aprile 1992), per il controllo delle fonti terrestri di inquinamento come lo scarico di rifiuti e programmazione di un'azione comune in caso di incidenti come le maree nere; e della **Convenzione di Barcellona** istituita nel 1976 al fine di proteggere dall'inquinamento il Mar Mediterraneo, considerato "area speciale" per le sue peculiarità ecologiche. Essa ha provveduto all'attuazione di protocolli specifici relativi alle aree protette, alle azioni a favore delle specie minacciate di estinzione e alla conservazione degli habitat. Tale convenzione è stata approvata con Decisione del Consiglio Europeo 25 luglio 1977, n. 77/585/CEE ma la ratifica da parte dell'Italia è avvenuta mediante la Legge n. 30 del 21 Gennaio 1979, modificata il 10 giugno 1995 con l'inclusione della pianificazione e gestione integrata della zona costiera. Lo strumento per attuare la Convenzione di Barcellona e le sue successive modifiche è costituito dal *Mediterranean Action Plan* (MAP). Attraverso il protocollo relativo alle Aree Specialmente Protette e alla Biodiversità nel Mediterraneo (Protocollo ASP), le Parti contraenti la Convenzione stabiliscono l'elenco di Aree Specialmente Protette di Importanza Mediterranea (ASPIM), al fine di promuovere la cooperazione nella gestione e conservazione delle aree naturali, nonché la protezione delle specie minacciate e dei loro habitat. Il protocollo ASP fornisce i criteri per la scelta delle aree marine protette e delle aree costiere che potrebbero essere incluse nell'elenco ASPIM (allegato I del Protocollo ASP) Ai sensi della Convenzione di Barcellona, il Canale di Sicilia è stato indicato come Zona di Protezione, specificandone, con apposite mappe, i siti ed i limiti delle aree su cui va prevista la tutela ambientale da parte sia dell'Italia che della Tunisia, in cui ricadono molte delle aree da proteggere.

Di particolare importanza nella tutela degli ambienti acquatici sono considerate la **Directive 2000/60/EC** o Direttiva Quadro sulle Acque (*Water Framework Directive* o **WFD**) del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000, il cui obiettivo è di garantire la protezione delle acque interne superficiali, di transizione, costiere e sotterranee, per prevenirne e ridurre l'inquinamento, promuoverne un utilizzo sostenibile, proteggere l'ambiente acquatico, migliorare le condizioni degli ecosistemi acquatici e mitigare gli effetti delle inondazioni e della siccità; e la **Directive 2008/56/EC** o Direttiva quadro sulla strategia per l'ambiente marino (*Marine Strategy Framework* o **MSFD**) del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 giugno 2008, che mira a conseguire un buono stato

ecologico delle acque marine entro il 2020, a garantire la protezione e la preservazione di tali acque e ad impedirne il deterioramento. Tale direttiva rappresenta il primo strumento legislativo dell'UE in materia di protezione della biodiversità marina. Sancisce all'interno di un quadro legislativo un approccio ecosistemico alla gestione delle attività umane che hanno un impatto sull'ambiente marino, integrando le nozioni di protezione dell'ambiente e di uso sostenibile. Tali direttive vincolano gli Stati Membri della UE nello sviluppo di strategie nazionali per la tutela degli ambienti acquatici includendo programmi di monitoraggio al fine di valutare e fornire, a livello regionale, una definizione di buono stato ambientale (*Good Environmental Status*, GES). Strumenti utili alla valutazione del GES sono stati identificati nei descrittori o indicatori ecologici i quali devono essere in grado di riassumere la complessità strutturale delle comunità. La Direttiva MSFD ha suddiviso le acque marine europee in 4 regioni: Mar Baltico, Oceano Atlantico nordorientale, Mar Mediterraneo e Mar Nero, e per alcune di queste ha provveduto ad un'ulteriore suddivisione individuando delle sotto-regioni. Nel Mediterraneo sono state individuate quattro sub-regioni (Mediterraneo occidentale, Mar Adriatico e Mar Ionio e Mediterraneo centrale) entro cui, entro il 2020, gli Stati devono elaborare una strategia marina e redigere un programma di misure concrete diretto al raggiungimento di un buono stato ambientale. Per effettuare le valutazioni previste, la direttiva ha sviluppato 11 descrittori che descrivono l'ecosistema una volta che il buono stato ambientale è stato raggiunto, attraverso lo studio della distribuzione, abbondanza e stato delle specie e degli habitat. La caratterizzazione delle aree da sottoporre a valutazione è dunque il primo passo da compiere per conoscere e valorizzare il patrimonio naturalistico del territorio, e dunque gestire e salvaguardare la biodiversità locale.

#### INTERPRETAZIONE E VALUTAZIONE SCOGLIERE 1170 NEL QUADRO NORMATIVO

Un approfondimento è stato rivolto all'individuazione e alla valutazione comunitaria del tipo di habitat 1170 "Scogliere", categoria di appartenenza dei *reef* di *Sabellaria*, con particolare riferimento alla Direttiva Habitat (92/43/CEE) e ai consecutivi Manuali d'interpretazione degli habitat dell'Unione Europea (EUR 25-28).

#### **Direttiva Habitat**

In riferimento all'Allegato I della Direttiva Habitat (92/43/CEE), le biocostruzioni di *Sabellaria alveolata* presenti nel Canale di Sicilia possono essere configurate come habitat di "scogliera" (*Reef* – codice Natura 2000 1170). Esse vengono elencate nell'Allegato I come "tipi di habitat naturali di interesse

comunitario la cui conservazione richiede la designazione di aree speciali di conservazione". Inserirle nella sezione 1 come Habitat costieri e vegetazione alofitiche, costituiscono uno degli otto habitat che caratterizzano le "acque marine e ambienti a marea". In realtà ad oggi i tipi habitat marini elencati nell'allegato 1 sono nove poiché ai suddetti habitat, si aggiungono con il cod. Natura 8330, le grotte marine sommerse o semisommerse (*Guidelines for the establishment of the Natura 2000 network in the marine environment*)

All'interno della stessa Direttiva Allegato 1, si rinviene alla lettura del Manuale d'interpretazione degli habitat dell'Unione Europea, al fine di ottenere suggerimenti per l'interpretazione dei tipi di habitat, come approvato dal Comitato Habitat all'articolo 20 e pubblicato dalla Commissione Europea.

### **Manuale d'interpretazione degli habitat dell'Unione Europea**

I reef costituiscono un tipo di habitat rivisto nel Manuale d'interpretazione degli habitat dell'Unione Europea EUR 27 (2007), documento di riferimento scientifico, mirato ad una migliore comprensione degli habitat inseriti nell' Allegato I. Basato sulla versione EUR 15 del 1999, tale manuale è stato aggiornato rispettivamente nel 2002 (EUR 25) in occasione dell'accesso di 10 nuovi paesi nell'Unione, nel 2007 (EUR 27) per l'ingresso di Romania e Bulgaria e per seguire le indicazioni sugli habitat marini riportati nel documento "*Guidelines for the establishment of the Natura 2000 network in the marine environment*."

*Application of the Habitats and Birds Directives*" e nel 2013 (EUR 28), per l'ingresso della Croazia e per correggere i riferimenti ai codici EUNIS per tre habitat marini.

All'interno della scheda di riferimento, i reef vengono indicati dal codice Natura 1170 e dal codice PAL.CLASS.: 11.24, 11.25, codice alla base del sistema di classificazione PHYSIS (Classificazione habitat regione Palearctica), nato come parte del manuale CORINE Biotopes nel 1986, e divenuto sistema di classificazione dell'intera regione palearctica ancora in fase di completamento e aggiornamento.

Al punto 1, viene fornita la definizione di reef e una descrizione della fauna e flora associata a questo habitat. In particolare, fino alla stesura del suddetto aggiornamento del manuale, il termine "scogliere" indicava fondamentalmente "substrati rocciosi e concrezioni biogeniche che si innalzano dal fondo marino". Tuttavia, considerata l'importanza di questo tipo di habitat per la designazione di siti d'importanza comunitaria in mare aperto ai sensi della direttiva "Habitat", era necessario un chiarimento al fine di includere tutti i diversi tipi di scogliere esistenti nelle acque europee. Pertanto, ad esse venne data la definizione di seguito riportata, arricchita da una sintetica spiegazione di ogni termine costituente la definizione stessa (vedere box):

#### **Definizione di Scogliere**

Le scogliere possono essere concrezioni di origine biogenica o geogenica. Sono substrati duri e compatti su fondi solidi e morbidi, che emergono dal fondo marino nella zona sublitoranea e litoranea. Le scogliere possono ospitare una zonazione di comunità bentoniche di alghe e specie animali nonché concrezioni e concrezioni corallogeniche.

#### **Spiegazione dei termini usati:**

- "Substrati duri e compatti": rocce (comprese rocce fresche, ad es. gesso), sassi e ciottoli (generalmente > 64 mm di diametro).
- "Concrezioni biogeniche": concrezioni, incrostazioni, concrezioni corallogeniche e distese di bivalvi provenienti da animali vivi o morti, vale a dire fondi biogenici duri che offrono habitat per specie epibiotiche.
- "Origine geogenica": scogliere formate da substrati non biogenici.
- "Che si innalzano dal fondo marino": la scogliera è topograficamente distinta dal fondo marino circostante.
- "Zona sublitoranea e litoranea": le scogliere possono estendersi dalla zona sublitoranea ininterrotta nella zona intercotidale (litoranea) o possono essere presenti solo nella zona sublitoranea, incluse le zone di acqua profonda, come la zona batiale.
- I substrati duri ricoperti da uno strato sottile e mobile di sedimento sono classificati come scogliere se la flora e la fauna associate sono dipendenti dal substrato duro piuttosto che dal sedimento soprastante.
- Laddove esiste una zonazione ininterrotta di comunità sublitoranee e litoranee, nella selezione dei siti deve essere rispettata l'integrità dell'unità ecologica.
- In questo complesso di habitat sono inclusi elementi topografici subtidali (monti marini, pareti rocciose verticali, scogli sommersi orizzontali, sporgenze, pendenze o rocce fresche piatte, rocce fratturate e distese di sassi e ciottoli.

Al punto 2, vengono indicate le specie animali e vegetali che possono essere definite caratteristiche dei reef. Tra le specie presenti, vengono riportate le specie appartenenti al genere *Sabellaria*. Per il Nord Atlantico (incluso il Mar del Nord) *Sabellaria spinulosa* e *Sabellaria alveolata*, mentre per il Mediterraneo *S. alveolata*, considerata esclusiva nel bacino occidentale.

Al punto 3, vengono riportate le categorie e i codici di riferimento dei reef usati da altri sistemi di classificazione europei. In particolare, si segnala la presenza di reef edificati dal polichete *Sabellaria alveolata* e *Sabellaria spinulosa* nei seguenti sistemi di classificazione:

#### **Sistema classificazione tedesco**

In Germania, la messa in opera della rete Natura 2000, per la designazione di siti di interesse comunitario (SIC) per la protezione e la conservazione degli habitat, è stata affidata agli Stati federati della Germania o Länder. Con la legge federale sulla conservazione della natura, integrante l'allegato I della direttiva Habitat dell'Unione Europea, tra i siti designati, sono stati identificati 91 tipi di habitat naturali e 282 specie animali e vegetali.

Tra essi con il codice 030209 vengono indicati i reef di *Sabellaria* del sublitorale Mare del Nord (*Sabellaria-Riff des Sublitorals der Nordsee*).

#### **Sistema classificazione adottato in Gran Bretagna e Irlanda**

Il sistema di classificazione nazionale degli habitat marini bentonici per la Gran Bretagna e l'Irlanda (*The National Marine Habitat Classification for Britain and Ireland*), costituisce uno dei sistemi di classificazione per habitat bentonici marini più completo attualmente in uso. Pubblicato come aggiornamento dei *JNCC's Marine Nature Conservation Review* (MNCR), istituiti nel 1987, al fine di fornire una versione riveduta della classificazione nazionale degli habitat marini bentonici e delle comunità ad esse associate per garantirne protezione, oggi è completamente compatibile e contribuisce alla classificazione habitat europea EUNIS. In Tabella 27 vengono fornite le informazioni necessarie all'identificazione dei reef di *Sabellaria*, presenti nella versione 04.05 del sistema di classificazione per Gran Bretagna e Irlanda. La classificazione è presentata in formato gerarchico secondo livelli di complessità crescenti indicati da codici 1-6: ambiente marino (livello 1), tipo di habitat vasto (livello 2), complessi di habitat (livello 3), complesso di biotopi (livello 4), biotopi e subbiotopi (livello 6) (Connor et al., 2004). Per ulteriori descrizioni dei codici di riferimento presenti, si rimanda alla lettura di Hendrick & Foster-Smith, 2006.

#### **Trilateral Wadden Sea Cooperation**

A partire dal 1978, Paesi Bassi, Germania e Danimarca hanno cooperato per proteggere il mare di Wadden, esteso dai Paesi Bassi fino alla Danimarca con l'istituzione della dichiarazione congiunta sulla protezione del mare di Wadden, firmata nel 1982 e aggiornata nel 2010. Obiettivo primario consisteva nel salvaguardare questo mare come entità ecologica importante per la ricchezza di flora e fauna, attraverso politiche comuni. I tre paesi hanno collaborato per la realizzazione di un programma di monitoraggio che copra l'intera area e che descriva l'intero ecosistema, chiamato TMap. A intervalli regolari, il monitoraggio viene ripetuto e aggiornato, l'ultima relazione di valutazione, Status Report Qualità (QSR), è stato pubblicato nel 2009 (<http://www.waddensea-secretariat.org/sites/default/files/downloads/qsr-2009.pdf>). Il Vol. 25, a cura di Vorberg, Fey & Jansen (2009) è interamente dedicato alla conoscenza degli habitat subtidali, tra i quali si elencano i reef di *Sabellaria*. Un programma di monitoraggio sulla comparsa e sullo sviluppo delle scogliere di *Sabellaria* è fortemente raccomandato ma non ancora adottato. Malgrado vengano indicate alcune località in cui il polichete edifica reef, i dati vengono considerati ancora insufficienti

Tab. 27 – Sistema di classificazione dei reef di *Sabellaria* adottato in Gran Bretagna e Irlanda

Title	Eunis Level	Broad Habitat Code	Habitat Complex Code	Biotope Complex Code	Biotope Code	Sub-biotope Code
Littoral sediment	2	LS				
Littoral biogenic reefs	3		LS.LBR			
Littoral <i>Sabellaria</i> honeycomb worm reefs	4			LS.LBR.Sab		
<i>Sabellaria alveolata</i> reefs on sand-abraded eulittoral rock	5				LS.LBR.Sab.Salv	
Infralittoral rock (and other hard substrata)	2	IR				
Moderate energy infralittoral rock	3		IR.MIR			
Kelp and red seaweeds (moderate energy infralittoral rock)	4			IR.MIR.KR		
<i>Sabellaria spinulosa</i> with kelp and red seaweeds on sand-influenced infralittoral rock	6					IR.MIR.KR.Lhyp.Sab
Circalittoral rock (and other hard substrata)	2	CR				
Moderate energy circalittoral rock	3		CR.MCR			
Circalittoral <i>Sabellaria</i> reefs (on rock)	4			CR.MCR.CSab		
<i>Sabellaria spinulosa</i> encrusted circalittoral rock	5				CR.MCR.CSab.Sspi	
<i>Sabellaria spinulosa</i> with a bryozoan turf and barnacles on silty turbid circalittoral rock	6					CR.MCR.CSab.Sspi.ByB
<i>Sabellaria spinulosa</i> , didemnids and other small ascidians on tide-swept moderately wave-exposed circalittoral rock	6					CR.MCR.CSab.Sspi.As
Sublittoral sediment	2	SS				
Sublittoral biogenic reefs on sediment	3		SS.SBR			
Polychaete worm reefs (on sublittoral sediment)	4			SS.SBR.PoR		
<i>Sabellaria spinulosa</i> on stable circalittoral mixed sediment	5				SS.SBR.PoR.SspiMx	
<i>Sabellaria alveolata</i> on variable salinity sublittoral mixed sediment	5				SS.SBR.PoR.SalvMx	

## Database EUNIS

Il database contiene informazioni riguardanti specie, tipi di habitat e siti. Secondo la classificazione di EUNIS, viene definito habitat “l’insieme di comunità animale e vegetale, elementi caratterizzanti l’ambiente biotico insieme a fattori abiotici che operano insieme ad una particolare scala”. All’interno della categoria reef cod. 1170, vengono inseriti 22 tipi di habitat di cui 3 tipi sono rappresentati da habitat edificati da specie di *Sabellaria*: A2.71 Littoral *Sabellaria*, A2.711 *Sabellaria alveolata reefs* on sand-abraded eulittoral rock, A4.22 *Sabellaria reefs* on circalittoral rock. Le Figure 2-5 riportano le corrispondenti schede di riferimento delle suddette categorie (Tab. 28-29-30-31).

