



Università degli Studi di Palermo

FACOLTÀ DI SCIENZE MM. FF. NN.

Corso di Dottorato in Biologia Animale  
Settore scientifico disciplinare: Ecologia - BIO/07

**RISPOSTE ECOLOGICHE DEI FILTRATORI  
BENTONICI MARINI ALLA VARIABILITÀ INDOTTA  
DAI FENOMENI ANTROPICI**

COORDINATORE DEL DOTTORATO  
**Prof. Nicolò PARRINELLO**

TESI DI  
**Dott.ssa Valeria PALMERI**

TUTOR  
**Prof. Dr. Gianluca SARÁ**

XXIII CICLO – ANNO ACCADEMICO 2011 - 2012

---

DOTTORATO



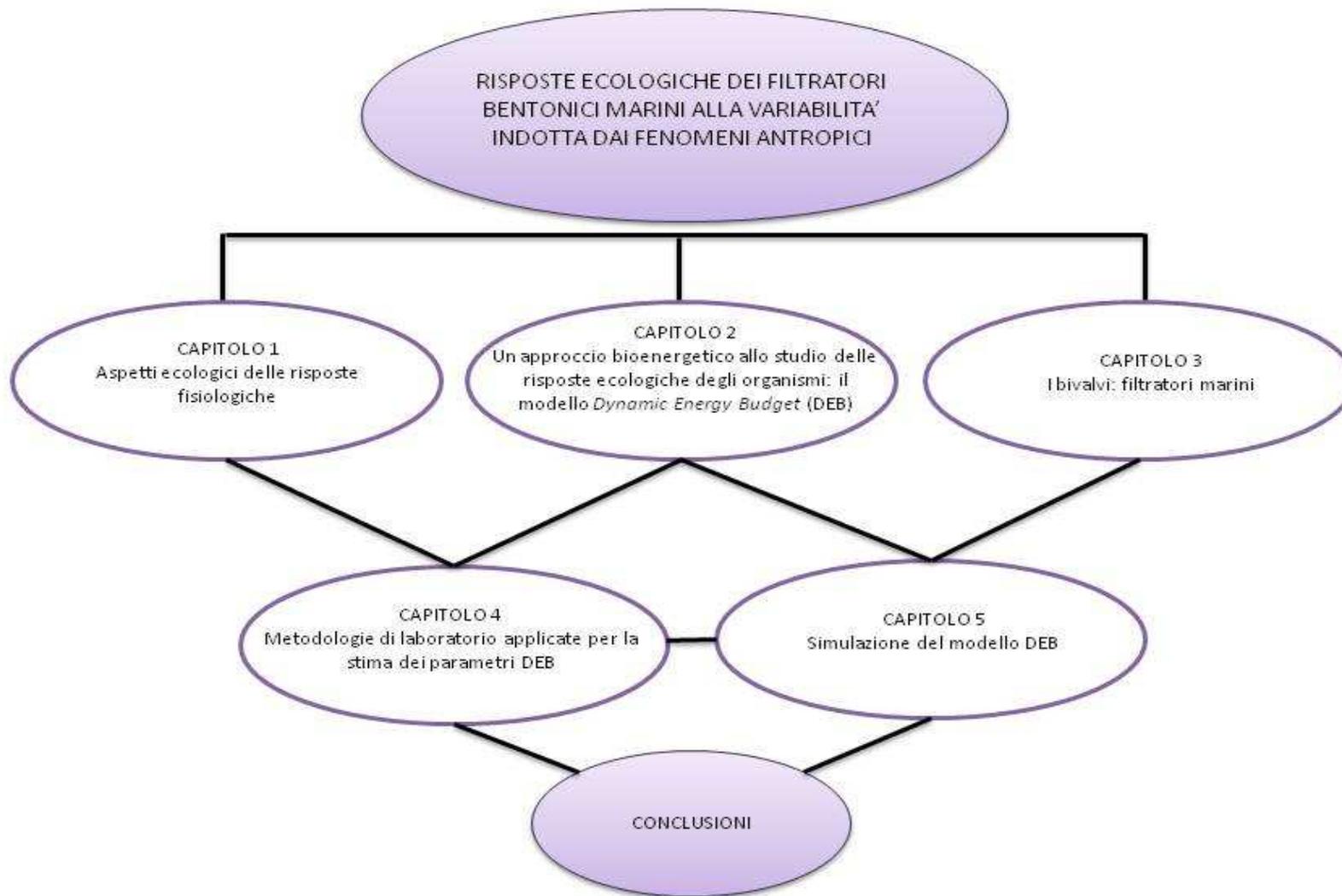
## RIASSUNTO

Tra i modelli di bioenergetica, il *Dynamic Energy Budget* (DEB) sembra soddisfare la necessità di riuscire a quantificare l'energia, sotto forma di cibo, realmente utilizzata dagli organismi per la crescita e la riproduzione. In questo modo, è possibile fornire delle informazioni più precise sui processi metabolici fondamentali degli organismi, anche al variare delle pressioni ambientali principali (e.g., cibo e variazioni climatiche). L'idea di base su cui poggiano le attività di questo lavoro di tesi, è stata quella di misurare esattamente l'ammontare di energia allocata al mantenimento delle strutture, all'accrescimento e alla riproduzione, partendo dalla quantità iniziale di risorse contenute nell'ambiente. Per fare ciò, sono state utilizzate in modo complementare le tecniche di misurazione dei tassi fisiologici descritte dal modello *Scope for Growth* (SFG) e i parametri energetici del modello DEB. Il calcolo del bilancio energetico è stato effettuato sui bivalvi *Brachidontes pharaonis* e *Mytilaster minimus*. Essi, da un punto di vista ecologico, svolgono negli ecosistemi sub- ed intertidali mediterranei un ruolo particolarmente importante agendo come *ecosystem engineer*. Quindi, una eventuale perdita di queste specie, avrebbe effetti sulle altre specie ad esse associate. Sulla base dei parametri DEB ottenuti per le due specie, è stato possibile affermare che in generale *B. pharaonis* mostra una maggiore plasticità fisiologica ed una migliore capacità di sfruttamento delle risorse energetiche. Strategia che ha permesso a questa specie di colonizzare alcune aree mediterranee, anche a scapito della specie autoctona *M. minimus*. Inoltre, attraverso simulazioni effettuate combinando i risultati ottenuti, con i dati ambientali reali di temperatura e quantità di cibo, espressa dalla quantità di clorofilla in sospensione, è stato possibile confrontare le *performance* teoriche di questi organismi, con dati provenienti da osservazioni sul campo. I risultati della validazione, hanno confermato l'abilità del modello DEB nella simulazione dei tassi di crescita e di riproduzione di una specie, se le condizioni di cibo e temperatura sono note.