Tab. 28 – Descrizione Codice identificativo A2.71 Littoral *Sabellaria*

Code EUNIS	Marine habitat	Littoral sediment	Littoral biogenic reefs	Littoral <i>Sabellaria reefs</i>	Sand-abraded eulittoral rock	Marine Habitat Classification for Britain and Ireland	Biodiversity Action Plan Priority Habitats (UK)
A2.71 Littoral <i>Sabellaria</i>	A					LS.LBR.Sab	
		A2					
			A2.7				
				A2.71			
A2.711 <i>Sabellaria alveolata reefs</i>					A2.711	LS.LBR.Sab.Salv	31

Tab. 29 – Descrizione Codice identificativo A4.22 *Sabellaria reefs* on circalittoral rock

Code EUNIS	Marine habitat	Circalittoral rock and other hard substrata	Atlantic and Mediterranean moderate energy circalittoral rock	<i>Sabellaria reefs</i> on circalittoral rock	Marine Habitat Classification for Britain and Ireland	Biodiversity Action Plan Priority Habitats (UK)
A4.22 <i>Sabellaria reefs</i> on circalittoral rock	A					
		A4				
			A4.2			
				A4.22	CR.MCR.CSab	36

Tab. 30 – Descrizione Codice identificativo A2.71 Littoral *Sabellaria*

Code EUNIS	Marine habitat	Littoral sediment	Littoral biogenic reefs	Littoral <i>Sabellaria reefs</i>	Sand-abraded eulittoral rock	Marine Habitat Classification for Britain and Ireland	Biodiversity Action Plan Priority Habitats (UK)
A2.71 Littoral <i>Sabellaria</i>	A					LS.LBR.Sab	
		A2					
			A2.7				
				A2.71			
A2.711 <i>Sabellaria alveolata reefs</i>					A2.711	LS.LBR.Sab.Salv	31

Tab. 31 – Descrizione Codice identificativo A4.22 *Sabellaria reefs* on circalittoral rock

Code EUNIS	Marine habitat	Circalittoral rock and other hard substrata	Atlantic and Mediterranean moderate energy circalittoral rock	<i>Sabellaria reefs</i> on circalittoral rock	Marine Habitat Classification for Britain and Ireland	Biodiversity Action Plan Priority Habitats (UK)
A4.22 <i>Sabellaria reefs</i> on circalittoral rock	A					
		A4				
			A4.2			
				A4.22	CR.MCR.CSab	36

## 5. BIBLIOGRAFIA

- Achary, G.P.K. (1969). Sabellariids as associates of other invertebrates and their role in the formation of benthic animal communities. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 11(1&2), 198-202.
- Achary, G.P.K. (1974). Polychaetes of the family Sabellariidae with special reference to their intertidal habitat. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 38, 442-455.
- Aguado, M.T., & San Martín, G.S. (2009). Phylogeny of Syllidae (Polychaeta) based on morphological data. *Zoologica Scripta*, 38(4), 379-402.
- Aguado, M.T., San Martín, G., & Siddall, M.E. (2012). Systematics and evolution of syllids (Annelida, Syllidae). *Cladistics*, 28(3), 234-250.
- Allen, E.J. (1915). Polychaeta of Plymouth and the South Devon coast, including a list of the Archiannelida. *Journal of the Marine biological Association of the United Kingdom*, 10(4), 592-646.
- Allen, J.H., Billings, I., Cutts, N., & Elliott, M. (2002). Institute of Estuarine & Coastal Studies (IECS) The University of Hull Cottingham Road Hull.
- Anderson, M.J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral ecology*, 26(1), 32-46.
- Artegiani, A., Paschini, E., Russo, A., Bregant, D., Raicich, F., & Pinardi, N. (1997). The Adriatic Sea general circulation. Part I: Air-sea interactions and water mass structure. *Journal of physical oceanography*, 27(8), 1492-1514.
- Arvanitidis, C. (2000). Polychaete fauna of the Aegean Sea: Inventory and New Information. *Bulletin of Marine Science*, 66(1), 73-96.
- Astraldi, M., Balopoulos, S., Candela, J., Font, J., Gacic, M., Gasparini, G.P., & Tintoré, J. (1999). The role of straits and channels in understanding the characteristics of Mediterranean circulation. *Progress in Oceanography*, 44(1), 65-108.
- Ataide, M.B., Venekey, V., Rosa Filho, J.S., & Dos Santos, P.J.P. (2014). Sandy reefs of *Sabellaria wilsoni* (Polychaeta: Sabellariidae) as ecosystem engineers for meiofauna in the Amazon coastal region, Brazil. *Marine Biodiversity*, 44(3), 403-413.
- Ayata, S.D., Ellien, C., Dumas, F., Dubois, S., & Thiébaud, É. (2009). Modelling larval dispersal and settlement of the reef-building polychaete *Sabellaria alveolata*: role of hydroclimatic processes on the sustainability of biogenic reefs. *Continental Shelf Research*, 29(13), 1605-1623.
- Ayata, S.D. (2010). Importance relative des facteurs hydroclimatiques et des traits d'histoire de vie sur la dispersion larvaire et la connectivité à différentes échelles spatiales (Manche, Golfe Gascogne) (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Aylagas, E., Borja, Á., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2014). Environmental status assessment using DNA metabarcoding: towards a genetics based marine biotic index (gAMBI). *PloS one*, 9(3), e90529.
- Baccetti, B., Baldaccini, N.E., Bedini, C., Brandmayr, P., Capanna, E., Chieffi, G., Cobolli, M., Ferraguti, M., Ghirardelli, E., Ghiretti, F., Giusti, F., Grigolo, A., Mainardi, D., Minelli, A., Papi, F., Parrinello, M., Ricci, N., Ruffo, S., Sarà, M., Scali, V., & Zullini, A. *Zoologia trattato italiano*. 1991 Grasso Ed., 2v. Badalamenti, F., D'Anna, G., & Riggio, S. (1991). Artificial reefs in the gulf of Castellammare (North-west Sicily): a case study. In *Artificial reefs in European seas*. Springer Netherlands, 75-96.

- Bakun, A. (1996). *Patterns in the Ocean: Ocean Processes and Marine Population Dynamics*. California, USA: University of California Sea Grant, San Diego, in cooperation with Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, La Paz, Baja California Sur, Mexico, 323 pp.
- Bakun, A. (1998). Ocean triads and radical interdecadal stock variability: bane and boon for fishery management science. In: *Reinventing Fisheries Management*. T.J. Pitcher, P.J.B. Hart and D. Pauly. London: Chapman & Hall, 331-358.
- Baldwin, A. (2014). *Polychaete Worms of British Columbia*.
- Bamber, R.N., & Irving, P.W. (1997). The differential growth of *Sabellaria alveolata* (L.) reefs at a power station outfall. *Polychaete research*, 17(3), 1-12.
- Barcelona Convention (1998). Revised Draft Classification of benthic marine Habitat Types for the Mediterranean Region. Unep (OCA)/Med WG.149%, Annex III.
- Barnard, J.L., & Karaman, G.S. (1991). The families and genera of marine gammaridean Amphipoda (except marine gammaroids) (Vol. 2). Australian Museum.
- Barnard, J.L. (1991). The families and genera of marine gammaridean Amphipoda (except marine gammaroids). Supplement 13 (Part 2). *Rec. Aust. Mus. Suppl.*, 13, 419-866.
- Becker, P.T., Lambert, A., Lejeune, A., Lanterbecq, D., & Flammang, P. (2012). Identification, characterization, and expression levels of putative adhesive proteins from the tube-dwelling polychaete *Sabellaria alveolata*. *The Biological Bulletin*, 223, 217-225.
- Bellan, B.G. (1964). Contribution a l'étude systématique, bionomique et écologique des Annélides Polychètes de la Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume*, 49(33), 1-371.
- Bellan-Santini, D., & Ruffo, S. (2003). Biogeography of benthic marine Amphipods in Mediterranean Sea. *Biogeographia*, 273-292.
- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., Rapp, B.A., & Wheeler, D.L. (2000). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 28, 15-18.
- Benson, A., Foster-Smith, B., Gubbay, S., et al. (2013). Background Document for *Sabellaria spinulosa* reefs. OSPAR's vision of a clean, healthy and biological diverse North-east Atlantic used sustainably. OSPAR Commission Report. Publication Number: 614/2013, 1-24.
- Bentley, M.G., & Pacey, A.A. (1992). Physiological and environmental control of reproduction in polychaetes. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 30, 443-481.
- Béranger, K., Mortier, L. & Crépon, M. (2005). Seasonal variability of water transport through the Straits of Gibraltar, Sicily and Corsica derived from a highresolution model of the Mediterranean circulation. *Progress in Oceanography* 66, 341-364.
- Bergström, E. (1914). Zur Systematik der Polychætenfamilie der Phyllodociden. *Zoologiska bidrag från Uppsala*. 3, 37-224.
- Bianchi, C.N. (2001). La bioconstruzione negli ecosistemi marini e la biologia marina italiana. *Biologia Marina Mediterranea*, 8(1), 112-130.
- Bianchi, C.N. (2004). Proposta di suddivisione dei mari italiani in settori biogeografici. *Notiziario della Società Italiana di Biologia Marina*, 46, 57-59.
- Bianchi, C.N. (2007). Biodiversity issues for the forthcoming tropical Mediterranean Sea. *Hydrobiologia*, 580(1), 7-21.

- Bianchi, C.N. & Morri, C. (1996). Ficopomatus 'reefs' in the Po River Delta (Northern Adriatic): their constructional dynamics biology, and influences on the brackish-water biota. *Marine Biology*, 17 (1-3), 51-66.
- Bianchi, C.N., & Morri, C. (2003). Global sea warming and "tropicalization" of the Mediterranean Sea: biogeographic and ecological aspects. *Biogeographia*, 24, 319-328.
- Bianchi, C.N., Morri, C., Chiantore, M., Montefalcone, M., Parravicini, V., & Rovere, A. (2012). Mediterranean Sea biodiversity between the legacy from the past and a future of change. *Life in the Mediterranean Sea: a look at habitat changes*. New York: Nova Science Publishers, 1-55.
- Biondi, E., Blasi, C., Burrascano, S., Casavecchia, S., Copiz, R., Del Vico, E., Galdenzi, D., Gigante, D., Lasen, C., Spampinato, G., Venanzoni, R. & Zivkovic, L. (2010). Manuale italiano di interpretazione degli habitat (Direttiva 92/43/CEE).
- Boero, F., Bussotti, S., D'ambrosio, P., Fraschetti, S., Guidetti, P., & Terlizzi, A. (2005). Biodiversità e Aree Marine Protette. *Biologia Marina Mediterranea*, 12(1), 1-22.
- Boncagni, P., Fianchini, A., & Gravina, M.F. (2011). Macrozoobenthic assemblage in two aquatic coastal ecosystems of Albania. *Thalassia Salentina*, 33(1), 39-52.
- Bonn Convention (1979). [www.cms.int](http://www.cms.int).
- Bonse, S., Schmidt, H., Eibye-Jacobsen, D., & Westheide, W. (1996). *Eulalia viridis* (Polychaeta: Phyllodoctidae) is a complex of two species in northern Europe: Results from biochemical and morphological analyses. *Cahiers de Biologie Marine*, 37, 33-48.
- Braeckman, U., Rabaut, M., Vanaverbeke, J., Degraer, S., & Vincx, M. (2014). Protecting the commons: the use of subtidal ecosystem engineers in marine management. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 24(2), 275-286.
- Bray, J.R., & Curtis, J.T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, 27(4), 325-349.
- Bremec, C., & Lana, P.C. (1994). New records of Sabellariidae (Annelida, Polychaeta) from Argentina. *Neritica*, 8(1-2), 47-53.
- Brinkmann, N., & Wanninger, A. (2010). Integrative analysis of polychaete ontogeny: cell proliferation patterns and myogenesis in trochophore larvae of *Sabellaria alveolata*. *Evolution & development*, 12(1), 5-15.
- Browne, K.A., & Zimmer, R.K. (2001). Controlled field release of a waterborne chemical signal stimulates planktonic larvae to settle. *The Biological Bulletin*, 200(1), 87-91.
- Caley, M., Carr, M., Hixon, M., Hughes, T., Jones, G. & Menge, B. (1996). Recruitment and the local dynamics of open marine populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 477-500.
- Caline, B.C., Gruet, Y., Legendre, C., Le Rhun, J., L'Homer, A., Mathieu, R., & Zbinden, R. (1992). The Sabellariid Reefs in the Bay of Mont Saint-Michel, France; Ecology, Geomorphology, Sedimentology and Geologic Implications. *Contributions to Marine Science*, 1, 1-256.
- Cantone, G., Cormaci, M., Fassari, G., Furnari, G., Galluzzo, G., Pavone, P., & Brigandi, S. (1980). Primi dati sul fouling del porto di Catania. *Thalassia Salentina*, 10, 3-44.
- Capa, M., Hutchings, P. & Peart, R. (2012). Systematic revision of Sabellariidae (Polychaeta) and their relationships with other polychaetes using morphological and DNA sequence data. *Zoological journal of the Linnean Society*, 2012, 164, 245-284.

- Capa, M., Faroni-Perez, L., & Hutchings, P. (2015). Sabellariidae from Lizard Island, Great Barrier Reef, including a new species of *Lygdamis* and notes on external morphology of the median organ. *Zootaxa*, 4019(1), 184-206.
- Casellato, S. (2003). Le collezioni storiche per confrontare la biodiversità passata con quella presente: il caso delle collezioni marine della stazione idrobiologica di Chioggia. *Biologia Marina Mediterranea*, 10(2), 1061-1063.
- Castelli, A., Bianchi, C.N., Cantone, G., Çinar, M.E., Gambi, M.C., Giangrande, A., Iraci Sareri, D., Lanera, P., Licciano, M., Musco, L., Sanfilippo, R., & Simonini, R. (2008). Annelida Polychaeta. In Relini G. (ed) Checklist della Flora e della Fauna dei Mari Italiani (Parte I). *Biologia Marina Mediterranea*, 15 (S1), 323-373.
- Castro, P. & Hubert, M.E. (2011). *Biologia marina* (edizione italiana a cura di Sandulli R., Giaccone G. e Tursi A.). McGraw-Hill Companies, Milano, 517 pp.
- Cazaux, C. (1964). Développement larvaire de *Sabellaria alveolata* (Linné). *Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco*, 62(1296), 1-15.
- Chemello, R. (2009). Le biocostruzioni marine in Mediterraneo. Lo stato delle conoscenze sui reef a vermeti. *Biologia Marina Mediterranea*, 16(1), 2-18.
- Çinar, M.E. (2013). Polychaetes (Annelida, Polychaeta) associated with *Posidonia oceanica* (L.) Delile along the coasts of Turkey and Northern Cyprus. In First national workshop on *Posidonia oceanica*, 77-95.
- Çinar, M.E., & Gönlügür-Demirci, G. (2005). Polychaete assemblages on shallow-water benthic habitats along the Sinop Peninsula (Black Sea, Turkey). *Cahiers de Biologie Marine*, 46, 253-263.
- Çinar, M.E., Dagli, E. & Açık, S. (2011). Annelids (Polychaeta and Oligochaeta) from the Sea of Marmara, with descriptions of five new species. *Journal of Natural History*, 45(33-34), 2105-2143.
- Çinar, M.E., Dağlı, E., & Şahin, G.K. (2014). Checklist of Annelida from the coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), 734-764
- Çinar, M.E., Dali, E., Çağlar, S., & Albayrak, S. (2015). Polychaetes from the northern part of the Sea of Marmara with the description of a new species of *Polydora* (Annelida: Polychaeta: Spionidae). *Mediterranean Marine Science*, 16(3), 524-532.
- Clarke, K.R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian journal of ecology*, 18(1), 117-143.
- Clarke, K.R., & Gorley, R.N. (2006). *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth. 192 pp.
- Cole, V.J., & Chapman, M.G. (2007). Patterns of distribution of annelids: taxonomic and spatial inconsistencies between two biogeographic provinces and across multiple spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*, 346, 235-241.
- Clarke, K.R., & Warwick, R.M. (1994). *An approach to statistical analysis and interpretation. Change in marine communities*, 2.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Nike Bianchi, C., Corbera, J., Dailianis, T., Danovaro, R., Estrada, M., Frogliani, C., Galil, B. S., Gasol, J. M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., Kitsos, M.S., Koukouras, A., Lampadariou, N., Laxamana, E., López-Fé de la Cuadra, C.M., Lotze, H.K., Martin, D., Mouillot, D., Oro, D., Raicevich, S., Rius-Barile, J., Saiz-Salinas, J.I., San Vicente, C., Somot, S., Templado, J., Turon, X., Vafidis, D., Villanueva, R., & Voultsiadou, E. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS ONE*, 5 (8), e11842. doi: 10.1371/journal.pone.0011842.

- Connor, D.W., Allen, J.H., Golding, N., Howell, K.L., Lieberknecht, L.M., Northen, K.O., & Reker, J.B. (2004). The Marine Habitat Classification for Britain and Ireland. Version 04.05. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough. [www.jncc.gov.uk/MarineHabitatClassification](http://www.jncc.gov.uk/MarineHabitatClassification)
- Consiglio d'Europa (1979). Convenzione relativa alla conservazione della vita selvatica e dell'ambiente naturale in Europa.
- Culloty, S.C., Favier, E., Riada, M.N., Ramsay, N.F., & O'Riordan, R.M. (2010). Reproduction of the biogenic reef-forming honeycomb worm *Sabellaria alveolata* in Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90(03), 503-507.
- Cunningham, P.N., Hawkins, S.J., Jones, H.D., & Burrows, M.T. (1984). The biogeography and ecology of *Sabellaria alveolata*. Nature Conservancy Council CSD report, n° 535.
- Cunningham, P.N., Hawkins, S.J., Jones, H.D., & Burrows, M.T. (1984). The geographical distribution of *Sabellaria alveolata* (L.) in England, Wales and Scotland, with investigations into the community structure of, and the effects of trampling on *Sabellaria alveolata* colonies. Report to the Nature Conservancy Council from the Department of Zoology, Manchester University, Manchester, 1-38.
- Cuttitta A., Carini V., Patti B., Bonanno A., Basilone G., Mazzola S., Garcia Lafuente J., Garcia A., Buscaino G., Aguzzi L., Rollandi L., Morizzo G., & Cavalcante C. (2003). Anchovy egg and larval distribution in relation to biological and physical oceanography in the Strait of Sicily. *Hydrobiologia* 503, 117-120.
- Dales, R.P. (1967). Annelids. Vol. 94. Hutchinson University Library, 200 pp.
- Dauvin, J.C., Dewarumez, J.M., & Gentil, F. (2003). Liste actualisée des espèces d'Annélides Polychètes présentes en Manche. *Cahiers de Biologie Marine*, 44, 67-95.
- Dauvin, J.C., & Delhay, J.B. (2010). First record of *Hemigrapsus takanoi* (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) on the western coast of northern Cotentin, Normandy, western English Channel. *Marine Biodiversity Records*, 3, e101, doi: 10.1017/S1755267210000928
- Day, J. (1967). A Monograph on the Polychaeta of Southern Africa: Errantia.-pt. 2. Sedentaria (No. 656). British Museum, 878 pp.
- De Falco, G., Molinaroli, E., Baroli, M., & Bellaciccob, S. (2003). Grain size and compositional trends of sediments from *Posidonia oceanica* meadows to beach shore, Sardinia, western Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58(2), 299-309.
- De Grave, S., & Whitaker, A. (1997). The occurrence of a subtidal *Sabellaria alveolata* (L.) reef off Wicklow Head, Irish Sea. *The Irish Naturalists' Journal*, 416-418.
- Delbono, I., Bianchi, C.N., & Morri, C. (2003). Le biocostruzioni di *Sabellaria alveolata* come indicatori ambientali: area costiera fra Chiavari e Sestri Levante. In: Ferretti O. (Ed.) *Studi per la Creazione di Strumenti di Gestione costiera: Golfo del Tigullio*. ENEA, Centro Ricerche Ambiente Marino, La Spezia, 130-140.
- Denitto, F., Terlizzi, A., & Belmonte, G. (2007). Settlement and primary succession in a shallow submarine cave: spatial and temporal benthic assemblage distinctness. *Marine Ecology*, 28(s1), 35-46.
- Desroy, N., Dubois, S.F., Fournier, J., Ricquiers, L., Mao, P.L., Guerin, L., Gerla, D., Rougerie, M., & Legendre, A. (2011). The conservation status of *Sabellaria alveolata* (L.) (Polychaeta: Sabellariidae) reefs in the Bay of Mont-Saint-Michel. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21, 462-471.
- Dias, A.S., & Paula, J. (2001). Associated fauna of *Sabellaria alveolata* colonies on the central coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom*, 80, 169-170.

- Dinley, J., Hawkins, L., Paterson, G.L.J., Ball, A.D., Sinclair, I., Sinnott-Jones, P., & Lanham, S. (2010). Micro-computed X-ray tomography: a new non-destructive method of assessing sectional, fly-through and 3D imaging of a soft-bodied marine worm. *Journal of Microscopy*, 238, 123-33.
- Dorgham, M.M., Hamdy, R., Al-Rashidy, H.H, Atta, M.M., & Musco, L. (2014). Distribution patterns of shallow water polychaetes (Annelida) along the coast of Alexandria, Egypt (Eastern Mediterranean). *Mediterranean Marine Science*, 15 (3), 635-649.
- Dos Santos, A.S., Riul, P., Brasil, A.C.D.S., & Christoffersen, M.L. (2011). Encrusting Sabellariidae (Annelida: Polychaeta) in rhodolith beds, with description of a new species of *Sabellaria* from the Brazilian coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91(02), 425-438.
- Dos Santos, A.S., Brasil, A.C., & Christoffersen, M.L. (2014). *Sabellaria* and *Lygdamis* (Polychaeta: Sabellariidae) from reefs off northeastern Brazil including a new species of *Sabellaria* - *Zootaxa* 3881 (2), 125-144.
- Drago, A., & Sorgente, R. (2010). Sea temperature, salinity and total velocity climatological fields for the Central Mediterranean. GCP/RER/010/ITA/MSM-TD-14, MedSudMed Technical Documents, 14, 35 pp.
- Dubois, S., Retière, C., & Olivier, F. (2002). Biodiversity associated with *Sabellaria alveolata* (Polychaeta: Sabellariidae) reefs: effects of human disturbances. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom*, 82, 817-826.
- Dubois, S., Barille, L., & Retière, C. (2003). Efficiency of particle retention and clearance rate in the polychaete *Sabellaria alveolata* L. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 413-42.
- Dubois, S., Barillé, L., Cognie, B., & Beninger, P.G. (2005). Particle capture and processing mechanisms in *Sabellaria alveolata* (Polychaeta: Sabellariidae). *Marine Ecology Progress Series*, 301, 159-171.
- Dubois, S., Commito, J.A., Olivier, F., & Retière, C. (2006). Effects of epibionts on *Sabellaria alveolata* (L.) biogenic reefs and their associated fauna in the Bay of Mont Saint-Michel. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68, 635-646.
- Dubois, S., Comtet, T., Retière, C., & Thiébaud, E. (2007). Distribution and retention of *Sabellaria alveolata* larvae (Polychaeta: Sabellariidae) in the Bay of Mont-Saint-Michel, France. *Marine Ecology Progress Series*, 346, 243-254.
- Dubois, S., Barillé, L., & Cognie, B. (2009). Feeding response of the polychaete *Sabellaria alveolata* (Sabellariidae) to changes in seston concentration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 376, 94-101.
- Ebling, F.J. (1945). Formation and Nature of the opercular chaetae of *Sabellaria alveolata*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 153-176.
- Echavarrri-Erasun, B., Juanes, J.A., García-Castrillo, G., & Revilla, J.A. (2007). Medium-term responses of rocky bottoms to sewage discharges from a deepwater outfall in the NE Atlantic. *Marine pollution bulletin*, 54(7), 941-954.
- Eckelbarger, K.J. (1976). Larval development and population aspects of the reef-building polychaete *Phragmatopoma lapidosa* from the east coast of Florida. *Bulletin of Marine Science*, 26, 117-132.
- Eibye-Jacobsen, D. (1989). Notes on some problems in the determination of Phyllodocidae (Polychaeta) from the North Sea. In *Taxonomy of the North Sea Benthos. Proceedings of a workshop organized in Helgoland (February 1988)*, Heip C. & Niermann U. (Eds). DIHO Yerseke (NL) publ., 39-49.
- Eibye-Jacobsen, D. (1991). Observations on setal morphology in the Phyllodocidae (Polychaeta: Annelida), with some taxonomic considerations. *Bulletin of Marine Science*, 48(2), 530-543.

- Eklöf, J. (2010). Taxonomy and Phylogeny of Polychaetes. *Intellecta Infolog*, Göteborg, 33 pp.
- Ellien, C., Thiébaud, E., Dumas, F., Salomon, J. C., & Nival, P. (2004). A modelling study of the respective role of hydrodynamic processes and larval mortality on larval dispersal and recruitment of benthic invertebrates: example of *Pectinaria koreni* (Annelida: Polychaeta) in the Bay of Seine (English Channel). *Journal of Plankton Research*, 26(2), 117-132.
- Ergen, Z., & Çınar, M.E. (1997). Polychaeta of Antalya Bay (Mediterranean coast of Turkey). *Israel Journal of Zoology*, 43(3), 229-241.
- EU, 1992. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Flora and Fauna. Official Journal of the European Communities. L206, 0007-0050. (<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1992L0043:20070101:EN:PDF>)
- Fagerstrom, J.A. (1987). The evolution of reef communities. John Wiley & Sons, New York, 600 pp.
- Faroni-Perez, L., Helm, C., Burghardt, I., Hutchings, P., & Capa, M. (2016). Anterior sensory organs in Sabellariidae (Annelida). *Invertebrate Biology*, 135(4), 423-447.
- Fauchald, K. (1977). The Polychaete worms. Definitions and keys to the Orders, Families and Genera. Natural History Museum of Los Angeles Country. Science Series, 28, 1-190.
- Fauchald, K., & Jumars, P.A. (1979). The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. Aberdeen University Press. Vol. 17, 193-284.
- Fauchald, K., & Rouse, G. (1997). Polychaete systematics: past and present. *Zoologica Scripta*, 26(2), 71-138.
- Faulwetter, S., Dailianis, T., Vasileiadou, A., & Arvanitidis, C. (2012). Investigation of contrast enhancing techniques for the application of Micro-CT in marine biodiversity studies. In: SkyScan MicroCT User meeting 2012. SkyScan, Brussels, Belgium, 12-20.
- Faulwetter, S., Dailianis, T., Vasileiadou, A., & Arvanitidis, C. (2013). Contrast enhancing techniques for the application of micro-CT in marine biodiversity studies. *Microscopy and analysis*, 27(2), S4-S7.
- Faulwetter, S., Minadakis, N., Keklikoglou, K., Doerr, M., & Arvanitidis, C. (2015). First steps towards the development of an integrated metadata management system for biodiversity-related micro-CT datasets. In Bruker microCT User Meeting.
- Fausto-Filho, J., & Furtado, E. (1970). Nota preliminar sobre a fauna das colonias de Sabellariidae do littoral do Estado do Ceara (Annelida, Sedentaria). *Revista Brasileira de Biologia* 30, 285-289.
- Fauvel, P. (1923). Faune de France. Polychètes Errantes. Paul Lechevalier, Paris, 5, 1-488.
- Fauvel, P. (1927). Faune de France:| tome 16: polychètes sédentaires| Addenda aux errantes, archiannélides, myzostomaires. Paul Lechevalier. Paris, 1-494.
- Fauvel, P. (1936). Contribution a la faune des Annélides Polychètes du Maroc. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles du Maroc*, 43, 1-143.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Firth, L.B., Mieszkowska, N., Grant, L.M., Bush, L.E., Davies, A.J., Frost, M.T. & Hawkins, S.J. (2015). Historical comparisons reveal multiple drivers of decadal change of an ecosystem engineer at the range edge. *Ecology and evolution*, 5(15), 3210-3222.

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5), 294-299.
- Friedrich, M., & Tautz, D. (1997). Evolution and phylogeny of the Diptera: a molecular phylogenetic analysis using 28S rDNA sequences. *Systematic. Biology journal*, 46, 674-698.
- Gambi, M.C., Giangrande, A., & Frascchetti, S. (1996). Policheti dei fondi mobili del golfo di Policastro (Mar Tirreno meridionale): distribuzione e ruolo di alcune specie. *Proceedings of Società Italiana di Ecologia*, 17, 349-3.
- Garcin, M., & Vachard, D. (1994). Récifs, trottoirs et autres biolithosores du bassin de San Miguel de Salinas. In *Regional Committee on Mediterranean Neogene Stratigraphy (RCMNS)*, 14 pp.
- Garofalo, G., Fiorentino, F., Gristina, M., Cusumano, S., & Sinacori, G. (2007). Stability of spatial pattern of fish species diversity in the Strait of Sicily (central Mediterranean). *Hydrobiologia*, 580, 117-124.
- Gasparini, G.P., Ortona, A., Budillon, G., Astraldi, M., & Sansone, E. (2005). The effect of the Eastern Mediterranean Transient on the hydrographic characteristics in the Strait of Sicily and in the Tyrrhenian Sea. *Deep-Sea Research Part I. Oceanographic Research Papers*, 52 (6), 915-935.
- George, C.L., & Warwick, R.M. (1985). Annual macrofauna production in a hard-bottom reef community. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 65, 713-735.
- Giangrande, A. (1988). Polychaete zonation and its relation to algal distribution down a vertical cliff in the western Mediterranean (Italy): a structural analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 120, 263-276.
- Giangrande, A. (1997). Polychaete reproductive patterns, life cycles and life histories: an overview. *Oceanography and Marine Biology*, 35, 323-386.
- Giangrande, A., Delos, A.L., Frascchetti, S., Musco, L., Licciano, M., & Terlizzi, A. (2003). Polychaete assemblages along a rocky shore on the South Adriatic coast (Mediterranean Sea): patterns of spatial distribution. *Marine Biology*, 143(6), 1109-1116.
- Giangrande, A., Licciano, M., Lezzi, M., Caruso, L.P.G., Musco, L., & Miglietta, A.M. (2015). La collezione degli Anellidi Policheti del Museo di Biologia Marina "Pietro Parenzan". *Università del Salento. Museologia Scientifica*, 9, 52-56.
- Gravier, C. (1906). Un Sabellarien vivant sur un Brachiopode (*Kingenia alcocki* Joubin). *Bulletin du Museum d'Histoire Naturelle, Paris*, 12, 540-543.
- Gruet, Y. (1970). Faune associée des récifs édifiés par l'annélide *Sabellaria alveolata* (Linné) en baie du Mont Saint-Michel: banc des Hermelles. *Memoires de la Société des Sciences de Cherbourg*, 54, 21 pp.
- Gruet, Y. (1971). Morphologie croissance et faune associée des récifs de *Sabellaria alveolata* (Linne) de la Bernerie-Retz (Loire Atlantique). *Tethys* 3, 321-380.
- Gruet, Y. (1972). Aspects morphologiques et dynamiques de constructions de l'Annelide polychete *Sabellaria alveolata* (Linne). *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 36(2), 131-161.
- Gruet, Y. (1972b). Faune associée de 'récifs' d'Hermelles Polychète Sabellaridé: *Sabellaria alveolata* (Linné): cas de récifs morts à Crève coeur (La Bernerie, Loire Atlantique). *Bull Soc Sc Bretagne* 47, 69-80.
- Gruet, Y. (1977). Peuplements de la côte rocheuse de Sion-sur-l'Océan (Vendée) et faune associée aux «récifs» d'hermelles [*Sabellaria alveolata* (Linné), Annelide Polychète]. *Bull Ecol* 8, 37-55.

- Gruet, Y. (1982). Recherches sur l'écologie des " récifs " d'Hermelles édifiés par l'Annélide Polychète *Sabellaria alveolata* (Linne) (Doctoral dissertation).
- Gruet, Y. (1984). Granulometric evolution of the sand tube in relation to growth of the Polychaete Annelid *Sabellaria alveolata* (Linne) (Sabellariidae). *Ophelia* 23, 181-193.
- Gruet, Y. (1986). Spatio-temporal Changes of Sabellarian reefs Built by the Sedentary Polychaete *Sabellaria alveolata* (Linne). *Marine Ecology* 7, 303-319.
- Gruet, Y., & Baudet, J. (1997). Mortalites massives subies par les populations du Polychaete *Sabellaria alveolata* (Linne) du delta de maree de Fromentine (Vendee) suite a des froids exceptionnels. *Bulletin de la Societe de Sciences naturelles de l'Ouest de la France*, tome 19, 19-28.
- Gruet, Y., & Bodeur, Y. (1994). Selection des grains de sable selon leur nature et leur forme par *Sabellaria alveolata* Linne (Polychaete Sabellariidae) lors de la reconstruction experimentale de son tube. In *Actes de la 4eme Conference Internationale des Polychaetes; Memoirs de Musee Nationale Histoire Naturelle*, Dauvin JC, Laubier L, Reish DJ (eds). Paris, 425-432.
- Gruet, Y., & Bodeur, Y. (1995). Ecological Conditions of Modern Sabellarian Reefs Development: Geological implications. *Publications du Service geologique du Luxembourg, Proceedings of the 2nd European Regional Meeting on reefs in the past, present and future, ISRS*, 29, 73-80.
- Gruet, Y., & Bodeur, Y. (1997). Les récifs d'Hermelles. Les biocenoses marines et littorales francaises des cotes atlantique, manche et mer du nord, synthèse, menaces et prospective. Paris Service du Patrimoine Naturel/IEGB/MNHN Paris, 168-176.
- Gruet, Y., & Lassus, P. (1983). Contribution a letude de la biologie reproductive d'une population naturelle de l'annelide polychaete *Sabellaria alveolata* (Linne). *Annales de L'Institut Oceanographique*, 59, 127-140.
- Gruet, Y., Vovelle, J. & Grasset, M. (1987). Composante biominerale du ciment du tube chez *Sabellaria alveolata* (L.) Annelide Polychete. *Canadian Journal of Zoology*, 65, 837-842.
- Gustavsson, L.M. (2001). Comparative study of the cuticle in some aquatic oligochaetes (Annelida: Clitellata). *Journal of morphology*, 248(2), 185-195.
- Gustavsson, L.M., & Erséus, C. (2000). Cuticular ultrastructure in some marine oligochaetes (Tubificidae). *Invertebrate Biology*, 119(2), 152-166.
- Hartman, O. (1959). Catalogue of the polychaetous annelids of the world. Allan Hancock Foundation Publications, Occasional Paper, 23, 1-628.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & DeWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Heip, C., & Niermann, U. (1989). Taxonomy of North Sea benthos. Proceedings of a workshop organized in Helgoland, 8-12 Februarv 1988. Delta Institute. Yerseke
- Hendrick, V.J., & Foster-Smith, R.L. (2006). *Sabellaria spinulosa* reef: a scoring system for evaluating 'reefiness' in the context of the Habitats Directive. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86(04), 665-677.
- Holt, T.J., Rees, E.I., Hawkins, S.J. & Seed, R. (1998). Biogenic Reefs. An overview of dynamic and sensitivity characteristics for conservation management of marine sacs. *Scottish Association for Marine Science (UK MARine SACs Project)*, 170 pp.
- Hutchings, P.A. (2000). Family Sabellariidae. Polychaetes and allies: the southern synthesis. *Fauna of Australia*, 4, 215-218.

- Hutchings, P., Capa, M. & Peart, R. (2012). Revision of the Australian Sabellariidae (Polychaeta) and description of eight new species. *Zootaxa*, 3306, 1-6.
- Hwang, U.W., Kim, W., Tautz, D., & Friedrich, M. (1998). Molecular phylogenetics at the Felsenstein zone: approaching the Strepsiptera problem using 5.8S and 28S rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9, 470-480.
- Imajima, M. (2003). Polychaetous annelids from Sagami Bay and Sagami Sea collected by the Emperor Showa of Japan and deposited at the Showa Memorial Institute, National Science Museum, Tokyo (II): orders included within the Phyllodocida, Amphinomida, Spintherida and Eunicida. *National Science Museum Monographs*, 23, 1-221.
- Johnston, G. (1865). A Catalogue of the British non-parasitical worms in the collection of the British Museum. Order of the Trustees. British Museum, London, 365 pp.
- Jones, C.G., Lawton, J.H., & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69, 373-386.
- Jumars, P.A., Dorgan, K.M. & Lindsay, S.M. (2015). Diet of worms emended: An update of Polychaete feeding guilds. *Annual Review of Marine Science*, 7, 497-520.
- Keklikoglou, M.K., Faulwetter, S., Chatzigeorgiou, M.G., Badalamenti, F., Kitsos, M.S., & Arvanitidis, C. (2013). MidMedPol: Polychaetes from midlittoral rocky shores in Greece and Italy (Mediterranean Sea). *Biodiversity data journal*, (1), e961. doi:<https://doi.org/10.3897/BDJ.1.e961> PubMed.
- Keklikoglou, K., Faulwetter, S., Chatzinikolaou, E., Michalakis, N., Filiopoulou, I., Minadakis, N., & Arvanitidis, C. (2016). Micro-CTvlab: A web based virtual gallery of biological specimens using X-ray microtomography (micro-CT). *Biodiversity data journal*, (4).
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Kirtley, D.W., & Tanner, W.F. (1968). Sabellariid worms: builders of a major reef type. *Journal of Sedimentary Research*, 38(1), 73-78.
- Kirtley, D.W. (1994). A review and taxonomic revision of the family Sabellariidae Johnston, 1865 (Annelida; Polychaeta). Sabecon Press, Science Series number 1, 1-223.
- Krapp-Schickel, G., & Ruffo, S. (1990). Marine amphipods of the Canary Islands with description of a new species of *Elasmodon*. *Miscel lània Zoològica*, 14, 53-58.
- Kruskal, J. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness-of-fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29, 1-27.
- Kurt Şahin, G., & Çinar, M.E. (2012). A checklist of polychaete species (Annelida: Polychaeta) from the Black Sea. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 18 (1), 10-48.
- Lana, P.C., & Gruet, Y. (1989). *Sabellaria wilsoni* sp. n. (Polychaeta, Sabellariidae) from the southeast coast of Brazil. *Zoologica Scripta*, 18(2), 239-244.
- La Porta, B., Lattanzi, L., La Valle, P., Panfili, M., Targusi, M. & Nicoletti, L. (2006). Studio del popolamento a Policheti di fondi mobili del Tirreno Centrale. *Biologia Marina Mediterranea*, 13 (2), 188-189.
- La Porta, B., La Valle, P., & Gusso, C.C. (2006). *Sabellaria alveolata* (L.) (Polychaeta Sabellariidae): La selezione dei granuli di sedimento per la costruzione dei tubi. *Biologia Marina Mediterranea*, 13 (1), 593-596.

- La Porta, B., & Nicoletti, L. (2009). *Sabellaria alveolata* (L.) reefs in the central Tyrrhenian Sea (Italy) and associated polychaete fauna. *Zoosymposia*, 2, 527-536.
- La Porta, B., Targusi, M., Lattanzi, L., La Valle, P., & Nicoletti, L. (2009). Analisi della fauna associata alle biocostruzioni a *Sabellaria alveolata* (L.) in relazione al loro stato di conservazione. In 40 Congresso SIBM Livorno. *Biologia Marina Mediterranea*, 16 (1), 36-38.
- Lagadeuc, Y. (1992). Répartition verticale des larves de *Pectinaria koreni* en baie de Seine orientale: influence sur le transport et le recrutement. *Oceanologica acta*, 15(1), 95-104.
- Largier, J. (2003). Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecological Applications*, 13, 71-89.
- Latella, L., & Salmaso, R. (2009). Materiali esotici nelle collezioni della sezione di Zoologia del Museo Civico di Storia Naturale di Verona. *Memorie del museo civico di storia naturale di Verona*. 2. Serie. *Monografie Naturalistiche* 4.
- Lermusiaux, P.F.J., & Robinson, A.R. (2001). Features of dominant mesoscale variability, circulation patterns and dynamics in the Strait of Sicily. *Deep Sea Research I*, 48, 1953-1997.
- Lechapt, J.P., & Kirtley, D.W. (1996). *Bathysabellaria spinifera* (Polychaeta: Sabellariidae), a new species from deep water off New Caledonia, southwest Pacific Ocean. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 109(3), 560-574.
- Lezzi, M., Cardone, F., Mikac, B., & Giangrande, A. (2015). Variation and ontogenetic changes of opercular paleae in a population of *Sabellaria spinulosa* (Polychaeta: Sabellaridae) from the South Adriatic Sea, with remarks on larval development. *Scientia Marina*, 79(1), 137-150.
- Licciano, M., Caforio, S., & Giangrande, A. (2002). Anellidi Policheti come indicatori di qualità ambientale. P. I. C. Interreg II Italia Grecia. *Le raccolte scientifiche*. Ed. Pensa Multimedia, 1-453.
- Licher, F. (1999). Revision der Gattung *Typosyllis* Langerhans, 1879 (Polychaeta: Syllidae). *Morphologie, Taxonomie und Phylogenie*. *Abh Senckenb Naturforsch Ges*, 551, 1-336.
- Lincoln, R.J. (1979). *British marine amphipoda: Gammaridea* (No. 818). British Museum (Natural History).
- Maddock, A. (2008). UK Biodiversity Action Plan; Priority Habitat Descriptions. UK Biodiversity Action Plan, 94 pp.
- Marzialetti, S., Nicoletti, L., & Ardizzone, G.D. (2009). The polychaete community of the Fregene artificial reef (Tyrrhenian Sea, Italy): a 20-year study (1981-2001). *Zoosymposia*, 2, 551-566.
- Mastrodonato, M., Lepore, E., Gherardi, M., Zizza, S., Sciscioli, M., & Ferri, D. (2005). Histochemical and ultrastructural analysis of the epidermal gland cells of *Branchiomma luctuosum* (Polychaeta, Sabellidae). *Invertebrate Biology*, 124(4), 303-309.
- Mayes, E. (2012). *Natura Impact Statement for the proposed wastewater discharge licence, Arklow, Co. Wicklow*.
- Mazzotti, S. (2010). Biodiversità e collezioni museali. Gestione e fruizione del patrimonio scientifico e storico del patrimonio italiano. *Sezione di Museologia Scientifica e Naturalistica*, 5, 21-41.
- McIntosh, W.C. (1908). *A monograph of the British Annelids. Part I. Polychaeta, Nephthydidae to Syllidae*. Ray Soc., London, 232 pp.
- Mettam, C. (1992). The influence of *Sabellaria* reef on sublittoral community structure. *Polychaete research newsletter*, 14, 1-3.