**Parole chiave:** modelli bioenergetici, *Dynamic Energy Budget*, *Brachidontes pharaonis*, *Mytilaster minimus*, variabilità termica, variabilità trofica.

## INDICE

INTRODUZIONE .....	2
CAPITOLO 1 .....	9
Aspetti ecologici delle risposte fisiologiche.....	9
1.1 L'omeostasi: il processo chiave della vita.....	11
1.2 La temperatura come driver principale del funzionamento di un organismo.....	14
1.3 Il cibo come altro fattore che influenza la fitness degli organismi.....	15
1.4 L'energia come chiave di lettura della <i>fitness</i> di un organismo.....	16
CAPITOLO 2 .....	18
Un approccio bioenergetico allo studio delle risposte ecologiche degli organismi: il modello <i>Dynamic Energy Budget</i> (DEB) .....	18
2.1 Modelli bioenergetici a confronto .....	18
2.2 L'approccio meccanicistico: il modello DEB .....	21
2.3 I parametri DEB.....	27
2.3.1 Tasso di ingestione .....	27
2.3.2 Coefficiente di forma.....	30
2.3.3 Costi di mantenimento volume – specifici .....	31
2.3.4 Temperatura di Arrhenius.....	32
2.3.5 Densità massima di immagazzinamento.....	34
2.3.6 Costi delle strutture volume – specifici .....	35
2.3.7 Kappa ( $\kappa$ ).....	35
CAPITOLO 3 .....	37
I bivalvi: filtratori marini.....	37
3.1 Aspetti morfologici ed ecologici dei bivalvi: <i>Brachidontes pharaonis</i> e <i>Mytilaster minimus</i> specie oggetto di studio.....	37
CAPITOLO 4 .....	45
Metodologie di laboratorio applicate per la stima dei parametri DEB.....	45
Introduzione.....	45
Materiali e metodi.....	50
Risultati e discussioni .....	61
CAPITOLO 5 .....	78
Simulazione del modello DEB: la mappa delle distribuzioni dei bivalvi delle coste rocciose nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale.....	78
Razionale.....	78
Materiali e metodi.....	79
Risultati e discussioni .....	86
CONCLUSIONI.....	122
Ringraziamenti .....	126
Bibliografia.....	127



## INTRODUZIONE

In un contesto di continui cambiamenti globali che giorno dopo giorno modificano le caratteristiche degli ecosistemi naturali si è tentato, attraverso questo lavoro di tesi, di individuare uno strumento idoneo all'analisi delle risposte eco-fisiologiche messe in atto da un organismo, per far fronte alle perturbazioni dell'ambiente che lo circonda. Tra i vari strumenti disponibili, lo studio dei bilanci energetici di un organismo sembra essere quello più idoneo nella definizione di tutte quelle circostanze e condizioni ambientali che rendono possibile la riproduzione di una specie, presupposto fondamentale per garantire la stabilità di una popolazione nel tempo. Dalle conoscenze sulla bioenergetica di un singolo organismo infatti, si può giungere a comprendere meglio anche il funzionamento dell'intera popolazione, della comunità e dell'ecosistema nella sua totalità. In questo ambito, l'impiego di specifici modelli di bioenergetica, come il *Dynamic Energy Budget* (DEB, Kooijman, 1993) utilizzato in questo lavoro di tesi, sembra essere l'approccio corretto all'analisi delle risposte eco-fisiologiche degli organismi alla variabilità ambientale indotta dai fenomeni antropici.

Gli effetti dell'azione antropica sugli ecosistemi, sia a scala locale che globale, si manifestano principalmente con lo sfruttamento delle risorse naturali, generato da un continuo aumento dei fabbisogni dell'uomo (Halpern et al. 2008). Inevitabilmente, questi comportamenti, determinano una modifica delle condizioni naturali degli ecosistemi che, quindi, possono generare nuove ed inaspettate configurazioni ecologiche, nuovi schemi tali da indurre, amplificare o addirittura modificare le risposte ecologiche degli organismi. Con tutte le sue attività, l'uomo provoca alterazioni degli equilibri naturali dell'ambiente. Il risultato di ciò, è spesso rappresentato da una perdita netta di biodiversità causata da una minore *fitness* degli organismi.

Una conseguenza diretta di tale fenomeno è sicuramente la perdita di funzioni ecosistemiche nonché, in termini puramente economici, di tutti i beni ed i servizi forniti da un ecosistema ad elevata biodiversità. In questo contesto, l'analisi degli effetti delle diverse attività umane sul funzionamento ecosistemico, può fungere da indicatore critico dello stato di salute dell'ecosistema stesso. Come evidenziato da De Groot et al. (2002), il termine *ecosystem function* viene utilizzato dalla letteratura scientifica con varie e talvolta contraddittorie accezioni. Alcune volte tale termine viene utilizzato in

riferimento alle funzioni interne di un ecosistema (e.g., il mantenimento dei flussi energetici, la riciclaggio dei nutrienti, le interazioni tra le reti trofiche). In altri casi, con il termine funzioni ecosistemiche, ci si riferisce ai benefici che l'uomo trae dallo sfruttamento delle proprietà e dei processi di un ecosistema (ad esempio produzione di cibo, materie prime etc.). In generale, vengono esplicitamente definite funzioni ecosistemiche quelle capacità dei processi naturali di fornire beni e servizi che possono, direttamente o indirettamente, soddisfare le necessità dell'uomo (De Groot, 1992).

L'unico mezzo oggi a nostra disposizione per chiarire il ruolo che le diverse specie hanno nella regolazione delle proprietà ecosistemiche, è analizzare attentamente l'effetto che l'eventuale perdita di una o più specie, avrebbe sul funzionamento dell'intero ecosistema. Per far ciò, è necessario studiare le singole risposte ecologiche che gli organismi forniscono, soprattutto in termini di utilizzazione delle risorse energetiche disponibili nell'ambiente. Infatti, poter conoscere *a priori* se un organismo con una data energia a disposizione (quindi cibo disponibile), riuscirà a mantenere una popolazione stabile nel tempo, può divenire, in questa ottica, l'informazione cardine nello studio di un ecosistema.

In questo progetto di tesi, attraverso l'applicazione dei più noti modelli di bioenergetica, tra i quali il DEB (Kooijman, 1993), ho analizzato i bilanci energetici di due specie di bivalvi, presenti nel Mediterraneo, note per la loro peculiare caratteristica di specie strutturanti l'habitat (*ecosystem engineer*, Jones et al. 1997). Sia la specie *Brachidontes pharaonis* che *Mytilaster minimus*, infatti, sono presenti nell'intertidale mediterraneo; la prima perché specie Lessepsiana giunta dal Mar Rosso attraverso il Canale di Suez e la seconda come specie autoctona (Sarà et al. 2000; Sarà e De Pirro, 2011). Le caratteristiche morfologiche (organismi isomorfi), fisiologiche (filtratori bentonici) e comportamentali (organismi strutturanti) di questi organismi, ne determinano la loro importanza come rappresentazione fedele delle condizioni dell'ecosistema in cui vivono. I bivalvi, sono in grado di registrare, anche a lungo termine, informazioni riguardanti la variabilità indotta dai fenomeni antropici e tradurre tali informazioni in termini di risposte fisiologiche analizzabili dal ricercatore.