- Meyer, C.P. (2003). Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79(3), 401-459.
- Michel, C. (1977). Tissular localization of the digestive proteases in the sedentary polychaetous annelid *Sabellaria alveolata*. *Marine Biology*, 44(3), 265-273.
- Mikac, B. (2015). A sea of worms: polychaete checklist of the Adriatic Sea. *Zootaxa*, 3943 (1), 1-172.
- Molinier, R., & Picard, J. (1953). Notes biologiques à propos d'un voyage d'étude sur les côtes de Sicile. Masson. In *Annales de l'Institut Oceanographique*, Vol. 28, No. 4, 163-188.
- Morri, C., Cagnoli, E., & Bianchi, C.N. (1992). Distribuzione delle comunità marine bentiche tra La Spezia e Livorno. *Atti Assoc. Ital. Oceanol. Limnol*, 9, 363-377.
- Musco, L., Cavallo, A., & Giangrande, A. (2004). I Sillidi (Annelida, Polychaeta) del litorale brindisino: possibilità di un loro impiego come indicatori di qualità dell'ambiente. *Thalassia salentina*, 27, 161-174.
- Musco, L., & Giangrande, A. (2005). Mediterranean Syllidae (Annelida: Polychaeta) revisited: species diversity, biogeography and faunal fidelity to environmental features. *Marine Ecology Progress Series*, 304, 143-153.
- Musco, L. (2012). Ecology and diversity of Mediterranean hard-bottom Syllidae (Annelida): a community-level approach. *Marine Ecology Progress Series*, 461, 107-119.
- Mussat Sartor, R., Nurra, N., & Pessani, D. (2007). *Ephesiella cantonei* e *Marphysa fallax* (Annelida: Polychaeta): prime segnalazioni per il Mar Ligure. *Biologia Marina Mediterranea*, 14(2), 322-323.
- Nahuelhual, E., Carcedo, C., & Fiori, S. (2012). Fauna asociada a los arrecifes de *Sabellaria nanella* (Sabellariidae) en el intermareal de Monte Hermoso, Argentina. *BioScriba*, 5, 43-48.
- Napolitano, E., Sannino, G., Artale, V., & Marullo, S. (2003). Modeling the baroclinic circulation in the area of the Sicily channel: The role of stratification and energy diagnostics. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 108(C7), 3230, doi: 10.1029/2002JC001502.
- Naylor, L.A., & Viles, H.A. (2000). A temperate reef builder: an evaluation of the growth, morphology and composition of *Sabellaria alveolata* (L.) colonies on carbonate platforms in South Wales. *Geological Society, London, Special Publications*, 178(1), 9-19.
- Nicoletti, L., Lattanzi, L., La Porta, B., La Valle, P., Gambi, M.C., Tomassetti, P., & Chimenz Gusso, C. (2001). Biocostruzioni a *Sabellaria* delle coste del Lazio (Tirreno centrale). *Biol Mar Med*, 8(1), 252-258.
- Nishi, E., & Núñez, J. (1999). A new species of shallow water Sabellariidae (Annelida: Polychaeta) from Madeira Island, Portugal, and Canary Islands, Spain. *Arquipélago. Life and Marine Sciences* 17, 37-42.
- Nishi, E., Kato, T. & Hayashi, I. (2004). *Sabellaria tottoriensis* n. sp. (Annelida: Polychaeta: Sabellariidae) from shallow water off Tottori, the Sea of Japan. *Zoological Science*, 21, 211-217.
- Nishi, E., Bailey-Brock, J.H., Dos Santos, A.S., Tachikawa, H., & Kupriyanova, E.K. (2010). *Sabellaria isumiensis* n. sp. (Annelida: Polychaeta: Sabellariidae) from shallow waters off Onjuku, Boso Peninsula, Japan, and re-descriptions of three Indo-West Pacific sabellariid species. *Zootaxa*, 2680, 1-25.
- Nishi, E., Matsuo, K., Capa, M., Tomioka, S., Kajihara, H., Kupriyanova, E.K., & Polgar, G. (2015). *Sabellaria jeramae*, a new species (Annelida: Polychaeta: Sabellariidae) from the shallow waters of Malaysia, with a note on the ecological traits of reefs. *Zootaxa*, 4052(5), 555-568.
- Olive, P.J.W. (1992). The adaptive significance of seasonal reproduction in marine invertebrates: the importance of distinguishing between models. *Invertebrate Reproduction & Development*, 22(1-3), 165-174.

- Pappas, J.L. (2006). Biological taxonomic problem solving using fuzzy decision-making analytical tools. *Fuzzy sets and systems*, 157(12), 1687-1703.
- Parapar, J., & Hutchings, P.A. (2015). Redescription of *Terebellides stroemii* (Polychaeta, Trichobranchidae) and designation of a neotype. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 95(2), 323-337.
- Paterson, G.L., Sykes, D., Faulwetter, S., Merk, R., Ahmed, F., Hawkins, L.E., & Arvanitidis, C. (2014). The pros and cons of using micro-computed tomography in gross and micro-anatomical assessments of polychaetous annelids. *Mem Mus Victoria*, 71, 237-46.
- Pearce, B. Taylor, J. & Seiderer, L.J. (2007). Recoverability of *Sabellaria spinulosa* following aggregate extraction. Marine Ecological Surveys Limited.
- Pearce, B., Hill, J.M., Grubb, L., & Harper, G. (2011). Impacts of marine aggregate dredging on adjacent *Sabellaria spinulosa* aggregations and other benthic fauna. Marine Aggregates Levy Sustainability Fund MEPF, 8, 1-39.
- Pearson, K. (1896). Mathematical Contributions to the Theory of Evolution. III. Regression, Heredity and Panmixia”, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series A*, 253-318.
- Pechenik, J. (1999). On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series*, 177, 269-297.
- Pérès, J.M., & Picard, J. (1964). Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Recueil des Travaux de la Station Marine d'Endoume*, 31(47), 5-137.
- Piccioni, A., Gabriele, M., Salusti, E., & Zambianchi, E. (1988). Wind-induced upwellings off the southern coast of Sicily. *Oceanologica Acta*, 11(4), 309-314.
- Pielou, E.C. (1974). *Population and community ecology, principles and methods*. Gordon and Breach. Science Pub., New York, 1-425.
- Pleijel, F. (1991). Phylogeny and classification of the Phyllodocidae. *Zoologica Scripta*, 20, 225-261.
- Pleijel, F. (1993). Polychaeta Phyllodocidae. *Marine Invertebrates of Scandinavia*, 8, 1-159.
- Pleijel, F., & Dales, R.P. (1991). Polychaetes: British Phyllodocoideans, Typhloscolecoideans and Tomopteroideans: keys and notes for the identification of the species. *Synopses of the British Fauna, New Series*, 45, 1-202.
- Plicanti, A., Iacofano, D., Bertocci, I., & Lo Brutto, S. (2016). The amphipod assemblages of *Sabellaria alveolata* reefs from the NW coast of Portugal: An account of the present knowledge, new records, and some biogeographic considerations. *Marine Biodiversity*, 47(2), 521-534.
- Pohler, S.M. (2004). The sabellariid worm colonies of Suva Lagoon, Fiji. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 22(1), 36-42.
- Porras, R., Bataller, J.V., Murgui, E., & Torregrosa, M.T. (1996). Trophic structure and community composition of polychaetes inhabiting some *Sabellaria alveolata* (L.) reefs along the Valencia Gulf Coast, western Mediterranean. *PSZNI Marine Ecology*, 17, 583-602.
- Posey, M.H., Pregnall, A.M., & Graham, R.A. (1984). A brief description of a subtidal sabellariid (Polychaeta) reef on the southern Oregon coast. *Pacific Science*, 38(1), 28-33.
- Poulain, P.M. (2001). Adriatic Sea surface circulation as derived from drifter data between 1990 and 1999. *Journal of Marine Systems*, 29(1), 3-32.

- Poulain, P.M. & Zambianchi, E. (2007). Surface circulation in the central Mediterranean Sea as deduced from Lagrangian drifters in the 1990s. *Continental Shelf Research* 27, 981-1001.
- Procaccini, G., Buia, M.C., Gambi, M.C., Perez, M., Pergent, G., Pergent-Martini, C., & Romero, J. (2003). The Seagrasses of the western Mediterranean. In: Green E.P., Short F.T. *World Atlas of Seagrasses*. University of California (eds). Berkeley, USA, 48-58.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21, 1864-1877.
- Rabaoui, L., Tlig-Zouari, S., Cosentino, A., & Hassine, O.K.B. (2009). Associated fauna of the fan shell *Pinna nobilis* (Mollusca: Bivalvia) in the northern and eastern Tunisian coasts. *Scientia Marina*, 73(1), 129-141.
- Read, G., & Fauchald, K. (2015). World Polychaeta database. World Register of Marine Species. [www.marinespecies.org](http://www.marinespecies.org), accessed on 2015.12.22.
- Rebele, F. (1994). Urban ecology and special features of urban ecosystems. *Global ecology and biogeography letters*, 173-187.
- Reitzel, A.M., Miner, B.G., & McEdward, L.R. (2004). Relationships between spawning date and larval development time for benthic marine invertebrates: a modeling approach. *Marine Ecology Progress Series*, 280, 13-23.
- Relini, G. (2009). *Biocostruzioni Marine. Elementi di Architettura Naturale*. Museo Friuliano di Storia Naturale. Udine.
- Robinson, A.R., Sellschopp, J., Warn-Varnas, A., Leslie, W.G., Lozano, C. J., Haley, P.J., & Lermusiaux, P.F.J. (1999). The Atlantic Ionian stream. *Journal of Marine Systems*, 20(1), 129-156.
- Rouhi, A., Sif, J., Ferssiwi, A., & Chemaa, A. (2007). Bioaccumulation de quelques éléments métalliques par deux espèces d'Annélides Polychètes du littoral de Jorf Lasfar (région d'El Jadida, Maroc). *Bull. Inst. Sci.*, 81-87.
- Rouse, G.W., & Pleijel F. (2001). *Polychaetes*. Oxford University Press, Oxford, 347 pp.
- Rouse, G.W., & Pleijel, F. (2006). *Reproductive biology and phylogeny of Annelida*. Science Publishers.
- Ruffo, S. (Ed.) (1982-1998). *The Amphipoda of the Mediterranean*. Mem Inst Océanogr Monaco 13 (I-XXV), 1-959.
- Şahin, G.K., & Çınar, M.E. (2012). A checklist of polychaete species (Annelida: Polychaeta) from the Black Sea. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 18(1), 10-48.
- Saint-Joseph, A. (1888). Les annélides polychètes des côtes de Dinard. Seconde partie. In: *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Paléontologie*. Paris. Série 7, 5(2), 422 pp.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-Joining method - a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Samaniego, L.G.S. & Borroy, R.S. (2012). Distribution of soft-bottom polychaetes assemblages at different scales in shallow waters of the northern mediterranean Spanish coast, 168 pp.
- Sandulli, R. (2012). Biocostruzioni del Mar Mediterraneo: un patrimonio poco conosciuto. *Uomo e Natura*, 4, 25-38.
- San Martín, G. (1984). Biogeography of the Syllidae (Polychaeta) from the Spanish Mediterranean coasts. In: Hutchings PA (ed.) *Proc 1st Int Polychaete Conf*. Sydney. The Linnean Society of New South Wales, Sydney, 303-322.

- San Martín, G. (2003). Annelida, Polychaeta II: Syllidae. En: Fauna Iberica, vol. 21. Ramos, M.A. et al. (Eds.), Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid, 554 pp.
- Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949). The mathematical theory of communication. The University of Illinois Press, Urbana, 117 pp.
- Shepard, R.N. (1962). The analysis of proximities: Multidimensional scaling with an unknown distance function. I. Psychometrika, 27(2), 125-140.
- Schimmenti, E., Lo Brutto, S., Badalamenti, F., Giangrande, A., Mikac, B., & Musco, L. (2015). DNA-Barcoding to solve the tricky case of co-occurring *Sabellaria* (Annelida) species in the Mediterranean Sea. *Biologia Marina Mediterranea*, 22(1), 109-110.
- Schimmenti, E., Musco, L., Lo Brutto, S., Mikac, B., Nygren, A., & Badalamenti, F. (2016). A Mediterranean record of *Eulalia ornata* (Annelida: Phyllodocidae) corroborating its fidelity link with the *Sabellaria alveolata*-reef habitat. *Mediterranean Marine Science*, 359-370.
- Schlund, E., Basuyaux, O., Lecornu, B., Pezy, J.P., Baffreau, A., & Dauvin, J.C. (2016). Macrofauna associated with temporary *Sabellaria alveolata* reefs on the west coast of Cotentin (France). *SpringerPlus*, 5(1), 1260-1281.
- Serrano, A., & Preciado, I. (2006). Environmental factors structuring polychaete communities in shallow rocky habitats: role of physical stress versus habitat complexity. *Helgoland Marine Research*, 61, 17-29.
- Simboura, N., & Zenetos, A. (2002). Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Mediterranean Marine Science*, 3(2), 77-111.
- Simpson, E.H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688.
- Solís-Weiss, V., Bertrand, Y., Helléouet, M.N. & Pleijel, F. (2004). Types of polychaetous annelids at the Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. *Zoosystema*, 26(3), 377-384.
- Sparla, M.P., D'Anna, G., & Riggio, S. (1992). Notes on the development and invertebrate colonization of *Sabellaria alveolata* reefs in N/W Sicily. *Rapports de la Commission Internationale pour la Mer Méditerranée*, 33, 53.
- Sveshnikov, V.A. (1985). The life-history of the polychaetes (Polychaeta). *Issledovaniya Fauny Morei* 3, 112-117.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
- Taramelli-Rivosecchi, E. (1961). Osservazioni sulle biocenosi del banco a *Sabellaria* di Lavinio. *Rendiconti Accademia Nazionale delle scienze detta dei XL. Memoire di Matematica*, 4, 147-154.
- Thurston, M.H. & Allen, E. (1969). Type material of the families Lysianassidae, Stegocephalidae, Ampeliscidae and Haustoriidae (Crustacea: Amphipoda) in the collections of the British Museum (Natural History). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Zoology*, 17, 349-388.
- Tilic, E., Hausen, H., & Bartolomaeus, T. (2014). Chaetal arrangement and chaetogenesis of hooded hooks in *Lumbrineris (Scoletoma) fragilis* and *Lumbrineris tetraura* (Eunicida, Annelida). *Invertebrate biology*, 133(4), 354-370.
- Tilic, E., & Bartolomaeus, T. (2016). Structure, function and cell dynamics during chaetogenesis of abdominal uncini in *Sabellaria alveolata* (Sabellariidae, Annelida). *Zoological letters*, 2(1), 1-18.

- Tryon, R.C. (1939). Cluster analysis: Correlation profile and orthometric (factor) analysis for the isolation of unities in mind and personality. Edwards brother, Incorporated, lithoprinters and publishers, 122 pp.
- Viéitez, J.M., Alós, C., Parapar, J., Besteiro, C., Moreira, J., Núñez, J., Laborda, J., & San Martín, G. (2004). Annelida Polychaeta I. In: *Fauna Iberica*. Vol. 25. Ramos M.A. et al. (Eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid, 530 pp.
- Vorberg, R. (1995). On the decrease of sabellarian reefs along the German North Sea coast. *Publications du Service géologique de Luxembourg*, 24, 87-93.
- Vorberg, R. (2000). Effects of shrimp fisheries on reefs of *Sabellaria spinulosa* (Polychaeta). *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 57(5), 1416-1420.
- Vorberg, R., Fey, F., & Jansen, J. (2009). Subtidal habitats (No. 13). Thematic Report, 18 pp.
- Vovelle, J. (1965). Le tube de *Sabellaria alveolata* (L.): annélide polychète Hermellidae et son ciment: étude écologique, expérimentale, histologique et histochimique. Université, Faculté des Sciences, 106, 1-180.
- Warwick, R.M. (1993). Environmental impact studies on marine communities: pragmatical considerations. *Austral Ecology*, 18(1), 63-80.
- Westheide, W. (1974). Interstitielle Fauna von Galapagos. 11. Pisionidae, Hesionidae, Pilargidae, Syllidae (Polychaeta). *Akademie der Wissenschaften und der Literatur*, 44, 1-146.
- Whiting, M.F. (1998). Phylogenetic position of the Strepsiptera: review of molecular and morphological evidence. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 27(1), 53-60.
- Wilson, D.P. (1929). The larvae of the British sabellarians. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom (New Series)*, 16(01), 221-268.
- Wilson, D. (1968a). The settlement behaviour of the larvae of *Sabellaria alveolata* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 48: 387-435.
- Wilson, D. (1968b). Some aspects of the development of eggs and larvae of *Sabellaria alveolata* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 48, 367-386.
- Wilson, D. (1970). Additional observations on larval growth and settlement of *Sabellaria alveolata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 50, 1-31.
- Wilson, D. (1971). *Sabellaria* colonies at Duckpool, North Cornwall, 1961-1970. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 51, 509-580.
- Wood, R. (1999). Reef evolution. Oxford University Press, New York, 414 pp.
- Zale, A.V., & Merrifield, S.G. (1989). Species Profiles. Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (South Florida). Reef-Building Tube Worm. Oklahoma Cooperative Fish and Wildlife Research Unit Stillwater, 12 pp.
- Zardoya, R., Costas, E., López-Rodas, V., Garrido-Pertierra, A., & Bautista, J.M. (1995). Revised dinoflagellate phylogeny inferred from molecular analysis of large-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 41, 637-645.

DATABASE:

GENBANK. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

E. SCHIMMENTI, S. LO BRUTTO, F. BADALAMENTI<sup>1</sup>, A. GIANGRANDE<sup>2</sup>,  
B. MIKAC<sup>1</sup>, L. MUSCO<sup>1</sup>

Dipartimento STeBiCeF, Sezione di Biologia Animale, Università di Palermo,  
Via Archirafi, 18 - 90123 Palermo, Italia.  
sabrina.lobrutto@unipa.it

<sup>1</sup>CNR-IAMC, Castellammare del Golfo (TP), Italia.

<sup>2</sup>DiSTeBA, Università del Salento, Lecce, Italia.

## DNA-BARCODING TO SOLVE THE TRICKY CASE OF CO-OCCURRING *SABELLARIA* (ANNELIDA) SPECIES IN THE MEDITERRANEAN SEA

### DNA-BARCODING PER LA CORRETTA IDENTIFICAZIONE DELLE SPECIE DEL GENERE *SABELLARIA* (ANNELIDA) IN MEDITERRANEO

**Abstract** - Intraspecific morphological variation of key taxonomic features is probably responsible for frequent misidentification of *Sabellaria* (Lamarck, 1818) species. This is the case of *Sabellaria alcocki* Gravier, 1906 whose Mediterranean records probably refer to juveniles of *S. spinulosa* (Leuckart, 1849). We hereby provide molecular tools (DNA barcoding) to improve correct delimitation of the Mediterranean species of this genus.

**Key-words:** *Polychaeta*, *Sabellaria alveolata*, *Sabellaria spinulosa*, *Sabellaria alcocki*, COI.

**Introduction** - *Sabellaria* (Lamarck, 1818) species are gregarious tube-builder polychaetes which produce complex reefs representing valuable and diverse habitats in coastal areas (La Porta & Nicoletti, 2009). Today three *Sabellaria* species are recorded for the Mediterranean Sea: *S. alveolata* (L., 1767), *S. spinulosa* (Leuckart, 1849) and *S. alcocki* Gravier, 1906 (Castelli *et al.*, 2008). This last is a valid species but according to several authors it is exclusive of the Indian Ocean and its Mediterranean records should be carefully revised (Lezzi *et al.*, 2015). The operculum is of paramount taxonomic importance for *Sabellaria* species identification, but its intraspecific variation, especially during development, may lead to confusion. This is the case of *S. spinulosa* showing remarkable variation in operculum morphology during development to a level that juveniles of this species resemble *S. alcocki*. These facts lead to hypothesize that Mediterranean records of *S. alcocki* could refer to juveniles of *S. spinulosa* (Lezzi *et al.*, 2015). During faunal characterization of *Sabellaria* reefs in Sicily, *S. alveolata*, *S. spinulosa* and some small specimens resembling *S. alcocki* in operculum features (*sensu* Kirtley, 1994) were collected. As the discriminatory power of DNA analysis is especially valuable in case of morphological identification of species leading to confusion (Landi *et al.*, 2014), we used DNA barcoding to correctly delimiting the studied species, thus providing a tool to avoid future misidentification of *Sabellaria* species in the Mediterranean area.

**Materials and methods** - Twenty-four core samples of *Sabellaria* reefs were collected in June 2013 at 3 Sicilian locations (Donnalucata, Eraclea Minoa, Triscina) at 1.5-3 m depth. The specimens of *Sabellaria* were counted and identified to species level. A 610 base pairs (bp) fragment of the COI gene and a 308 bp of the nuclear 28S rDNA region were sequenced for *S. alveolata*, *S. spinulosa* and *S. cf. alcocki*. The sequences were deposited in GenBank and compared with a public COI sequence of *S. spinulosa* (A.N. KF808174) collected in the eastern Atlantic. Measuring of COI genetic distances was

based on K2P model. A Neighbor Joining tree was built, its nodes are supported by a high proportion (>90%) of replicates in the bootstrap analysis.

**Results** - As a whole 17361 *Sabellaria* specimens were collected; *S. alveolata* was dominant at each station, followed by *S. spinulosa* (Donnalucata 3724 vs. 42; Triscina 10167 vs. 65; Eraclea Minoa 3350 vs. 13 individuals, respectively). Though rare specimens per station were identified as *S. cf. alcocki*, the COI sequences of *S. spinulosa* and *S. cf. alcocki* matched (Fig. 1). Both haplotypes clustered with the Atlantic *S. spinulosa*, though showing a discrete genetic differentiation which could be caused by a geographic isolation. Within the *spinulosa*-clade the distances were less than 0.9%; while the inter-species distance was estimated more than 2% supporting the species delimitation between the *alveolata* vs. *spinulosa* group. In 28S sequences only a single transition mutation occurred between *S. alveolata* and *S. spinulosa*.

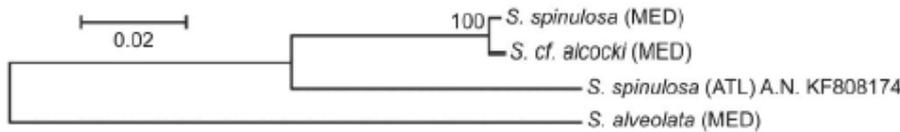


Fig. 1 - NJ tree constructed on the K2P model from COI sequences. MED: collected in the central Mediterranean; ATL: collected in the Atlantic.

Albero NJ costruito sul modello K2P da sequenze di COI. MED: raccolto in Mediterraneo; ATL: raccolto in Atlantico.

**Conclusions** - To our knowledge we herein provide the first COI sequences allowing molecular identification of *S. alveolata* and Mediterranean *S. spinulosa* specimens. We confirm that identification of *Sabellaria* spp. only based on morphology may lead to misidentification. Our results strengthen the hypothesis that *S. alcocki* records in the Mediterranean Sea probably derive from misidentification with *S. spinulosa* juveniles, and that the former species is not present in the area (Lezzi *et al.*, 2015). Combination of morphological and molecular taxonomic approaches may further contribute to solve problems due to species misidentification.

#### References

- CASTELLI A., BIANCHI C.N., CANTONE G., ÇINAR M.E., GAMBÌ M.C., GIANGRANDE A., IRACI S., LANERA P., LICCIANO M., MUSCO L., SANFILIPPO R., SIMONINI R. (2008) - Annelida Polychaeta. *Biol. Mar. Mediterr.*, 15: 323-373.
- KIRTLEY D.W. (1994) - A review and taxonomic revision of the family Sabellariidae Johnston, 1865 (Annelida; Polychaeta). Sabecon Press, Science Ser. N. 1: 223 pp.
- LANDI M., DIMECH M., ARCULEO M., BIONDO G., MARTINS R., CARNEIRO M., CARVALHO G.R., LO BRUTTO S., COSTA F.O. (2014) - DNA barcoding for species assignment: the case of Mediterranean marine fishes. *PLoS One*, 9 (9), doi: 10.1371/journal.pone.0106135.
- LA PORTA B., NICOLETTI L. (2009) - *Sabellaria alveolata* (Linnaeus) reefs in the central Tyrrhenian Sea (Italy) and associated polychaete fauna. *Zoosymposia*, 2: 527-536.
- LEZZI M., CARDONE F., MIKAC B., GIANGRANDE A. (2015) - Variation and ontogenetic changes of opercular paleae in a population of *Sabellaria spinulosa* (Polychaeta: Sabellariidae) from the South Adriatic Sea, with remarks on larval development. *Sci. Mar.*, 79 (1): 137-150.

## Mediterranean record of *Eulalia ornata* (Annelida: Phyllococidae) corroborating its fidelity link with the *Sabellaria alveolata* reef habitat

E. SCHIMMENTI<sup>1</sup>, L. MUSCO<sup>2</sup>, S. LO BRUTTO<sup>1</sup>, B. MIKAC<sup>2</sup>, A. NYGREN<sup>3</sup> and F. BADALAMENTI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Animal Biology Section, STeBiCeF, University of Palermo, Via Archirafi 18, Palermo, Italy

<sup>2</sup> Laboratory of Marine Ecology, CNR-IAMC, Via G. Da Verrazzano 17, Castellammare del Golfo (TP), Italy

<sup>3</sup> Göteborg University, Sjöfartsmuseet Akvariet, Karl Johansgatan 1-3, 41459 Göteborg, Sweden

Corresponding author: [luigi.musco@cnr.it](mailto:luigi.musco@cnr.it)

Handling Editor: Melih Cinar

Received: 9 September 2015; Accepted: 27 November 2015; Published on line: 2 March 2016

### Abstract

Among marine habitats, *Sabellaria alveolata* reefs deserve protection as they provide important ecosystem services and are advantageous for the biodiversity. Several marine species are listed among the *S. alveolata* reef-associated fauna, but characteristic species have been only seldom reported, with the exception of *Eulalia ornata* (Annelida: Phyllococidae), which is common/abundant in the *S. alveolata* reefs of the Eastern Atlantic. The most evident geographical mismatch in the distributions of *E. ornata* and these biogenic reefs occurs in the Mediterranean Sea, where *S. alveolata* reefs are commonly found, but *E. ornata* has never been recorded. However, *E. viridis*, a non-Mediterranean species, was previously listed among the dominant reef-associated taxa. The faunal characterization of the sabellarid reefs along the Sicily Channel revealed an *Eulalia* species as the dominant taxon associated with that habitat. A taxonomical approach integrated with DNA bar-coding and comparisons with closely related species helped us determine *E. ornata* as a new species for the Mediterranean Sea. We have described the patterns of abundance and distribution and corroborated its status as a preferential species in the *S. alveolata* reef habitat. Focusing on the biology and ecology of *E. ornata* will enable us to better understand the dynamics and functioning of this valuable European shallow marine habitat.

**Keywords:** Bio-construction, bar-coding, new record, Mediterranean sea, *Sabellaria alveolata*, characteristic species, *Eulalia viridis*, *Eulalia clavigera*.

### Introduction

*Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767) (Annelida: Sabellariidae) is a gregarious tube-dwelling polychaete that is commonly referred to as a bio-constructor. Under particular environmental conditions (i.e. moderate hydrodynamics with high suspended sediment load, low salinity and availability of hard substrates), this species builds reefs by assembling tubes with sand, grains and shell fragments (Dubois *et al.*, 2005, 2006; La Porta & Nicoletti, 2009; Desroy *et al.*, 2011; Becker *et al.*, 2012). The resulting biogenic reefs are considered as a valuable marine habitat to be protected under the designation of Special Areas of Conservation in the EU (Annex I of the EC Habitats Directive). In fact, the *S. alveolata* reefs are structurally complex and highly dynamic; they provide important ecosystem services such as filtering of large volumes of water (Dubois *et al.*, 2006), stabilising sediments (Dias & Paula, 2001) and, particularly, increasing local biodiversity (Dubois *et al.*, 2002). *S. alveolata* reefs provide crevices and settling substrate, food and breeding grounds for an array of marine benthic organisms (Dubois *et al.*, 2002, 2006; Cocito, 2004; Pearce *et al.*, 2011; Nahuelhual *et al.*, 2012). Several taxa are associated with this peculiar habitat along the Atlantic coast of Europe; molluscs, mainly mussels (e.g. *Mytilus edulis* L.,

1758) and oysters (e.g. *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793), crustaceans (several decapod species, the tanaid *Parasin-elobus chevreuxi* Dollfus, 1898 and the isopod *Campecopea hirsuta* Montagu, 1804), sipunculids (e.g. *Golfingia vulgaris* de Blainville, 1827), several sponges, bryozoans and cnidarians. However, majority of the associated fauna is usually represented by other polychaetes (Dias & Paula, 2001; Dubois *et al.*, 2006). Notably, most of the *S. alveolata* reef-associated species have been commonly recorded in other benthic habitats, whereas 'exclusive' or 'preferential' species (*sensu* Pérès & Picard, 1964), that contribute to displaying of the faunal peculiarity of *S. alveolata* reefs with respect to other habitats, are exceptions. Among them, the phyllococid polychaete *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888 is an intertidal species that has been occasionally recorded in the crevices of hard substrata, but is rather common and abundant in the European Atlantic *S. alveolata* reefs, which suggests that this habitat is particularly suitable for its settlement (Plejel, 1993; Dubois *et al.*, 2003).

Presently, the *E. ornata*'s distributional range includes the Eastern Atlantic, from the British Islands to the coast of Morocco, including the Iberian Peninsula; this species is particularly common along the English Channel and the French Atlantic coast (Fauvel, 1936; Plejel, 1993; Dauvin *et al.*, 2003; Serrano & Preciado, 2007). In addition to the

above-mentioned area, *E. ornata* was recorded along the eastern coast of Scotland (Plejel, 1993) and in Japan (Imajima, 2003); however, the last record requires further confirmation by comparison with type specimens of *E. gemina* Kato, Plejdel & Mawatari, 2001, a morphologically similar species endemic for Japanese waters (Kato *et al.*, 2001). *E. ornata* does not list among the 8 species of *Eulalia* reported from the Mediterranean Sea (Coll *et al.*, 2010).

Notably, the present distribution of *S. alveolata* reefs along the European coast (Dubois *et al.*, 2009) mostly overlaps the *E. ornata*'s range of distribution, and the specimens of *E. ornata* found along the Atlantic Moroccan coast by Fauvel (1936) coexist with considerable masses of *S. alveolata* tubes. Presently, the most evident mismatch in the distributions of *E. ornata* and *S. alveolata* reefs occur in the Mediterranean area.

*S. alveolata* reefs are actually commonly reported along the Western Mediterranean basin although they are usually less broad as compared to their Atlantic counterparts (La Porta & Nicoletti, 2009). The limited extension of *S. alveolata* reefs in comparison to the other important Mediterranean habitats may explain the surprisingly scant number of faunal studies on sabellarid reefs in the area (Cardell & Gili, 1988; Lo Brutto & Sparla, 1993; Porras *et al.*, 1996; Delbono *et al.*, 2003; La Porta & Nicoletti, 2009). The limited available studies suggest that the Mediterranean *S. alveolata* bio-constructions host-diversified faunas include polychaetes as the dominant group, with Phyllocoridae being among the most abundant taxa (La Porta & Nicoletti, 2009). In particular, *Eulalia viridis* L., 1767 is a dominant taxon associated with *S. alveolata* reefs along the Tyrrhenian coast of Central Italy and the Gulf of Valencia along the Mediterranean coast of Spain (Porras *et al.*, 1996; La Porta & Nicoletti, 2009; Marzialetti *et al.*, 2009). This species has been reported several times in the shallow hard-bottom environments of the Mediterranean and Black Seas (Plejdel, 1993; Ergen & Çinar, 1997; Çinar & Gönülğür-Demirci, 2005; Castelli *et al.*, 2008). However, Bonse *et al.* (1996) argue that the Eastern Atlantic and Mediterranean records of *E. viridis* could refer to the congeneric species *Eulalia clavigera* (Audouin & Milne-Edwards, 1833), since *E. viridis* is probably limited to the North Sea and the Scandinavian coast. In fact, recent faunal papers do not mention *E. viridis* among the Mediterranean polychaetes, and an accurate revision of the previous records of this species outside the Scandinavian area is needed (Çinar & Gönülğür-Demirci, 2005; Kurt Şahin & Çinar, 2012; Çinar *et al.*, 2011, 2014; Çinar, 2013; Dorgham *et al.*, 2014; Mikac, 2015). *E. clavigera* has been usually recorded on rocky reefs in crevices, among algae, mussel beds, *Balanus* blocks, *Dendropoma* reefs, *Posidonia oceanica* meadows, and coralligenous formations (Bonse *et al.*, 1996; Viéitez *et al.*, 2004; Çinar, 2005). To the best of our knowledge, *E. clavigera* has never been listed among the *S. alveolata*-reef associated species.

In the framework of a study performed to characterize the fauna of the *S. alveolata*-reef habitat in the Central Mediterranean area, we collected large numbers of phyllocoid specimens belonging to the genus *Eulalia*. Based on a taxonomic approach integrated by DNA barcoding, and after comparisons with closely related *Eulalia* species reported from the Mediterranean area, we hereby report *E. ornata* as a new species for the Mediterranean Sea and describe its patterns of abundance and distribution along the Sicily Channel.

## Materials and Methods

### Study area and habitat description

The Sicily Channel (Central Mediterranean Sea) connects the Western and Eastern Mediterranean sub-basins, and it is directly influenced by the Atlantic Ionian Stream (AIS) originating from the Atlantic waters entering through the Gibraltar Strait and moving eastward. Temperature and salinity fields in the Sicily Channel are thus greatly influenced by the AIS dynamics (Poulain & Zambianchi, 2007), with sea surface temperature ranging from 15°C in February to 22–24°C in June–July. Along the Sicilian coast of the Channel, several rivers flow into the sea and the coast is shallow and characterized by sandy bottoms locally interspersed with *P. oceanica* meadows and rocky shores. The tide excursion is limited to a few centimetres in the area.

*S. alveolata* reefs were sampled in June 2013 in the Sicily Channel along an approximately 190-km stretch of coast of southern Sicily at three locations: Triscina–TR (37.58°N, 12.80°E), Eraclea Minoa–ER (37.39°N, 13.28°E) and Donnalucata–DO (36.75°N, 14.64°E) (Fig. 1).

The sampled reefs appeared as pillow-like structures of different sizes, with crevices and holes and a brain-like appearance (Fig. 2). At Triscina, the reefs were about 0.5 m in diameter and about 30-cm high, lying at 3-m depth on sandy bottom interspersed with pebbles, close to a *P. oceanica* meadow; the diameter of *S. alveolata* tubes appeared homogeneously small in the study area. At Eraclea Minoa, the reefs were considerably bigger, measuring up to 2 m in diameter and 1.5 m in height, lying at 3-m depth on sandy bottom; tubes of different diameters (both big and small) characterized the reefs. At Donnalucata, the reefs were about 0.5-m high, laying at 1.5-m depth on sandy bottom at the base of breakwater rocky barriers and were up to 1 m in diameter; tubes of the sampled reefs appeared homogeneously large (Fig. 2).

### Sampling design and material collection

At each location, 8 replicates blocks (10 × 10 × 10 cm) of *S. alveolata* reef were randomly collected from biogenic structures laying few meters apart from each other using a hammer and a putty knife and then stored in 70% ethanol. *S. alveolata* specimens and the associated fauna were sorted under a stereo microscope and counted.



Fig. 1: Sampling locations along the southern coast of Sicily (Sicily Channel).

In order to collect live specimens of the associated benthic fauna, additional blocks were collected, stored in seawater tanks and transported to the facilities of the University of Palermo. Live specimens were photographed and stored immediately in absolute ethanol for molecular analysis. *Eulalia* specimens were identified to species level following Pleijel (1993), Bonse *et al.* (1996) and Viéitez *et al.* (2004). Additional comparative material of *E. ornata* was collected in the Bristol Channel during August 2010 for morphological and molecular analyses, at a depth of 22.5 m, on sand and gravel bottoms in association with *S. alveolata* specimens.

The morphological characterization of *E. ornata*, including morphometrics, was performed as per the method of Pleijel (1993). Mediterranean specimens were observed under the microscope and measured, and their number-of-segments/body-length ratio was compared with that of the Atlantic specimens of *E. ornata* from Brittany and Arcachon (France), as per the method of Pleijel (1993). The differences obtained were tested by analysis of variance (ANOVA).