L'importanza della loro presenza nell'ambiente marino è dovuta al fatto che essi giocano un ruolo fondamentale nello studio dei processi ecologici globali; tali organismi

sono sessili ed ubiquitari in tutto il Mediterraneo e negli altri ecosistemi intertidali a scala globale infine, svolgono un ruolo cruciale nel modificare e strutturare l'ecosistema in cui vivono (Gutierrez et al. 2003; Manganaro et al. 2009). Come anche altri organismi ectotermi (e.g., organismi che regolano la loro temperatura corporea in funzione di quella esterna), sono altamente influenzati dalle pressioni ambientali ed antropiche, incluse tra queste l'aumento della temperatura (Menge et al. 2008), la variazione di pH dovuta all'acidificazione delle masse d'acqua (*sensu* Hall-Spencer et al. 2009; Sarà e Savarino submitted) e la disponibilità di cibo indotta dai contaminanti organici (Sarà et al. submitted) e chimici (Corsolini et al. 2007).

La maggior parte dei bivalvi è marina, di ambiente bentonico, sia di basso fondo che abissale ed essendo organismi sessili, prediligono vivere attaccati al substrato. Non potendo quindi spostarsi per ricercare il cibo, adottano la strategia trofica della filtrazione. In particolare, i bivalvi di substrato duro appartengono al gruppo dei filtratori passivi. Questo tipo di alimentazione, prevede la filtrazione di grandi quantità d'acqua per catturare le particelle in essa sospese. Il flusso di corrente permette agli organismi sia di ricavare cibo e ossigeno, sia di eliminare le scorie metaboliche. Il meccanismo di alimentazione per filtrazione gioca un ruolo di fondamentale importanza all'interno degli ecosistemi marini. I bivalvi filtratori, infatti, non solo rappresentano un mezzo di trasferimento e riciclo delle sostanze nutritive dalla colonna d'acqua ai sedimenti, alternando i processi di filtrazione - escrezione ma, assimilando tali sostanze, garantiscono una minore torbidità dell'acqua, con conseguenze positive per l'intero ecosistema (Manganaro et al. 2009). Inoltre, essi possono esercitare un controllo *top-down* sulla produzione fitoplanctonica, riducendo la disponibilità del carbonio organico sospeso e trasferendolo al comparto dei sedimenti, generando, così, condizioni di anossia (Newell e Ott, 1999).

Negli ultimi anni si è assistito ad un sempre maggiore interesse della comunità scientifica riguardo agli effetti delle specie invasive lessepsiane, soprattutto quando la loro presenza diviene una minaccia per le specie autoctone (Sarà et al. 2000; 2006). Ciò porta alla ricerca spasmodica delle circostanze che si pongono alla base di questa differente capacità di resistenza ambientale, che rende una specie più idonea, rispetto ad un'altra, alla colonizzazione di nuovi habitat.

In questo contesto, il confronto delle caratteristiche fisiologiche e metaboliche tra specie invasive e native, può rappresentare uno strumento fondamentale per comprendere alcuni aspetti della capacità adattativa e della plasticità di questi organismi. In particolare, se alla base di queste caratteristiche vi sono differenze nell'utilizzo delle risorse energetiche disponibili, è possibile che anche le differenti strategie vitali dipendano da esse.

Lo scopo di questo lavoro, è quello di presentare i primi risultati degli studi condotti sulle proprietà energetiche di una specie invasiva, il *B. pharaonis* e di una specie nativa mediterranea, il *M. minimus*, analizzate in funzione dei processi fisiologici principali messi in atto dagli organismi (e.g., consumo di ossigeno, tasso di alimentazione, crescita). Attraverso l'applicazione del modello DEB infatti, è stato possibile calcolare il bilancio energetico di entrambe le specie, e sulla base di questo, verificare una eventuale maggiore competenza nell'allocazione energetica di una specie rispetto all'altra, fattore che ne determinerebbe una migliore strategia competitiva.

## Descrizione dei capitoli

**Capitolo 1.** Lo scopo del primo capitolo di questa tesi è stato quello di analizzare l'importanza delle risposte fisiologiche che gli organismi manifestano in natura, da un punto di vista ecologico. Il concetto di risposta eco-fisiologica infatti, gioca un ruolo di primaria importanza nello studio delle relazioni tra singoli organismi e ambiente in cui essi vivono. Le modalità attraverso le quali un individuo reagisce ai cambiamenti del proprio habitat naturale, infatti, non sono altro che il risultato di una serie di modifiche eco-fisiologiche che questo mette in atto per garantire la sopravvivenza della specie. Inevitabilmente, per esercitare al meglio le proprie funzioni ecologiche ed assicurare la stabilità della specie, un organismo è sottoposto a compromessi (detti *trade-off*), soprattutto dal punto di vista dell'allocazione energetica. Il concetto di *trade-off*, è ampiamente trattato negli studi riguardanti l'ecologia fisiologica; esso è di primaria importanza nell'analisi delle caratteristiche energetiche di un organismo. Alla base del funzionamento di ogni organismo, infatti, vi è la necessità di gestire la distribuzione dell'energia disponibile, in maniera da portare a termine i processi e le attività vitali principali, con un bilancio energetico finale positivo. L'individuazione della finestra

energetica all'interno della quale un organismo definisce alcuni tratti della propria *life history*, rappresenta quindi il presupposto fondamentale per lo studio delle strategie comportamentali e adattative di una specie. In particolare, nel capitolo 1 della presente tesi, verranno affrontati questi temi al fine di gettare le basi per lo studio bioenergetico dell'ecologia di una specie.

**Capitolo 2.** Nel secondo capitolo di questa tesi sono stati studiati nel dettaglio gli aspetti dell'approccio bioenergetico nell'analisi delle risposte eco-fisiologiche di un organismo. In particolare, sono state descritte alcune teorie di bioenergetica (e.g., *Scope for Growth*, *Metabolic Theory of Ecology* e *Dynamic Energy Budget*). Particolare enfasi è stata posta alla teoria *Dynamic Energy Budget* (DEB, Kooijman, 1993) e alla sua applicazione, in questo lavoro, attraverso il modello DEB che da essa deriva. Questo modello nasce con lo scopo di fornire uno strumento per l'analisi dei bilanci energetici adottati da un organismo, in funzione delle principali variabili ambientali da cui essi possono essere influenzati (e.g., temperatura e cibo). Per far ciò, esso si basa su una serie di parametri standard attraverso i quali è possibile calcolare i) l'ammontare di energia immagazzinata da un singolo organismo all'interno del comparto delle riserve (si veda paragrafo 2.2) e, ii) le frazioni energetiche che, a partire dalle riserve, vengono devolute ai differenti comparti strutturali di un organismo. All'interno del capitolo 2 sono stati dettagliatamente descritti i parametri principali utilizzati in questo lavoro di tesi. Inoltre, alcuni paragrafi sono stati dedicati alla descrizione dei concetti chiave della teoria DEB, come ad esempio l'omeostasi, gli stadi vitali principali di un organismo, le riserve e la *Synthesising Unit* (SU).

**Capitolo 3.** Il terzo capitolo è quello dedicato alla descrizione delle specie oggetto di studio, ossia i bivalvi appartenenti alle specie *Brachidontes pharaonis* e *Mytilaster minimus*. La scelta di affrontare l'analisi delle caratteristiche bioenergetiche di queste specie è collegata ad alcune loro peculiarità che le rendono, da un punto di vista ecologico, specie fondamentali degli ecosistemi intertidali mediterranei. Ad esempio, entrambe le specie sono *ecosystem engineer*, ossia organismi in grado di dar vita alla formazione di nuovi habitat (non solo attivamente, attraverso i processi che mettono in atto, ma soprattutto attraverso la loro conformazione morfologica), favorevoli alla

colonizzazione da parte di nuove specie che in essi trovano rifugio, risorse alimentari etc. Quindi, l'eventuale perdita di queste specie, determinerebbe anche la scomparsa di quelle ad esse associate. Inoltre, il fatto che *M. minimus* è una specie nativa del Mediterraneo, e *B. pharaonis* è una specie invasiva lessepsiana, che negli ultimi anni ha colonizzato alcune aree mediterranee anche a scapito della specie autoctona (Sarà et al. 2000), fa ipotizzare una differente strategia e differenti competenze nell'utilizzo delle risorse energetiche, e ciò apre le porte ad uno studio più approfondito dei tratti energetici di entrambe le specie.

**Capitolo 4.** Nel quarto capitolo sono state descritte le tecniche di misurazione dei tassi fisiologici tradizionalmente utilizzate per il calcolo dei parametri *Scope for Growth* (SFG), successivamente applicate per la stima dei principali parametri del modello DEB. In questo lavoro di tesi, infatti, i due modelli sono stati adottati in maniera complementare, al fine di semplificare la stima dei bilanci energetici di un organismo. Uno dei vantaggi nell'utilizzo delle tecniche descritte dallo SFG, infatti, è quello di calcolare, attraverso esperimenti di laboratorio, la quantità esatta di energia in entrata ed in uscita da un organismo. La stima dei parametri DEB invece, può essere effettuata solo in maniera indiretta mediante sostituzione, nelle equazioni del modello, delle variabili fisiologiche calcolate sperimentalmente. Tuttavia, a vantaggio del modello DEB vi è il fatto che questo si basa su alcuni principi chimico-fisici e termo-dinamici fondamentali, che permettono di generalizzare il funzionamento dei processi energetici di base a tutte le specie (Pouvreau et al. 2006).

La misura dei tassi fisiologici principali per la stima dei parametri DEB è stata condotta per entrambe le specie oggetto di studio in questo lavoro di tesi, ossia i bivalvi *Brachidontes pharaonis* e *Mytilaster minimus*. In particolare, in questo capitolo sono state descritte l'area di campionamento e le metodologie sperimentali utilizzate per l'allestimento degli esperimenti in laboratorio.

Oltre all'approccio pratico, nel capitolo 4 è stato descritto l'approccio teorico-matematico che sta alla base della stima di quei parametri che possono essere calcolati solo mediante il supporto di apposite *routine* di calcolo.

**Capitolo 5.** Il capitolo 5 è stato dedicato alla descrizione delle simulazioni attraverso le quali è stato possibile catturare le *performance* degli organismi oggetto di studio in funzione di dati reali di temperatura e cibo. La *fitness* di tre specie di bivalvi in Mediterraneo è stata valutata sulla base di alcune variabili di *output* delle simulazioni. Queste variabili, hanno compreso i tratti distintivi principali di una specie che rappresentano una chiave di lettura adeguata per la comprensione di come gli organismi possano rispondere ed evolvere nel tempo.

# CAPITOLO 1

## Aspetti ecologici delle risposte fisiologiche

La risposta ecologica è una reazione dei componenti di un ecosistema, ad un cambiamento, più o meno brusco, delle caratteristiche iniziali dell'ecosistema stesso (*sensu* Dodson et al. 2000). Se però prendiamo in considerazione le reazioni dei singoli organismi, e quindi rimpiccioliamo la scala a livello di singolo individuo, diventa più corretto utilizzare il termine di risposta eco-fisiologica.

Gli organismi possono usare molteplici meccanismi per rispondere ad una modifica dell'ambiente in cui vivono, ed in questo ambito, il ruolo dell'ecologia fisiologica è quello di fornire strumenti pratici per lo studio del funzionamento di un organismo, in funzione dell'ambiente altamente variabile in cui esso vive (Levin, 2009). All'interno di questo, l'organismo si comporta come un "rilevatore" di cambiamento, raccogliendo le informazioni dall'ambiente e fornendo una risposta analizzabile (*sensu* Levin, 2009). Lo studio delle risposte eco-fisiologiche quindi, rappresenta l'approccio migliore, per comprendere in modo meccanicistico il funzionamento di un organismo (Levin, 2009). A partire da ciò, attraverso l'ecologia fisiologica, si può giungere a studiare i sistemi biologici più complessi (e. g., popolazioni, comunità ed ecosistemi), e le interazioni tra questi e l'ambiente in cui vivono (Levin, 2009).

L'ecologia fisiologica tratta quindi degli aspetti fisiologici della risposta ecologica di un singolo organismo; ciò presuppone una conoscenza delle strategie di risposta di un individuo ed al contempo, una conoscenza approfondita di come i gradienti ambientali e le scale spazio-temporali di azione dei fattori ambientali, influenzino la risposta al livello di singolo individuo (Kearney et al. 2010). Solo l'Ecologo, che ha una approfondita conoscenza dei meccanismi di interazione tra organismi ed ambiente e padroneggia gli strumenti di studio della variabilità ambientale ed antropica (Benedetti-Cecchi et al. 2006), può riuscire nello studio della risposta ecologica individuale. Ciò pone le sue fondamenta sulla definizione del concetto di nicchia ecologica (Kearney e Porter, 2009). Il padre fondatore del concetto di nicchia ecologica fu G. Evelyn Hutchinson, il quale definiva i concetti di nicchia fondamentale come l'insieme delle condizioni di tolleranza di un organismo (ciò che è "possibile"), e di nicchia realizzata come il sottoinsieme di condizioni effettivamente occupato dall'organismo nella sua

interazione con gli altri individui co-specifici ed eterospecifici (ciò che è “osservato”) (Fig. 1.1) (Hutchinson, 1965).