#### Extraction and amplification of DNA

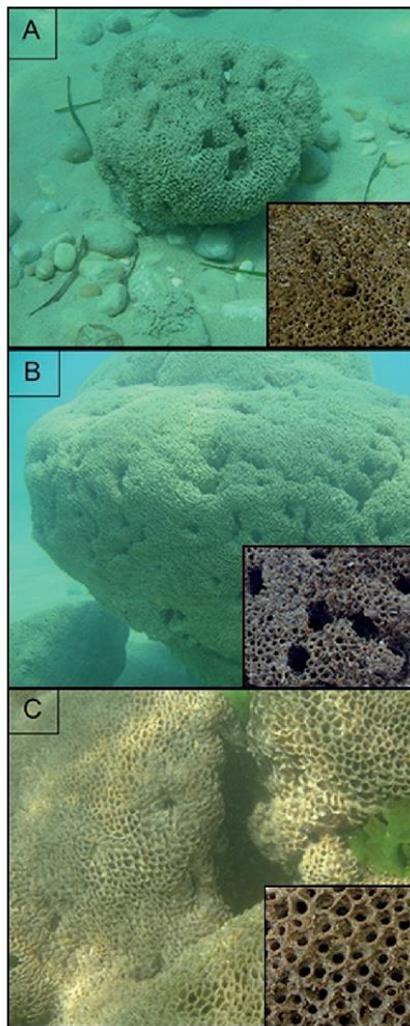
The morphological analysis was integrated by DNA bar-coding, which was aimed at confirming the identity of the species. *E. ornata*'s DNA was extracted from two Mediterranean individuals and one individual from the Bristol Channel. The archival organic DNA extracted from the Mediterranean *E. ornata* specimens was deposited together with the voucher specimens at the Zoologi-

cal Museum of the University of Palermo (MZPA; catalogue no. MZPA-ANN-0025).

Total genomic DNA extraction was performed using the Genomic DNA Extraction Kit Tissue (RBC Bioscience, Taiwan). The target mitochondrial *cytochrome oxidase subunit 1 (COI)* gene and the D9 and D10 domains of the nuclear ribosomal large subunit (LsuRNA) 28S gene were amplified.

Almost 600 base pair (bp) fragment of the *COI* gene was amplified with primers LCO-1490 and HCO-2198 (Folmer *et al.*, 1994). PCR was performed using a 25- $\mu$ L volume of 1X PCR buffer, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mM dNTP, 2.5 U *Taq* polymerase (Roche, Italy), 1.6  $\mu$ M of each primer and 80–100 ng of DNA template. PCR with the 2-steps annealing method was performed under the thermal cycling conditions, with initial denaturation at 95°C for 5 min, 35 cycles at 95°C for 60 s, followed by annealing at 48°C for 60 s for the first 5 cycles and 52°C for 60 s for the remaining 30 cycles, followed by 72°C for 60 sec. Final extension was performed at 72°C for 8 min, followed by final cooling at 4°C.

A 324-bp fragment of the LsuRNA 28S D9/D10 region was also amplified using the primer pairs 28S\_D9/D10-F (at position 2279) and 28S\_D9/D10-R (at position 2661) (Zardoya *et al.*, 1995). PCR was performed using a 25- $\mu$ L volume of 1 $\times$  PCR buffer, 1.3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, 4 U *Taq* polymerase (Roche, Italy), 0.36  $\mu$ M of each primer and 80–100 ng of DNA template. The thermal cycling conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 4 min; 35 cycles of 95°C for 60 s, 55°C



**Fig. 2:** *Sabellaria alveolata* reefs from the sampled Sicilian locations: (A) Triscina, a brain-like structure of about 0.5 m in diameter, (B) Eraclea Minoa, a brain-like structure of about 2 m in diameter (C), Donnalucata, a pillow-like structure of about 1 m in diameter. For each reef, a close-up picture of *S. alveolata* tubes is provided.

for 60 s and 72°C for 60 s, followed by a final extension at 72°C for 8 min and a final cooling at 4°C.

The resulting amplified DNA fragments were purified using the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) and sequenced with an Applied Biosystems (ABI) 3730xl DNA analyzer. The sequences were deposited in GenBank under the accession numbers KT709565, KT709566 and KT709567.

The fragment of the LsuRNA 28S D9/D10 region was not used in the analyses, rather merely deposited in the GenBank database for further investigations.

The COI sequences of the Mediterranean *E. ornata*, plus *E. viridis* and *E. clavigera* from several European locations (Norway, Sweden, UK, Northern France, Southern France; see Results for details) were compared with sequences deposited in the Barcode of Life Data Systems (BOLD, <http://www.barcodinglife.org>) (Ratnasingham & Hebert, 2007) and GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) databases (Benson *et al.*, 2000), followed by deposition in GenBank under the Accession Number KT709556/68.

Sequence alignment and successive analyses were implemented by using the MEGA 6 software (Tamura *et al.*, 2013). Measurement of the genetic differentiation was based on the Kimura-two-Parameter (K2P) model (Kimura, 1980). Unrooted Neighbour-Joining (NJ; Saitou & Nei, 1987) trees were built, and the nodes were supported by a high proportion (>90%) of replicates in the bootstrap analysis (Felsenstein, 1985). The bootstrap test, along with reciprocal monophyly, was used to determine whether a species-like cluster was well supported.

The Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) method, generated on the K2P pair-wise distances, was used to support the grouping of the sequences into species. Based on the barcode gap model, it identifies whenever the average divergence among sequences within species is lower than the average divergence inter-species within the genus (Puillandre *et al.*, 2012).

The ABGD web-interface as well as a command-line program are available at <http://www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd>.

## Results

In addition to *S. alveolata* (total 17210 specimens), 3952 macro-faunal specimens were collected from the three Sicilian locations (Table 1). The polychaetes represented the main component of *S. alveolata* reef-associated fauna with 2739 specimens, followed by 1169 Crustacea and 44 specimens belonging to other phyla. Among the associated polychaetes, 1368 specimens belonged to Phyllodocidae and 1371 specimens to other families (mostly Syllidae). All of the phyllodocid specimens associated with the *S. alveolata* reefs of the Sicily Channel were identified as *E. ornata*. The density of *E. ornata* per replicate ranged from 12 to 137 individuals/100 cm<sup>2</sup>, with the minimum mean value  $\pm$  standard deviation (SD) recorded at Triscina ( $37.25 \pm 12.56$ ) and the highest at Eraclea Minoa ( $85.87 \pm 27.95$ ).

## Taxonomic account

Family Phyllodocidae Örsted, 1843  
Subfamily Eteoninae Bergström, 1914  
Genus *Eulalia* Savigny, 1822  
*Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888  
*Eulalia ornata*, Pleijel, 1993: 103-105

*Material:* DL1-R1, 12 ind; DL1-R2, 41 ind; DL1-R3, 21 ind; DL1-R4, 40 ind; DL2-R1, 54 ind; DL2-R2, 109 ind; DL2-R3, 51 ind; DL2-R4, 55 ind; TRI 1-1, 27 ind; TRI 1-2,

**Table 1.** Total abundance of the reef-associated taxa at the three sampling locations (sum of 8 replicate blocks, 10 × 10 × 10 cm/ location).

Location	<i>Sabellaria alveolata</i>	Phyllodoctidae	Other polychaetes	Crustaceans	Other taxa
Triscina	10139	298	430	535	42
Eraclea Minoa	3350	687	145	363	1
Donnalucata	3721	383	796	271	1
Total	17210	1368	1371	1169	44

38 ind; TRI 1-3, 27 ind; TRI 1-4, 41 ind; TRI 2-1, 62 ind; TRI 2-2, 27 ind; TRI 2-3, 47 ind; TRI 2-4, 29 ind; EM 1-1, 76 ind; EM 1-2, 64 ind; EM 1-3, 111 ind; EM 1-4, 95 ind; EM 2-1, 56 ind; EM 2-2, 60 ind; EM 2-3, 88 ind; EM 2-4, 137 ind.

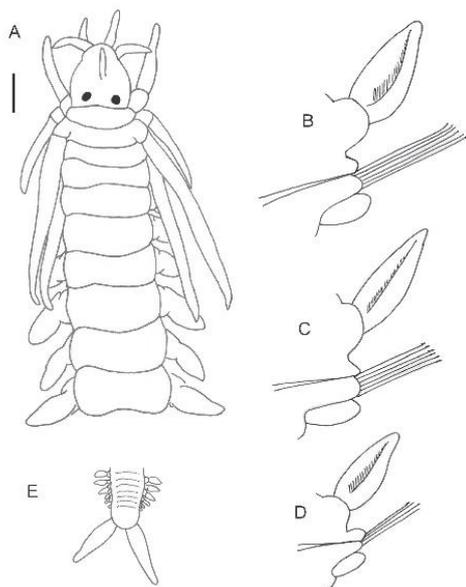
**Description:** Transparent, yellowish, with two pairs of transverse olive-green bands and dark brown spots medially on each segment (Fig. 3). Colour pattern progressively disappeared after preservation in alcohol, with specimens appearing homogeneously yellowish to brown (in larger specimens). Body stout, tapering at both the ends. Prostomium rounded, with same length and width, and with five antennae; the median antenna slightly shorter than the lateral ones. Eyes medium-sized, rounded and reddish-brown (Fig. 4A). Proboscis long and narrow, covered with round papillae of similar size throughout the proboscis surface. Tentacular cirri of segment 1 reached segments 3 and 4. Dorsal tentacular cirri of segments 2 and 3, reaching segments 8 and 9. Ventral tentacular cirri slightly flattened, reaching segment 4 and 5. Chaetae from segment 3 to 4. The most anterior dorsal cirri rounded at the tip and twice as long as broad, becoming lanceolate-asymmetrical by segment 10; on segment 20, the dorsal cirri appearing 2–3¼-times as long as broad (Fig. 4B). Dorsal cirri of mid-body lan-

ceolate, slightly asymmetrical, about 3–3¼-times as long as broad (Fig. 4C), on posterior segments lanceolate, asymmetrical, 3–3½-times as long as broad (Fig. 4D). All dorsal cirri with developed cirrophore. Ventral cirri oval, long as neuropodium or shorter on posterior segments. Pygidial cirri relatively long with pointed tips (Fig. 4E).

**Remarks:** Table 2 summarizes the relevant diagnostic features of the Sicilian *E. ornata* specimens in comparison with those of *E. viridis* and *E. clavigera* (Pleijel, 1993; Bonse *et al.*, 1996; Viéitez *et al.*, 2004). The combination of colour and colour pattern of live specimens allows easily distinguishing of *E. ornata* from the two considered congeneric species, but inter-specific colour differences are usually lost after preservation in alcohol. Moreover, in *E. viridis* and *E. clavigera*, the prostomium is cordiform or rounded-triangular, whereas it is rounded in *E. ornata*. The eyes are larger in *E. viridis* with respect to the other two species. The shape of proboscis is another difference among the three species (clavate in *E. viridis* and *E. clavigera*, narrow in *E. ornata*). The papillae are mostly rounded and similar in size throughout the proboscis length in the analyzed specimens of *E. ornata*, and they are conical and increasing in size toward the distal end of the proboscis in the other two species. Further



**Fig. 3:** *Eulalia ornata* from the Sicily Channel (Mediterranean Sea). Left, alive specimen, 45-mm long. Right, preserved specimen, 55-mm long, anterior end with everted proboscis.



**Fig. 4:** *Eulalia ornata*. A: anterior end, dorsal view; B: parapodium of segment 20; C: parapodium of mid-body; D: posterior parapodium; E: pygidium. Scale bars: A–E: 200  $\mu$ m; B–D: 100  $\mu$ m.

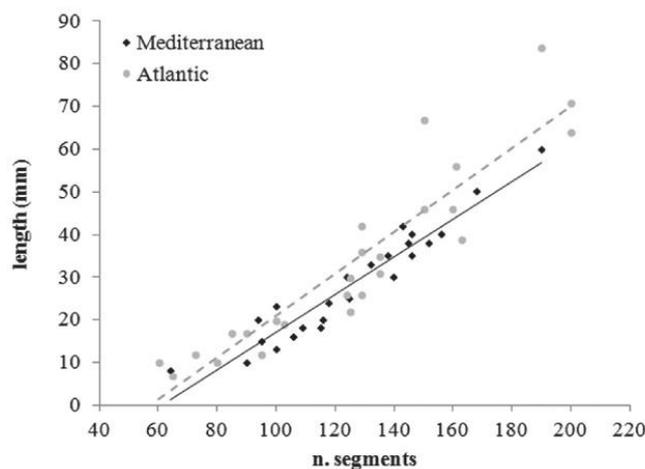
difference is in the length of the median antenna, being as long as the paired ones in *E. viridis* and *E. clavigera*, but slightly shorter in *E. ornata*. In *E. viridis*, the tentacular cirri of segment 1 are short, lanceolate, reaching segments 2 and 3, and the dorsal tentacular cirri of segments 2 and 3 reaching segments 6 to 7. In *E. clavigera*, the tentacular cirri of segment 1 are short fusiform and reaching

segments 2 and 3; the dorsal tentacular cirri of segments 2 and 3 are subulate and reaching segments 7 and 8. In both these two species, the cirri of the first three segments appeared shorter than in *E. ornata* (Table 2). Differences among the three species may be also seen in the shape of dorsal cirri. The length/width ratio of anterior and mid-body dorsal cirri is lower in *E. clavigera* than in the other two species; differences may be also seen in the symmetry of dorsal cirri throughout the body, with *E. clavigera* bearing strongly asymmetrical dorsal cirri on segment 20 and symmetrical cirri at the posterior end, while asymmetry of dorsal cirri is always present, but less marked in the other two species. Further differences concerning the ventral cirri length being always shorter than neuropodium in *E. clavigera*, as long as neuropodium at mid-body in *E. viridis*, but longer both on the anterior and posterior segments. Whereas, in *E. ornata*, ventral cirri are as long as neuropodium throughout the body length, except in the posterior segments, where they are shorter.

#### Morphometrics

The length and total number of segments in *E. ornata* were measured in a random pool of Mediterranean specimens (8 per location). The specimens from the Sicilian reefs measured 4–60 mm in body length, with the minimum average value ( $\pm$  SD) recorded at Triscina ( $22.1 \pm 4.7$  mm) and the highest at Eraclea Minoa ( $27.4 \pm 5.23$  mm). The number of segments was 20–190. The specimens from Triscina showed the minimum average value ( $\pm$  SD) ( $101.4 \pm 42.9$  segments), while those collected at Eraclea Minoa had the highest average value ( $111.8 \pm 51.47$  segments).

Figure 5 showed the number of segments plotted against the length of *E. ornata* specimens from the Sicily Channel as compared to the Atlantic specimens of the



**Fig. 5:** *Eulalia ornata*—The relationship between the number of segments and the body length. Comparison between Mediterranean (Sicilian) specimens in the present paper versus Atlantic specimens from Pleijel (1993).

**Table 2.** Comparison of diagnostic features of *Eulalia ornata*, *E. viridis* and *E. clavigera*.

	<i>E. ornata</i> (present paper)	<i>E. viridis</i> (Bonse <i>et al.</i> , 1996; Pleijel, 1993)	<i>E. clavigera</i> (Bonse <i>et al.</i> , 1996; Viéitez <i>et al.</i> , 2004)
<b>Color: alive specimens</b>	Faint yellow	Yellowish green	Emerald green
<b>Color: preserved specimens</b>	Yellowish/greenish/brown (in ethanol)	Yellow/light green/dark brown	Green/greenish brown/brown
<b>Pigmentation pattern: alive specimens</b>	Two pairs of transverse olive-green bands and dark brown spots medially on each segment	Sometimes reddish-brown segmental bands and dark brown spot above and below each parapodium	Sometimes dark spot below the parapodia
<b>Pigmentation pattern: preserved specimens</b>	Absent (in ethanol)	If present, dark brown parapodial spots may disappear in alcohol	Absent
<b>Prostomium</b>	Rounded	Cordiform or rounded triangular	Cordiform or rounded triangular
<b>Median antenna</b>	Slightly shorter than paired anterior antennae	Same size as paired antennae	Same size as paired antennae
<b>Eyes</b>	Medium-size	Relatively large	Medium-size
<b>Proboscis</b>	Narrow	Clavate	Clavate
<b>Distribution pattern of papillae</b>	Rounded, similar size throughout the proboscis length	Conical, increasing in size toward distal end of the proboscis	Conical, increasing in size toward distal end of the proboscis
<b>Tentacular cirri</b>	Cirri segm. 1 reaching segm. 3-4. Dorsal cirri segm. 2-3 reaching segm. 8-9	Cirri segm. 1 reaching segm. 2-3. Dorsal cirri segm. 2-3 reaching segm. 6-7	Cirri segm. 1 reaching segm. 3. Dorsal cirri segm. 2-3 reaching segm. 7-8
<b>Dorsal cirri: Anterior</b>	Rounded at tip; twice as long as broad; lanceolate, asymmetrical by segm. 10; 2 - 3 ¼ times as long as broad on segm. 20	Broadly rounded, twice as long as broad; lanceolate by segm. 8; 2 ½ - 3 ¼ times as long as broad on segm. 20	Broadly rounded, 1½ times as long as broad, elongate-triangular by segm 10; strongly asymmetrical, twice as long as broad on segm. 20
<b>Dorsal cirri: Mid-body</b>	Lanceolate, slightly asymmetrical, 3 - 3 ¼ times as long as broad	Lanceolate/triangular 2¼ - 3 times as long as broad	Lanceolate, asymmetrical, 1 ¼ - 2 ¼ times as long as broad
<b>Dorsal cirri: Posterior</b>	Lanceolate, asymmetrical, 3 - 3 ½ times as long as broad	Asymmetrical, 2½ - 3½ times as long as broad	Symmetrical, about 2 ½ times as long as broad
<b>Ventral cirri</b>	Oval, as long as neuropodium, shorter on posterior segm.	Oval, as long as neuropodium at mid-body, longer on anterior/posterior segm.	Oval, clearly shorter than neuropodium, shorter on posterior segments.

same species, as analyzed by Pleijel (1993). Black diamonds representing the Sicilian specimens were spread among the grey circles, representing specimens from Brittany and Arcachon (France) with the trend lines having a similar slope (0.44 and 0.49, respectively). The ANOVA test for differences in the number of segments/body length ratio between Atlantic and Mediterranean specimens revealed no significant difference ( $MS = 1.7684$ ;  $F_{1,47} = 0.60887$ ;  $p = 0.45$ ).

#### Molecular data

The morphological identification of species of the genus *Eulalia* was verified by genetic analysis, based on the COI sequences. The dataset used in this work is given in Table 3.

Molecular data discriminated the three common species in three monospecific clades, supported by robust

nodes (bootstrap value = 100%), as shown in the NJ tree of Figure 6, and by the K2P distances pattern, supported by a 'barcode gap' (Fig. 7).

The species *E. ornata*, represented by two individuals collected from the Mediterranean Sea and by one specimen from the Bristol Channel, is clearly distinguishable from the other species as its sequences form a distinct, non-overlapping cluster. The *E. viridis* lineage, containing specimens from northern and north-eastern Atlantic Ocean (Norwegian Sea, northern North Sea and the Gulf of St. Lawrence) as well as from Arctic Ocean (White Sea). The *E. clavigera* lineage, composed of specimens from the north-eastern Atlantic (English Channel) and western Mediterranean (France), showed clades separated from each other and from the *E. ornata* clade.