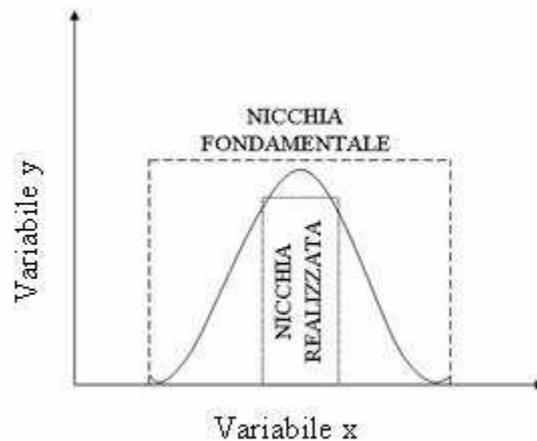


Fig. 1.1. Rappresentazione della nicchia fondamentale e di quella realizzata in funzione di due ipotetiche variabili x ed y.

Per poter studiare la graduazione della risposta ecologica di un singolo organismo, occorre prima di tutto conoscerne, con esattezza i limiti di tolleranza fisiologica, con cui esso potrà massimizzare il suo accrescimento nello spazio e nel tempo, nonché le sue strategie ecologiche (e.g., comportamentali). Entro tali limiti, l'organismo riesce a sopravvivere, accrescersi e riprodursi massimizzando l'*incoming* energetico. Il concetto di nicchia si basa quindi, proprio su quello spazio entro cui gli individui appartenenti ad una specie, sono in grado di massimizzare i tassi di accrescimento (Chase e Leibold, 2003). Tale condizione è realizzabile solo se l'organismo si accresce entro i suoi limiti fisiologici, solo se riesce ad adottare strategie che lo portano a coesistere nell'interazione con gli altri organismi conspecifici ed eterospecifici e, quindi, solo se riesce a massimizzare l'*incoming* energetico (Dodson et al. 2000).

Il concetto di massimizzazione dell'*incoming* energetico è il precursore del concetto di energia come *currency* dei processi ecologici (*sensu* Odum, 1953). Ogni organismo funziona solo ed esclusivamente su meccanismi che gli possano permettere di ottenere, in qualunque condizione ed in qualunque interazione, la massima energia disponibile da allocare al mantenimento, all'accrescimento ed alla riproduzione.

La disciplina che studia le modalità di allocazione dell'energia all'interno di un organismo è chiamata **bioenergetica**; essa riguarda lo studio dei meccanismi di come

l'energia è ridistribuita tra tutte le funzioni essenziali di un organismo (Kooijman, 2010). Affinché un organismo possa accrescersi in massa, è necessario che il suo bilancio energetico sia positivo, ossia vi sia energia disponibile per l'accrescimento, fatto salvo l'ammontare di energia da spendere per il mantenimento metabolico (Kooijman, 2010).

In questo contesto, ci si riferisce spesso all'habitat di accrescimento, definito come l'insieme di tutte le condizioni ambientali che fanno sì che un organismo abbia un bilancio energetico in positivo, da spendere nella riproduzione (*sensu* Dodson et al. 2000). Per potere svolgere tutti i processi biologici essenziali all'interno dei limiti chimici e fisici dettati dall'ambiente in cui essi vivono, gli organismi regolano le loro funzioni vitali attraverso l'equilibrio detto omeostasi (Dodson et al. 2000).

### **1.1 L'omeostasi: il processo chiave della vita**

Il termine omeostasi (dal greco ομείο – uguale e στάση – stesso luogo, i.e., = “mantenimento dell'equilibrio”), indica la tendenza naturale da parte dell'individuo, a regolare i bilanci interni di tempo, materia ed energia che permettono la sopravvivenza, l'accrescimento e la riproduzione dell'individuo stesso (Dodson et al. 2000). Il concetto di omeostasi è già noto da tempo in fisiologia, scienza che studia le funzioni a livello del singolo organismo (Cannon, 1932). Essa è il processo chiave della vita; rappresenta l'abilità che ha ogni singolo organismo di mantenere costanti nel tempo i propri processi metabolici indipendentemente dalle fluttuazioni, anche repentine, dell'ambiente esterno (Kooijman, 2010).

Ed è proprio attraverso lo studio approfondito dell'equilibrio omeostatico realizzato da un organismo, che è possibile comprendere e studiare le risposte fisiologiche che esso mette in atto al variare dei fattori chimico – fisici (e.g., temperatura dell'ambiente circostante, concentrazione di cibo, pH, radiazione luminosa etc.) che definiscono i limiti all'interno dei quali l'organismo vive, si accresce e mostra un successo riproduttivo (Dodson et al. 2000). **Per far ciò, gli organismi reagiscono alle varie condizioni ambientali grazie ad una serie di adattamenti eco-fisiologici, attuati nell'ambito dei limiti caratteristici di ogni specie.** Tali limiti sono strettamente connessi alle caratteristiche ecologiche degli habitat in cui ogni specie vive. L'ambiente

marino ad esempio, costituisce un mondo particolarmente complesso per la varietà di sistemi biologici nonché di habitat e di specie animali in esso presenti. Gli organismi viventi ed il loro ambiente non vivente (abiotico), sono legati tra loro in modo interattivo reciproco (Odum, 1953). Per capire meglio gli effetti che tali fattori abiotici possono avere sulla capacità di adattamento ed evolutiva delle comunità biotiche, è importante considerare alcuni esempi, riportati di seguito, che forniscono una dimostrazione di come un organismo reagisce alla variabilità ambientale.

Mentre tutti gli organismi regolano il contenuto di soluti intracellulari, l'omeostasi ionica extracellulare è attuata solo da organismi cosiddetti regolatori (Le Gal, 1988). Nell'ecosistema marino, questi comprendono la quasi totalità dei vertebrati marini; essi si sono adattati, attraverso i processi di regolazione a livello della membrana cellulare (osmosi), in modo da mantenere la concentrazione dei sali dei liquidi interni pressoché isosmotica rispetto all'acqua di mare. Le specie meno evolute invece, come la maggior parte degli invertebrati, sono totalmente o in parte osmoconformi con l'ambiente relativamente ai fluidi extracellulari (Fig. 1.2). I Molluschi Bivalvi marini ad esempio, cui appartengono le specie oggetto di studio, sono considerati in generale pecilosmotici, ovvero essi sono organismi che presentano nei fluidi extracellulari una composizione ionica ed una pressione osmotica simile all'acqua marina circostante, seguendone le variazioni di salinità (Prosser, 1986). Attraverso queste forme di regolazione gli organismi si adattano all'ambiente circostante, ed hanno evoluto con il tempo i meccanismi che hanno consentito loro di abitare luoghi con caratteristiche che vanno da quelle tipiche di un deserto a quelle di un oceano (Dodson et al. 2000).