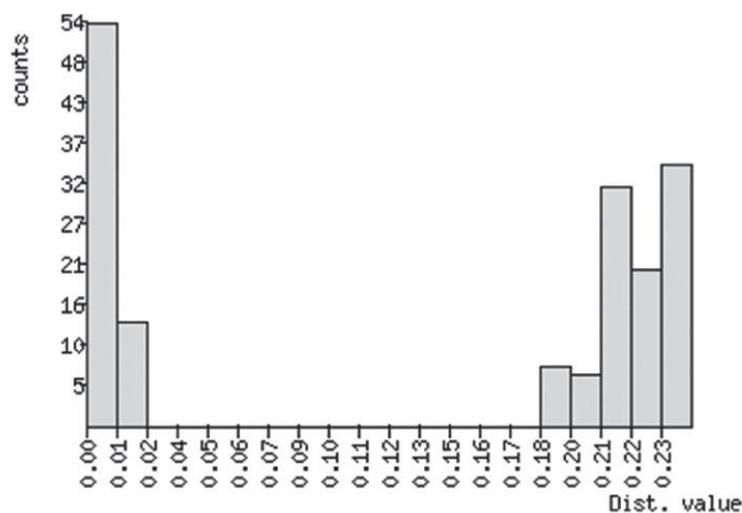
Intra-specific K2P distances were 0.004–0.013, while K2P distances between the congeneric species were

**Table 3.** Details of the COI reference sequences of *Eulalia* species downloaded and (\*) those herein sequenced shown in the NJ tree.

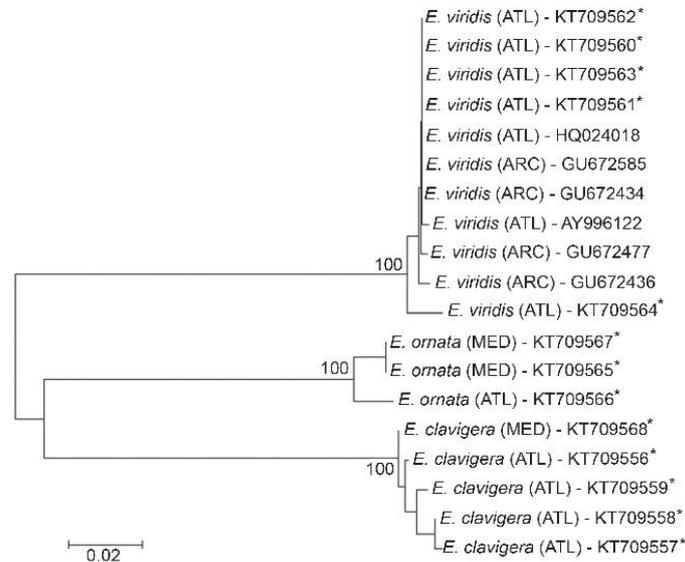
Accession (A.N.)	Number	Sampling site	Depth/habitat	Reference
<b><i>Eulalia ornata</i></b>				
KT709566*		Bristol Channel (UK), NE Atlantic Ocean	22.5 m, sand/gravel in association with <i>S. alveolata</i>	Coll. Arne Nygren
KT709567*		Donnalucata (Italy), Mediterranean Sea	0.5 m, <i>S. alveolata</i> reef	Coll. Luigi Musco
KT709565*		Donnalucata (Italy), Mediterranean Sea	0.5 m, <i>S. alveolata</i> reef	Coll. Luigi Musco
<b><i>Eulalia viridis</i></b>				
GU672585		Kandalaksha Bay (Russia), NW White Sea, Arctic Ocean		Hardy <i>et al.</i> (2011)
HQ024018		Gulf of St. Lawrence, (Canada), N Atlantic Ocean		Carr <i>et al.</i> (2011)
GU672434		Kandalaksha Bay (Russia), NW White Sea, Arctic Ocean		Hardy <i>et al.</i> (2011)
AY996122		Koster area (Sweden), North Sea		Eklöf <i>et al.</i> (2007)
GU672477		Kandalaksha Bay (Russia), NW White Sea, Arctic Ocean		Hardy <i>et al.</i> (2011)
GU672436		Kandalaksha Bay (Russia), NW White Sea, Arctic Ocean		Hardy <i>et al.</i> (2011)
KT709560-KT709561-KT709562*		Koster area (Sweden), North Sea	10-20 m, gravel/algae	Coll. Arne Nygren
KT709563*		Gullmarsfjorden (Sweden), North Sea	33-36 m, gravel/stones	Coll. Fredrik Pleijel
KT709564*		Trondheimsfjorden (Norway), Norwegian Sea	Low tide, among mussels	Coll. Fredrik Pleijel
<b><i>Eulalia clavigera</i></b>				
KT709556- KT709558*		English Channel, Plymouth, (UK), NE Atlantic Ocean	Low tide, rocks	Coll. Fredrik Pleijel
KT709557*		Baie de Douarnenez, Brittany (France), NE Atlantic Ocean	Low tide, rocks	Coll. Franck Gentil
KT709559*		Baie de Lannion, Brittany (France), NE Atlantic Ocean	Low tide, rocks	Coll. Franck Gentil
KT709568*		Banyuls (France), Mediterranean Sea	0.5 m, epifauna on dock	Coll. Arne Nygren

0.19–0.22, that is, 20- fold higher. Such patterns illustrate the utility of COI sequences in providing species-level resolution. In fact, the histogram obtained from ABGD (Fig. 7) and based on the assumption that intra-specific

divergence ranges should not overlap the inter-specific divergence range, a significant bar-coding gap can be seen, which indicates a high reliability in discriminating different species. Our analysis revealed that the maximum



**Fig. 7:** Distribution of COI pair-wise K2P distance values, performed by ABGD, showing the 'barcode gap' between the putative maximum co-specific divergence (0.02) and the minimum congeneric divergence (0.18).



**Fig. 6:** Tree inferred using the Neighbor-Joining method on Kimura-2-Parameter COI distances. The tree is drawn to scale. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the nodes. \*herein sequenced. (ATL) Atlantic Ocean, (ARC) Arctic Ocean, (MED) Mediterranean Sea.

intra-species values in our dataset fell into the range of 0.00–0.02, and the minimum inter-cogeneric species value was >0.18.

## Discussion

The first merit of this study is the record of *E. ornata* as a new species for the Mediterranean fauna, which is supported by the results of combined molecular and morphological approaches. This study reviewed the range of distribution for this species, demonstrating that *E. ornata* should be considered as a typical Atlantic-Mediterranean species, similar to a large part of the polychaetes listed for the Mediterranean Sea (Arvanitidis *et al.*, 2002; Musco & Giangrande, 2005). However, the most important finding was the evidence for the fidelity of *E. ornata* to the *S. alveolata* reef habitat in the Mediterranean Sea. In particular, this phyllocid always appeared as the dominant species associated with *S. alveolata* reefs along the Sicily Channel, being present and abundant in every collected reef sample along approximately 190-km stretch of coast. This finding would re-establish an almost complete match between the ranges for *E. ornata* and *S. alveolata* reefs, evidencing a preferential linkage between the phyllocid and the biogenic habitat from the British Islands to the Atlantic coast of Morocco, including the Mediterranean area. The depicted bio-geographic regularity has its most apparent exceptions in the *S. alveolata* reefs from the Tyrrhenian coast of Central Italy and the Mediterranean Coast of Spain, considered to host *E. viri-*

*dis* rather than *E. ornata* among the dominant taxa (Porras *et al.*, 1996; La Porta & Nicoletti, 2009; Marzalletti *et al.*, 2009). However, it should be noted that problems concerning morphological characterization could have led to errors or uncertainties in the identification of species of *Eulalia* within the Mediterranean Basin.

Prior to this study, it was generally accepted that the records of *E. viridis* in the Mediterranean area probably referred to *E. clavigera* (Bonse *et al.*, 1996; Dauvin *et al.*, 2003; Çinar & Gönllügür-Demirci, 2005; Parapar *et al.*, 2009; Kurt Şahin & Çmar, 2012). *E. viridis* and *E. clavigera* are morphologically extremely similar species. They mainly differed in the shape and size of the dorsal cirri (Viéitez *et al.*, 2004). The length of anterior dorsal cirri was about twice as long as broad in *E. viridis* and 1.5-times as long as broad in *E. clavigera* (Çinar & Gönllügür-Demirci, 2005). This diagnostic feature can cause confusion in species identification, as noted by Çinar & Gönllügür-Demirci (2005) after morphological comparison of the Eastern Mediterranean specimens, which was identified as *E. viridis*, and specimens of *E. clavigera* deposited at the Zoological Museum of Copenhagen. *E. clavigera* is undoubtedly present in the Western Mediterranean, as demonstrated by the molecular dataset in the present study (Fig. 6).

The bar-coding analysis confirmed the morpho-recognition of *E. ornata*, and it clearly delimits it from the congeneric species. However, problems in correct morphological identification should also be considered for *E. ornata*. In fact, this last species has been under scientific

debate since only a few years after original description. *E. ornata* was originally described by Saint-Joseph (1888) as an Atlantic species similar to *E. viridis*. Subsequently, McIntosh (1908) considered *E. ornata* as a variety of *E. viridis* due to diagnostic features not sufficiently robust to distinguish between the two species. Finally, according to Allen (1915), differences in the colour pattern and general shape between *E. viridis* and *E. ornata* actually support the validity of this last species. Such taxonomic uncertainty may have been caused by variations in the median antenna and tentacular cirri of the third segment during ontogenesis of *Eulalia* species (Pleijel, 1991) or by artefacts due to preservation, as specimens of both the species appear yellow/brown and may lose the colour pattern once stored in alcohol.

The above-mentioned taxonomic considerations indicate that the *Eulalia* specimens associated with the Mediterranean *S. alveolata* reefs from Central Italy (La Porta & Nicoletti, 2009; Marzalletti *et al.*, 2009) and Spain (Porras *et al.*, 1996) probably do not belong to *E. viridis*. At present, it is not possible to clarify their identity, although both *E. ornata* and *E. clavigera* appear to be good candidate species. The collection of live *Eulalia* specimens from the two mentioned Mediterranean locations and a combined molecular/morphological approach to species identification are needed. Regarding the morphological approach, our analysis indicates that live specimens of *E. ornata* are easily distinguishable from both *E. clavigera* and *E. viridis* due to the clear differences in colour and colour pattern, while preserved specimens should be carefully identified based on characteristics such as the proboscis shape and the length and shape of appendages, including the median antenna, dorsal and ventral tentacular cirri (Table 2). However, simple ecological considerations such as the fidelity (intended as frequency and abundance) of *E. ornata* to *S. alveolata* reefs over a wide geographical range and the lack of *E. clavigera* recorded on the same habitat suggest that the above Central Italian and Spanish Mediterranean specimens of *Eulalia* possibly belong to *E. ornata*.

From an ecological viewpoint, *E. ornata* may play an important role in the ecosystem functioning of *S. alveolata* reef-dominated areas of the Atlantic-Mediterranean coast due to its abundance and preferential association with this biogenic habitat. Jumars *et al.* (2015) suggested that the phyllodocids, including *E. viridis*, are mostly carnivorous. At present, the feeding behaviour of *E. ornata* is unknown; however, if carnivorous, the species may play the key role in structuring the reef as the huge amount of specimens observed herein would have to rely on the large amounts of animal biomass that in the biogenic reef is basically represented by the bio-constructor itself.

Focusing on the biology and ecology of this phyllodocid may provide important insights for the better understanding of the reef dynamics and the functioning of an important European shallow marine habitat.

## Acknowledgements

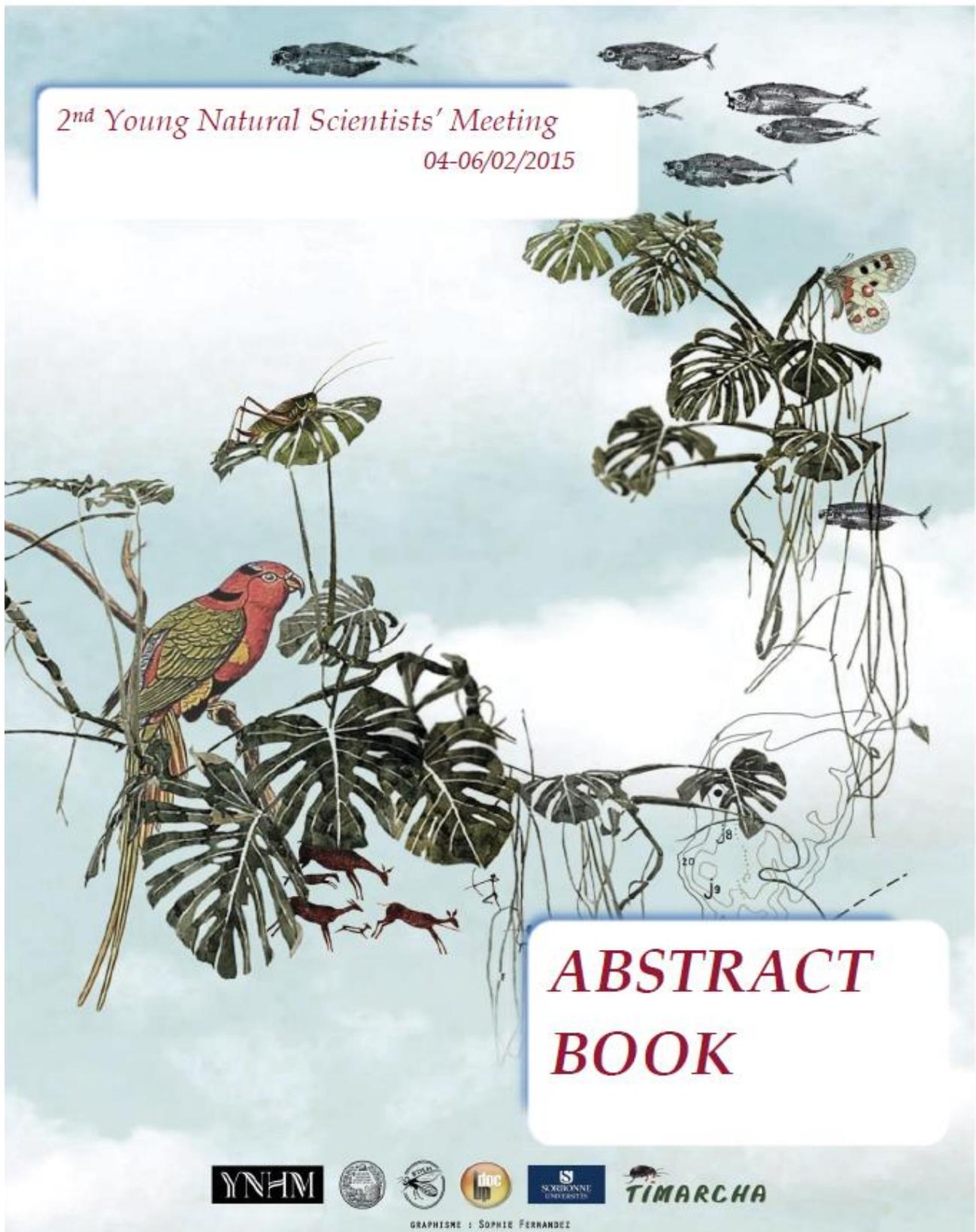
Comments and suggestions of two anonymous referees and the editorial assistance by Prof. M.E. Çınar improved the quality of this paper. Thanks to Fredrik Pleijel for precious advice, Tomas Vega Fernández for valuable help during sampling, and Giuseppe Di Stefano, Erjola Keci and Davide Iacofano for technical support. This paper is part of the first author's PhD Thesis. This work was supported by the Norwegian Taxonomy Initiative (A.N., Grant number knr. 49-13, per. 70184228) and partially supported by the Italian Ministry of Education, University and Research, PRIN 2010-2011 "Biocostruzioni costiere: Struttura, Funzione e Gestione" (L.M., F.B., grant number F81J 120003 80001) and by the University of Palermo (FFR 2012/2013).

## References

- Allen, E.J., 1915. Polychaeta of Plymouth and the South Devon Coast, including a list of the Archiannelida. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 10 (4), 592-646.
- Arvanitidis, C., Bellan, G., Drakopoulos, P., Valavanis, V., Dounas, C. *et al.*, 2002. Seascape biodiversity patterns along the Mediterranean and the Black Sea: lessons from the biogeography of benthic polychaetes. *Marine Ecology Progress Series*, 244, 139-152.
- Becker, P.T., Lambert, A., Lejeune, A., Lanterbecq, D., Flammang, P., 2012. Identification, characterization, and expression levels of putative adhesive proteins from the tube-dwelling polychaete *Sabellaria alveolata*. *The Biological Bulletin*, 223, 217-225.
- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., Rapp, B.A. *et al.*, 2000. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 28, 15-18.
- Bonse, S., Schmidt, H., Ejbye-Jacobsen, D., Westheide, W., 1996. *Eulalia viridis* (Polychaeta: Phyllodocidae) is a complex of two species in northern Europe: Results from biochemical and morphological analyses. *Cahiers de Biologie Marine*, 37, 33-48.
- Cardell, M.J., Gili, J.M., 1988. Distribution of a population of annelid polychaetes in the "trottoir" of the midlittoral zone on the coast of North-East Spain, Western Mediterranean. *Marine Biology*, 99, 83-92.
- Castelli, A., Bianchi, C.N., Cantone, G., Çınar, M.E., Gambi, M.C. *et al.*, 2008. Annelida Polychaeta. In Relini G. (ed) *Checklist della Flora e della Fauna dei Mari Italiani (Parte I)*. *Biologia Marina Mediterranea*, 15 (S1), 323-373.
- Çınar, M.E., 2005. Polychaetes from the coast of Northern Cyprus (Eastern Mediterranean Sea), with two new records for the Mediterranean Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, 46, 143-159.
- Çınar, M.E., 2013. Polychaetes (Annelida, Polychaeta) associated with *Posidonia oceanica* (L.) Delile along the coasts of Turkey and Northern Cyprus. p. 77-95. In: *1st International Workshop on Posidonia oceanica (L.) Delile on the coasts of Turkey*. Aktan Y. & Aysel V. (Eds). Turkish Marine Research Foundation. Publication n. 39.