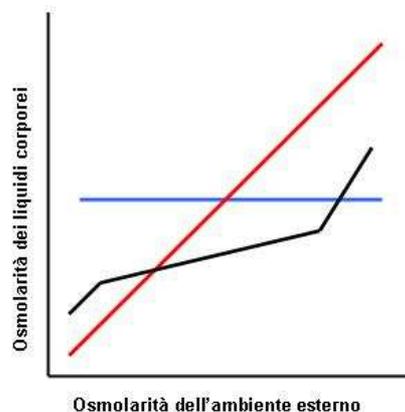


Fig. 1.2. Regolazione dell'osmolarità in relazione all'ambiente esterno, in rosso gli organismi osmoconformi, in blu gli osmoregolatori ed in nero gli osmoregolatori intermedi.

Oltre ad una risposta puramente fisiologica, come quella che prevede il coinvolgimento dei sistemi biochimici, la maggior parte degli organismi accoppia anche una strategia di tipo comportamentale in risposta ad un segnale esterno (Kubanek et al. 2005; Palmer et al. 2004). Ad esempio, gli organismi muniti di valve, come molti filtratori marini del bentos, sono in grado di modulare i tempi di chiusura delle valve per ritardare il riequilibrio con l'ambiente esterno quando esposti a stress osmotico con intense variazioni di salinità ambientale. Tale meccanismo, permette il mantenimento di una osmolalità costante dei fluidi extracellulari (Bayne, 1976). L'importanza adattativa del comportamento è collegata alla maggiore capacità di sopravvivenza e di riproduzione che un determinato tratto comportamentale può fornire ad un organismo (Dodson et al. 2000). **Tuttavia, alla base di ogni tratto comportamentale, vi è sempre il limite fisiologico dettato dall'utilizzo corretto dell'energia disponibile per l'animale.** Maggiore è la quantità di energia utilizzata per attuare una strategia comportamentale, minore sarà quella disponibile per l'accrescimento e la riproduzione (Dodson et al. 2000). In pratica, la gestione dell'energia da parte di un organismo è sottoposta a dei compromessi tali da permettere il corretto funzionamento nelle sue varie fasi vitali. Uno dei concetti su cui si basa l'ecologia fisiologica, è infatti come detto sopra, proprio quello di *trade-off*. Esso sottolinea l'impossibilità, da parte di un individuo, di mettere in atto contemporaneamente, e al massimo, diversi processi (o azioni), se non a scapito di uno di essi (Levin, 2009), poiché i differenti tratti non sono indipendenti tra loro, ma sono tra essi legati.

Sebbene quello di *trade-off* sia un concetto nuovo e forse di non immediata comprensione, esso si combina perfettamente con le leggi classiche della termodinamica, alle quali tutti gli organismi sono sottoposti, e cioè che l'energia di un sistema termodinamico né si crea né si distrugge, ma si trasforma (Primo Principio della Termodinamica). Infatti, con il termine *trade-off*, si apre al concetto di bilancio di materia ed energia che un organismo realizza durante la sua esistenza: esso corrisponde **ad un dare e avere tra l'energia** assunta attraverso l'alimentazione e l'energia consumata nei processi biochimici essenziali (e.g., metabolismo basale, sintesi ed accrescimento, mantenimento e riproduzione; *sensu* Perrin e Sibly, 1993). In questo contesto, il fattore limitante principale che deve essere preso in considerazione, soprattutto in condizioni naturali, è la capacità di un organismo, di allocare l'energia ai

suoi diversi compartimenti, in maniera tale da soddisfare ritmicamente ogni stadio vitale (*sensu* Levin, 2009).

Lo studio delle caratteristiche energetiche di una specie, quindi, è diventato negli ultimi anni l'argomento maggiormente trattato dagli ecologi fisiologici che, spesso, **ritengono l'energia il fattore chiave delle differenze strategiche delle varie specie** (Nisbet et al. 2011; Sarà et al. 2011). Anche attraverso questo lavoro di tesi, si è tentato di definire meglio il ruolo dell'allocazione energetica negli organismi, ed in particolare nelle due specie di bivalvi, che sono oggetto di studio. Infatti, l'analisi delle loro caratteristiche energetiche, in funzione dei principali fattori che ne influenzano il funzionamento (e.g., temperatura e cibo), è lo strumento fondamentale per comprendere a quale *trade-off* esse sono sottoposte in modo da massimizzare l'allocazione dell'energia ai processi vitali e determinarne il potenziale di penetrazione in un certo habitat.

## **1.2 La temperatura come driver principale del funzionamento di un organismo**

Come già detto, le risposte fisiologiche coinvolgono i diversi livelli di organizzazione di un sistema biologico. A livello molecolare, tra le risposte fisiologiche principalmente studiate negli ultimi anni vi è quella riguardante le proteine da shock termico, chiamate dalla letteratura anglosassone con i termini *Heat Shock Protein* (HSP) (Feder et al. 1997). E' stato dimostrato, infatti, che l'aumento eccessivo della temperatura esterna determina nelle cellule di un organismo, la produzione di tali proteine specifiche (viz. chaperonine) per la riparazione dei tessuti a livello proteosomale (Hofmann et al. 1995). Questo meccanismo di difesa non viene scatenato solo in seguito all'esposizione alle alte temperature, ma anche da una grande varietà di stress ambientali (Sørensen et al. 2003). Di fatto, la temperatura è una delle variabili abiotiche principali che regola le funzioni vitali di un organismo; per tale ragione essa è spesso il fattore principale negli studi eco-fisiologici su qualsiasi specie (Dodson et al. 2000). Basti pensare alla funzione che la temperatura svolge nel regolare l'attività enzimatica, e quindi il metabolismo, di un organismo (Brown et al. 2004). Attraverso i suoi effetti sulla cinetica delle reazioni biochimiche, la temperatura influenza la distribuzione e la diversità degli ectotermi sulla Terra (Allen et al. 2002). In generale le risposte alle variazioni di temperatura possono essere di due tipi: risposta cronica, a cui appartiene il meccanismo di acclimatazione, e

risposta evolutiva, a cui appartiene il meccanismo adattativo; in entrambi i casi, la risposta finale dipende dai meccanismi metabolici che si attuano (Freitas et al. 2011). I processi metabolici, infatti, rappresentano l'insieme di reazioni biochimiche che governa il flusso di energia e di materia all'interno di un organismo (Brown e Gillooly, 2003). La velocità a cui avvengono le reazioni metaboliche governa anche gli altri tassi biologici fondamentali, in particolare i tassi di sopravvivenza, crescita e riproduzione e, a loro volta, questi, determinano il tasso di crescita dell'intera popolazione (Gillooly et al. 2001).