- Çinar, M.E., Gönlügür-Demirci, G., 2005. Polychaete assemblages on shallow-water benthic habitats along the Sinop Peninsula (Black Sea, Turkey). *Cahiers de Biologie Marine*, 46, 253-263.
- Çinar, M.E., Dağlı, E., Açıık, S., 2011. Annelids (Polychaeta and Oligochaeta) from the Sea of Marmara, with descriptions of five new species. *Journal of Natural History*, 45(33-34), 2105-2143.
- Çinar, M.E., Dağlı, E., Kurt Şahin, G., 2014. Checklist of Annelida from the coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 734-764.
- Cocito, S., 2004. Bioconstruction and biodiversity: their mutual influence. *Scientia Marina*, 68, 137-144.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F. *et al.*, 2010. The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS ONE*, 5 (8): e11842.
- Dauvin, J.C., Dewarumez, J.M., Gentil, F., 2003. Liste actualisée des espèces d'Annelides Polychètes présentes en Manche. *Cahiers de Biologie Marine*, 44, 67-95.
- Delbono, I., Bianchi, C.N., Morri, C., 2003. Le biocostruzioni di *Sabellaria alveolata* come indicatori ambientali: area costiera fra Chiavari e Sestri Levante. p. 130-140. In: *Studi per la Creazione di Strumenti di Gestione costiera: Golfo del Tigullio*. Ferretti, O. (Ed). ENEA, Centro Ricerche Ambiente Marino, La Spezia.
- Desroy, N., Dubois, S.F., Fournier, J., Ricquiers, L., Mao, P.L. *et al.*, 2011. The conservation status of *Sabellaria alveolata* (L.) (Polychaeta: Sabellariidae) reefs in the Bay of Mont-Saint-Michel. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21, 462-471.
- Dias, A.S., Paula, J., 2001. Associated fauna of *Sabellaria alveolata* colonies on the central coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom*, 80, 169-170.
- Dorgham, M.M., Hamdy, R., Al-Rashidy, H.H., Atta, M.M., Musco, L., 2014. Distribution patterns of shallow water polychaetes (Annelida) along the coast of Alexandria, Egypt (Eastern Mediterranean). *Mediterranean Marine Science*, 15 (3), 635-649.
- Dubois, S., Barillé, L., Cognie, B., 2009. Feeding response of the polychaete *Sabellaria alveolata* (Sabellariidae) to changes in seston concentration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 376, 94-101.
- Dubois, S., Barillé, L., Retière, C., 2003. Efficiency of particle retention and clearance rate in the polychaete *Sabellaria alveolata* L. *Comptes Rendus Biologies*, 326, 413-42.
- Dubois, S., Retière, C., Olivier, F., 2002. Biodiversity associated with *Sabellaria alveolata* (Polychaeta: Sabellariidae) reefs: effects of human disturbances. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom*, 82, 817-826.
- Dubois, S., Barillé, L., Cognie, B., Beninger, P.G., 2005. Particle capture and processing mechanisms in *Sabellaria alveolata* (Polychaeta: Sabellariidae). *Marine Ecology Progress Series*, 301, 159-171.
- Dubois, S., Commito, J.A., Olivier, F., Retière, C., 2006. Effects of epibionts on *Sabellaria alveolata* (L.) biogenic reefs and their associated fauna in the Bay of Mont Saint-Michel. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68, 635-646.
- Ergen, Z., Çinar, M.E., 1997. Polychaeta of Antalya Bay (Mediterranean coast of Turkey). *Israel Journal of Zoology*, 43(3), 229-241.
- Fauvel, P., 1936. Contribution a la faune des Annelides Polychètes du Maroc. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles du Maroc*, 43, 1-143.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5), 294-299.
- Imajima, M., 2003. Polychaetous Annelids from Sagami Bay and Sagami Sea collected by the Emperor Showa of Japan and deposited at the Showa Memorial Institute, National Science Museum, Tokyo (II). Orders included within the Phyllodocida, Amphinomida, Spintherida and Eunicida. *National Science Museum Monographs*, 23, 1-221.
- Jumars, P.A., Dorgan, K.M., Lindsay, S.M., 2015. Diet of worms emended: An update of Polychaete feeding guilds. *Annual Review of Marine Science*, 7, 497-520.
- Kato, T., Pleijel, F., Mawatari, S.F., 2001. *Eulalia gemina* (Phyllodocidae: Polychaeta), a new species from Shirahama, Japan. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 114, 381-388.
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Kurt Şahin, G., Çinar, M.E., 2012. A check-list of polychaete species (Annelida: Polychaeta) from the Black Sea. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 18 (1), 10-48.
- La Porta, B., Nicoletti, L., 2009. *Sabellaria alveolata* (L.) reefs in the central Tyrrhenian Sea (Italy) and associated polychaete fauna. *Zoosymposia*, 2, 527-536.
- Lo Brutto, S., Sparla, M.P., 1993. Anfipodi associati dei banchi di filtratori nel golfo di Castellammare (Sicilia N/W). *Biologia Marina* (Supplemento Notiziario SIBM), 1, 295-296.
- Marzioletti, S., Nicoletti, L., Ardizzone, G.D., 2009. The polychaete community of the Fregene artificial reef (Tyrrhenian Sea, Italy): a 20-year study (1981-2001). *Zoosymposia*, 2, 551-566.
- McIntosh, W.C., 1908. *A Monograph of British Annelids II. Part I. Polychaeta. Nephthydidae to Syllidae*. Ray Society of London, 232 pp.
- Mikac, B., 2015. A sea of worms: polychaete checklist of the Adriatic Sea. *Zootaxa*, 3943 (1), 1-172.
- Musco, L., Giangrande, A., 2005. Mediterranean Syllidae (Annelida: Polychaeta) revisited: species diversity, biogeography and faunal fidelity to environmental features. *Marine Ecology Progress Series*, 304, 143-153.
- Nahuelhual, E., Carcedo, C., Fiori, S., 2012. Fauna asociada a los arrecifes de *Sabellaria nanella* (Sabellariidae) en el intermareal de Monte Hermoso, Argentina. *BioScriba*, 5, 43-48.
- Parapar, J., Martínez-Ansemil, E., Caramelo, C., Collado, R., Schmelz, R., 2009. Polychaetes and oligochaetes associated with intertidal rocky shores in a semi-enclosed industrial and urban embayment, with the description of two new species. *Helgoland Marine Research*, 63, 293-308.
- Pearce, B., Hill, J.M., Grubb, L., Harper, G., 2011. *Impacts of Marine Aggregate Dredging on Adjacent Sabellaria spinulosa Aggregations and other Benthic Fauna*. Marine Aggregates Levy Sustainability Fund MEPP 08/P39 and

- the Crown Estate. Marine Ecological Surveys Limited, 3 Palace Yard Mews, BATH, BA1 2NH. 35 pp.
- Pérés, J.M., Picard, J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Recueil des Travaux de la Station Marine d'Endoume*, 31 (47), 5-137.
- Pleijel, F., 1991. Phylogeny and classification of the Phyllodo-  
cidae. *Zoologica Scripta*, 20, 225-261.
- Pleijel, F., 1993. Polychaeta Phyllodocidae. *Marine Inverte-  
brates of Scandinavia* 8: 1-159.
- Porras, R., Bataller, J.V., Murgui, E., Torregrosa, M.T., 1996. Trophic structure and community composition of poly-  
chaetes inhabiting some *Sabellaria alveolata* (L.) reefs along the Valencia Gulf Coast, western Mediterranean. *PSZNI Marine Ecology*, 17, 583-602.
- Poulain, P.M., Zambianchi, E., 2007. Surface circulation in the central Mediterranean Sea as deduced from Lagrangian drifters in the 1990s. *Continental Shelf Research*, 27, 981-1001.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., Achaz, G., 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21, 1864-1877.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D., 2007. Bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355-364.
- Saint-Joseph, A., 1888. Les annélides polychètes des côtes de Dinard. Seconde partie. p. 141-338. In: *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Paléontologie*. Paris. Série 7, 5(2).
- Saitou, N., Nei, M., 1987. The Neighbor-Joining method - a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Serrano, A., Preciado, I., 2007. Environmental factors structuring polychaete communities in shallow rocky habitats: role of physical stress versus habitat complexity. *Helgoland Marine Research*, 61, 17-29.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., Kumar, S., 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
- Viéitez, J.M., Alós, C., Parapar, J., Besteiro, C., Moreira, J. *et al.*, 2004. Annelida Polychaeta I. In: *Fauna Iberica*. Vol. 25. Ramos M.A. *et al.* (Eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. Madrid. 530 pp.
- Zardoya, R., Costas, E., López-Rodas, V., Garrido-Pertierra, A., Bautista, J.M., 1995. Revised dinoflagellate phylogeny inferred from molecular analysis of large-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 41, 637-645.



Italy. Lateral vegetation includes about 3000 entities, rare species make the 29% of the total. The aim of this work is the reconstruction at the Botanic Gardens an *ex situ* native mixed deciduous forest and the conservation of some recalcitrant species included in this ecosystem. The forest comprehend an area of 2.5 ha in the Botanic Gardens of University of Rome "Tor Vergata". It was planted in 2010 even through citizen science campaigns. The mixed deciduous forest contains over 400 plants, representing the main consortia forest components of Lateral mountain ranges. The selection of plant species was carried out using syntaxonomical scheme according to Braun-Blanquet. The project final goal is the *ex situ* conservation of some Lazio region vegetational consortia in the arboretum of "Tor Vergata" Botanic Gardens and the cold storage of some hardiness species through synthetic seeds.

***Sabellaria alveolata* (Annelida: Sabellariidae) reefs in the Mediterranean Sea (Southern Sicily)**

Schimmenti Eugenia<sup>1</sup>, Lo Brutto Sabrina<sup>1</sup>, Mikac Barbara<sup>2</sup>, Badalamenti Fabio<sup>2</sup>, Musco Luigi<sup>2</sup>

1. Dip. STeBiCeF, Sezione di Biologia Animale, via Archirafi 18, University of Palermo, Italy (Italy),

2. Laboratorio di Ecologia Marina, CNR-IAMC, via Da Verrazzano 17, Castellammare del Golfo, Italy (Italy)

*Sabellaria alveolata* (Linnaeus, 1767), commonly named "sandcastle worm" or "honeycomb worm", is a gregarious tube-dwelling polychaete building tubes by assembling sand grains and shell fragments with a proteinaceous adhesive. The tubes are closely aggregated to form large reefs. These bio-constructions, providing shelter and food to several reef-dwelling species, represent a valuable habitat for benthic invertebrates. For this reason, *Sabellaria* reefs are listed under Annex I of the EC Habitats Directive as a marine habitat to be protected by the designation of Special Areas of Conservation. *Sabellaria alveolata* reefs are usually intertidal, and sometimes subtidal, at temperate latitudes and they are commonly recorded in the NE Atlantic coast, from Bristol Channel to the Portuguese coast. Reefs are also found in the Mediterranean Sea, where they are usually smaller and less studied than the Atlantic ones. The aim of this study is to improve the knowledge of *S. alveolata* structures and associated fauna in the Mediterranean area. Reef samples were collected at three Sicilian sites (Sicily Channel), photographed and stored in absolute ethanol. After sorting, the collected specimens were identified at species level and counted. The morphological analysis was integrated by molecular analyses (DNA Barcoding) aimed at confirming the identity of some species of particular interest. Both

analyses confirm the presence of two congeneric species in the reefs: *S. alveolata*, the dominant species, and *S. spinulosa*. The rest of the associated fauna was mainly composed by other polychaetes and crustacean amphipods. Among the most abundant polychaetes, *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888 (Phyllodocidae) resulted new for the Mediterranean Sea. The Mediterranean *Sabellaria* reefs are a peculiar habitat not yet properly known. Further study would help to better understand the role of *S. alveolata* as ecosystem engineer and the factors influencing the dynamics of the biogenic reefs in order to promote their conservation.

**Distribution and assemblages of the aquatic Hemiptera (Gerronomorpha & Nepomorpha) in hydrographic basins of north-western Tunisia**

Slimani Noura, Guilbert Eric

Muséum national d'histoire naturelle (France)

Different ecological - models are increasingly used to show spatial distribution of species in relation with the heterogeneous environmental conditions. We analyzed here, the assemblage of aquatic Hemiptera (Nepomorpha and Gerronomorpha) in relation with the abiotic parameters in the hydrographic basins of north-western Tunisia. The composition of species assemblages vary in time, in relation to habitat quality, that determines the distribution of species, by the interplay among several structuring factors. In 2013, nine sampling stations were chosen to reflect the large variety of aquatic habitats present in the area. 30 species of Hemiptera Nepomorpha and Gerronomorpha were sampled, totaling 397 adults. Several environmental variables (pH, conductivity, salinity, dissolved oxygen, water temperature and air, substrate type, current velocity, turbidity, major cations (Ca, Na, Mg, K) and anions (SO<sub>4</sub>, Cl, NO<sub>3</sub>), BOD, COD) were measured for each sampling site. Relationships between community structure and environmental variables were evaluated using multivariate analyses, including principal components analysis (PCA) and partial triadic analysis (PTA). Results revealed that the spatial distribution of aquatic Hemiptera was influenced firstly by an environmental gradient from lotic / lentic which are showing high correlation with morphological gradient (in this case altitude).

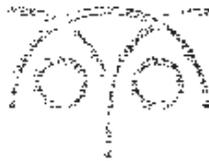
**How threatened are Andean bears in Ecuador?**

Viteri Espinel Maria

Laboratory for Ecological, Evolutionary and Conservation Genetics (United States)

Quaderni del Centro Studi Alpino – IV

UZI



76° CONGRESSO  
15-18 settembre 2015  
VITERBO

Proceedings of the 76<sup>th</sup> National Conference  
of the  
Unione Zoologica Italiana

A cura di Marzio Zapparoli, Maria Cristina Belardinelli



Università degli Studi della Tuscia



Quaderni del Centro Studi Alpino – IV

*Unione Zoologica Italiana*  
*76th National Conference*

# Proceedings

Viterbo, 15-18 September 2015

a cura di Marzio Zapparoli, Maria Cristina Belardirelli

Università degli Studi della Tuscia  
2015

DAVIDE LACIOFANO, EUGENIA SCHIMMENTI, SABRINA LO BRUTTO

Dipartimento S<sup>3</sup>FeBiCeF, Sezione di Biologia Animale, Via Archirafi 18, University of Palermo

**INTEGRATIVE TAXONOMY:  
A MULTIDISCIPLINARY APPROACH USED TO DETECT  
INTRA-SPECIES MORPHOLOGICAL VARIATION  
ON *ORCHESTIA MONTAGUI* AUDOUIN, 1826  
(CRUSTACEA: AMPHIPODA)**

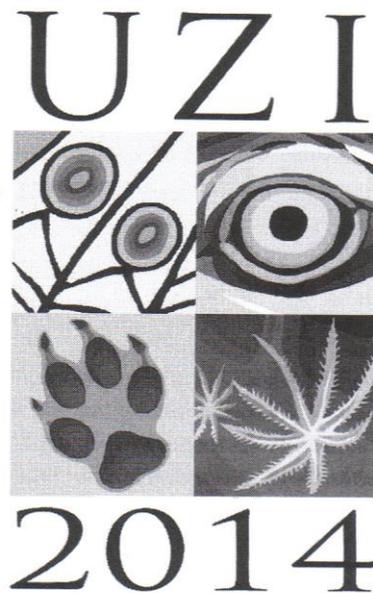
Marine talitrid amphipods have been demonstrated to be a key-information for ecological studies and for monitoring biodiversity at different levels, thus a correct identification at species level is a pre-requisite in conservation planes. Mediterranean species of the genus *Orchestia* Leach, 1815 are often syntopic; and their dichotomous keys are built only on adult males using the shape of merus/carpus of the seventh pereopod and of propodus/dactylus of the second gnathopod. Along the coast of Trapani and the Stagnone of Marsala (Sicily, southern Italy), from 2011 to 2014, some specimens of *Orchestia* have been collected. Following traditional dichotomous keys it has been possible to identify *O. stephenseni* Cecchini, 1928, *O. mediterranea* A. Costa 1853 and *O. montagui* Audouin, 1826. However, many specimens presented characters not described yet. Specifically, they presented different shapes of merus/carpus of the seventh pereopod and of propodus/dactylus of the second gnathopod. Consequently, an approach of Integrative Taxonomy, combining molecular, morphological and biometric analyses, was followed to identify these specimens. The specimens were stored in absolute ethanol for genetic analyses, and successfully amplified for a 650bp fragment of the mitochondrial gene cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) using the pair of primers LCO-1490 and HCO-2198. The specimens were measured from tip of rostrum to apex of telson, and flagellum articles of second antennae were counted. Finally, through the camera lucida-microscope, iconography was produced. DNA-based approach authenticated that the specimens with characters not described in dichotomous keys were *O. montagui*. Biometric analyses confirmed that the variation of the shapes in Gnathopod 2 and Pereopod 7 developed during growth. *Orchestia montagui* has been re-described with remarks on morphological variation. The smallest specimens showed macroscopic characters ascribable to *O. stephenseni* and other specimens showed macroscopic characters ascribable to *O. xylino* Lowry and Fanini, 2013, that should be considered *species inquirenda*.



PROCEEDINGS OF THE  
75<sup>th</sup> National Conference  
of the Unione Zoologica Italiana

Università degli Studi di Bari Aldo Moro  
Bari, 22-25 September 2014

*Supplemento a "Thalassia Salentina" n. 36 (2014)*



Edizioni Grifo

Official Sponsors:



*Fondazione  
Cassa di Risparmio di Puglia*



**Taylor & Francis Group**

With the sponsorship of:



**UNIVERSITA  
DEGLI STUDI DI BARI  
ALDO MORO**



COMUNE DI RUVO DI PUGLIA

Supplemento a "*Thalassia Salentina*" n. 36 (2014)  
periodico della Stazione di Biologia Marina - Porto Cesareo  
Direttore: Genuario Belmonte

ISSN 0563-3745

Stampa: Tiemme - Manduria

Edizioni Grifo  
via Sant'Ignazio di Loyola, 37  
73100 Lecce  
edizionigrifo@gmail.com

© 2014 Unione Zoologica Italiana

LUIGI MUSCO<sup>1</sup>, SABRINA LO BRUTTO<sup>2</sup>, DAVIDE IACIOFANO<sup>2</sup>,  
BARBARA MIKAC<sup>1</sup>, EUGENIA SCHIMMENTI<sup>2</sup>,  
TOMAS VEGA FERNANDEZ<sup>1</sup>, FABIO BADALAMENTI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Ecologia Marina, CNR-IAMC, via Da Verrazzano 17, Castellammare del Golfo

<sup>2</sup> Dip. STeBiCeF, Sezione di Biologia Animale, via Archirafi 18, University of Palermo

## FIRST MEDITERRANEAN RECORD AND DNA-BARCODE OF *EULALIA ORNATA* (PHYLLODOCIDAE, ANNELIDA) ASSOCIATED TO *SABELLARIA ALVEOLATA* (SABELLARIIDAE, ANNELIDA) REEFS

*Sabellaria alveolata* (L., 1767) reefs are commonly found along the NE Atlantic coast at temperate latitudes. *Sabellaria* reefs provide structural complexity in otherwise extensive sandy bottoms, thereby providing shelter to several reef-dwelling species. For this reason, *Sabellaria* reefs are considered to be diverse and valuable habitats deserving protection in EU. As a rule, the faunal composition of *Sabellaria* reefs is a composite of the species inhabiting the surrounding habitats. However, *Eulalia ornata* Saint-Joseph, 1888, is a Phyllodocidae species characteristically associated to *Sabellaria* reefs along the northern European coast (PLEIJEL, 1993). Compared to the NE Atlantic, Mediterranean *Sabellaria* reefs are smaller, less outspread, and poorly studied. In the framework of a study carried out to characterize the *S. alveolata* structures along the Sicily Channel, samples of *Sabellaria* reefs were collected at 3 Sicilian locations (Donnalucata, Eraclea Minoa, Triscina). Unexpectedly, phyllodocid specimens clearly belonging to *Eulalia* and characterized by a distinct colour pattern (body with two pairs of transverse olive-green bands and brown spots medially on each) were found in great number at each location living inside and among *Sabellaria* tubes. The specimens appeared different from *E. viridis* (L., 1767), already recorded in *Sabellaria* reefs of the Tyrrhenian Sea, while they appeared morphologically identical to the description of *E. ornata* by Pleijel (1993), as also confirmed by the above mentioned Author. As a consequence, *Eulalia ornata* is herein recorded for the first time in the Mediterranean Sea. Alive specimens were photographed and immediately stored in absolute ethanol for molecular analyses. Total DNA were extracted and the mitochondrial *cytochrome c oxidase subunit I* (COI) gene amplified using universal primer pairs. The COI data were integrated with the nuclear 28S rRNA gene barcode. The molecular identification through DNA barcoding enhances the prospects for species-level identifications globally using a standardized and authenticated DNA-based approach, and strongly supports the species delimitation between *E. ornata* and *E. viridis*. Our records confirm strong association of *E. ornata* with *Sabellaria* reefs also in the Mediterranean Sea.

### References

Pleijel F. 1993. Polychaeta. Phyllodocidae. *Marine Invertebrates of Scandinavia*, 8: 1-159.