Alcuni lavori, hanno evidenziato che lo studio dei processi metabolici, può essere l'elemento chiave per analizzare e predire le risposte ecologiche degli ecosistemi alla variabilità termica (Allen et al. 2002; Gross, 2009). Quindi, l'utilizzo di specifici modelli di bioenergetica che analizzano le variazioni delle reazioni metaboliche, in funzione delle variabili ambientali, può essere, l'approccio corretto all'analisi delle risposte eco-fisiologiche indotte dai cambiamenti globali.

### **1.3 Il cibo come altro fattore che influenza la fitness degli organismi**

Oltre alla temperatura, l'altro fattore ecologico chiave nello studio delle risposte eco-fisiologiche di un organismo è rappresentato dal cibo. I bivalvi di questa tesi si alimentano per filtrazione delle particelle presenti in colonna d'acqua e, i loro tassi di crescita si basano sul consumo e la trasformazione del fitoplancton, e delle altre fonti di cibo di natura detritale (Sarà, 2006), in energia spendibile per il mantenimento dei tessuti (Graf et al. 1982). Per molti di questi organismi la quantità, la qualità e la disponibilità di cibo nell'habitat in cui vivono può essere limitante (Bayne e Newell, 1983; Navarro e Thompson, 1995; Widdows et al. 1979), e ogni variazione spaziale e temporale di queste variabili, può influenzarne la crescita, il metabolismo e la distribuzione (Mayzaud et al. 1989; Smaal et al. 1986).

Attraverso l'alimento gli organismi traggono il fabbisogno energetico necessario per il corretto funzionamento delle funzioni vitali, nonché per l'accrescimento delle strutture. Considerando l'ambiente come un serbatoio infinito virtuale di energia, eventuali alterazioni nelle sue caratteristiche e nelle dinamiche di acquisizione da parte degli organismi dovute all'azione degli impatti antropici, si potrebbero riflettere sulle

caratteristiche, in termini di quantità e qualità di energia introitabile dall'organismo (*sensu* Sarà, submitted). Ciò avrebbe delle ripercussioni a cascata sulla capacità di trasformazione dell'energia da parte di un organismo, con effetti chiari sulle risposte ecologiche analizzate. Infatti, l'abilità di un organismo di rispondere ai cambiamenti dell'ambiente, dipende in primo luogo dalla plasticità delle sue risposte, senza dimenticare però i vincoli dettati dal suo patrimonio genetico (Bergquist et al. 2004). I diversi meccanismi che possono essere messi in atto a vari livelli di complessità biologica, agiscono comunque sulla base di un sistema di informazione e di risposta basato sui circuiti a *feedback* che, nel caso degli organismi, vengono messi in atto mediante i meccanismi omeostatici (Odum, 1953). Tuttavia, lo studio degli adattamenti che interessano un singolo organismo, è molto più complesso e, come descritto nei paragrafi precedenti, fa parte della più ampia disciplina scientifica definita ecologia fisiologica.

#### **1.4 L'energia come chiave di lettura della *fitness* di un organismo**

Se per sostenere i processi metabolici e sopravvivere in condizioni ambientali avverse, un organismo deve spendere molta energia, secondo le regole del *trade-off*, essa verrà sottratta ad altre funzioni quali ad esempio accrescimento e riproduzione. Infatti, anche l'equilibrio tra mantenimento, spesa per l'accrescimento e riproduzione è soggetto a *trade-off* (Charnov, 1993; Roff, 1992). La quantità di energia gestibile da un organismo, ossia quella quantità di energia da allocare al mantenimento ed alle altre funzioni, è pari a quella ingeribile grazie alla sua abilità, settata geneticamente (e.g., maggiore velocità durante la predazione) e grazie alle strutture di acquisizione (e.g., organi del tratto digerente, apertura boccale etc.) tipiche della specie. Se l'organismo, per potere introitare un certo *quantum* di energia deve spendere molto, esso deve sottrarre tale energia alle funzioni di accrescimento e riproduzione in quanto la quantità introitabile è sempre costante e dipende anche dalla quantità di energia disponibile nell'ambiente. L'essenza di questi concetti sta alla base della moderna bioenergetica, scienza che studia i bilanci energetici di tutti gli organismi. L'utilizzo dei bilanci energetici in Ecologia scaturisce dalla consapevolezza che un organismo non può sottrarsi al rispetto delle leggi della termodinamica, e quindi deve necessariamente allocare l'energia ad esso disponibile, in maniera da approvvigionare, su scala temporale, le varie fasi del suo

ciclo vitale e, quando necessario (e.g., in condizioni ambientali sfavorevoli), soddisfare il fabbisogno energetico di ogni processo indispensabile a scapito di altri (Fig. 1.3).

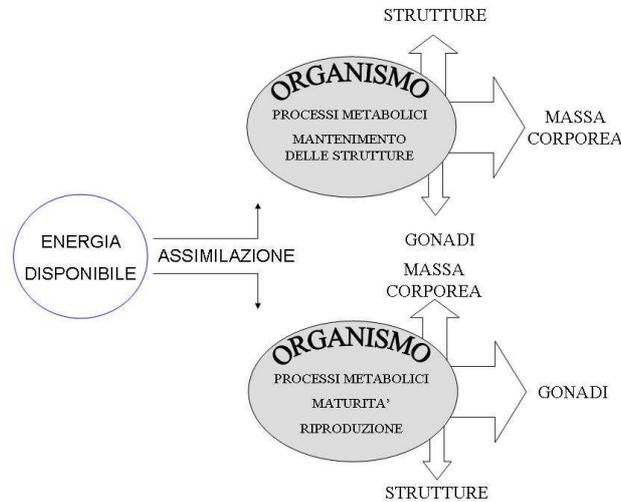


Fig. 1.3. Allocazione energetica tra i vari compartimenti di un organismo.

In generale, la maggior parte dei modelli esistenti in letteratura che sfruttano i principi della bioenergetica, propongono metodi per quantificare l'ammontare totale di energia disponibile per le attività metaboliche, per l'accrescimento somatico e gonadico e per la riproduzione (Wong et al. 2003). Tuttavia, in nessun modello, o solo in pochissimi casi, la ricerca scientifica è riuscita a definire esattamente il destino di questa energia, ossia quali sono le regole esatte in natura che un organismo segue per "ridistribuire" l'energia rimanente, dopo l'uso metabolico, tra soma e gonadi.

Tra i vari modelli di bioenergetica, quello che sembra soddisfare tale necessità, è il modello del *Dynamic Energy Budget* (DEB – Kooijman, 1993).

Nel secondo capitolo di questa tesi verrà approfondito il tema riguardante l'approccio bioenergetico allo studio delle risposte ecologiche degli organismi, con particolare riferimento proprio al modello DEB.

## CAPITOLO 2

### Un approccio bioenergetico allo studio delle risposte ecologiche degli organismi: il modello *Dynamic Energy Budget* (DEB)

#### 2.1 Modelli bioenergetici a confronto

Ogni processo naturale e ogni processo biologico partono da una fonte di energia disponibile. Le teorie di bioenergetica permettono di capire proprio quali siano le modalità di trasformazione dell'energia proveniente dall'ambiente e, come i flussi di questa attraverso l'organismo, le specie, le popolazioni e le comunità, determinino la struttura ed il funzionamento degli ecosistemi naturali (Duarte, 2007).

Tutti i processi metabolici di base come ad esempio sintesi, mantenimento cellulare, accrescimento e riproduzione, che si verificano all'interno degli organismi, possono essere quindi dimostrati tramite l'utilizzo di formule matematiche presentate nei modelli di bioenergetica. Esistono in letteratura numerosi modelli energetici in grado di spiegare gli effetti delle condizioni ambientali sulla crescita degli organismi marini ed in particolare dei bivalvi (Pouvreau et al. 2006).

Molti di questi modelli, propongono metodi differenti per quantificare l'ammontare totale di energia disponibile per le attività metaboliche. I primi studi riguardanti i bilanci energetici di un organismo risalgono al 1960, quando ebbe inizio l'*International Biological Program* (IBP) (van der Meer, 2006). Un approccio utilizzato dall'IBP fu basato sul concetto di *Scope for Growth* (SFG) (Bayne, 1976; Widdows e Staff, 2006). Con lo SFG si avviarono i primi tentativi per misurare alcune tra le componenti principali dei *budget* energetici (e.g., ingestione, assimilazione, escrezione), ma con lo stesso non si era in grado di determinare l'effettivo ammontare di energia che era destinabile in modo differenziale ad accrescimento e riproduzione (Bayne e Newell, 1983).

Il termine SFG fu coniato da Warren e Davis (1967) per indicare la quantità di energia assorbita da un organismo, disponibile per accrescimento e riproduzione. Tale modello si basa principalmente sul concetto che le risposte fisiologiche degli organismi, variano al variare delle condizioni ambientali (Bayne, 1976). Lo SFG viene definito come la differenza tra l'accumulo d'energia e le perdite metaboliche totali: le risposte

fisiologiche misurate in un organismo, non sono altro che la differenza tra l'energia acquisita mediante il cibo, che include tasso di alimentazione e digestione, e l'energia consumata per i processi metabolici. Nelle ultime decenni si è assistito ad un proliferare di studi ecologici fondati sullo SFG (Widdows et al. 1979; Widdows, 1985; Bayne et al. 1994; Halldorsson et al. 2007; Sarà et al. 2008; Ezgeta-Balic et al. 2011). Questo modello, fornisce una misura istantanea delle condizioni energetiche di un animale. Tuttavia, tale strumento risulta essere solo descrittivo e poco generalizzabile, anche in organismi appartenenti alla stessa specie. La differenza principale tra lo SFG ed altri modelli energetici più recenti come il *Dynamic Energy Budget* (DEB; Koojiman, 1993), attorno al quale si è sviluppata la presente tesi, consiste nelle modalità di parametrizzazione dei *budget* energetici di un organismo. Lo SFG è un modello molto semplificato che sfrutta i concetti di *input* ed *output* di energia (i.e., tanta ne entra, tanta ne esce), mentre non considera concetti che si sono poi rilevati fondamentali nella definizione del *quantum* disponibile per l'organismo, come invece avviene nel DEB con il concetto di **riserve** (Koojiman, 2010), che approfondiremo più avanti in questo capitolo. Appunto come si diceva, lo SFG assume che tutta l'energia in entrata è trasformata ed allocata direttamente alla riproduzione, all'accrescimento e al mantenimento senza passare dal comparto delle riserve (Filgueira et al. 2011) e senza priorità alcuna (*sensu* Kearney et al. 2010). Per tali ragioni, alcuni autori (e.g., van der Meer, 2006), ritengono che lo SFG sia insufficiente nella stima dei bilanci energetici e giudicano il DEB ed altri modelli più efficienti nella descrizione del *budget* energetico degli organismi. Per esempio, nell'ultima decade, una grande quantità di studi ha verificato l'affidabilità della *Metabolic Theory of Ecology* (MTE) (Kleiber 1961; Brown et al. 2004; Stegen et al. 2009). Se anche il presupposto fondamentale della MTE è rappresentato dal fatto che il tasso metabolico è governato dalla temperatura secondo schemi meccanicistici, essa è stata proposta per spiegare la distribuzione degli organismi su scale molto ampie e non per descrivere il funzionamento specifico di un individuo. Infatti, secondo la MTE, l'entità dei flussi di energia e materia all'interno di un ecosistema è la diretta conseguenza dell'entità dei tassi metabolici di tutti gli individui di un habitat. Se così fosse, la distribuzione degli organismi dovrebbe essere diretta funzione della temperatura e delle dimensioni somatiche degli organismi (Brown et al. 2004). La MTE prende spunto dall'ipotesi dell'*Universal Temperature*

*Dependence* (UTD). Per spiegare meglio la relazione tra UTD e metabolismo di un singolo organismo, Gillooly et al. (2001) hanno descritto, tramite una semplice equazione (2.1), la relazione che lega le dimensioni di un organismo alla temperatura:

$$I = i_0 M^{3/4} e^{-E/kT}, \quad (2.1)$$

dove  $I$  è il tasso metabolico individuale (*individual metabolic rate*),  $M$  è la sua taglia corporea (*body size*),  $E$  è l'energia di attivazione (*activation energy of metabolism*) (definita come l'energia media necessaria affinché gli enzimi possano catalizzare le reazioni biochimiche del metabolismo),  $T$  rappresenta la temperatura assoluta espressa in gradi Kelvin (*absolute temperature*),  $k$  la costante di Boltzmann (*Boltzmann's constant*) e  $i_0$  rappresenta la costante di normalizzazione indipendente da  $M$  e  $T$ .

In questa equazione, che rappresenta la relazione allometrica che descrive il rapporto esistente tra tasso metabolico e dimensioni dell'organismo, Gillooly e colleghi (2001) tengono conto della dipendenza delle reazioni metaboliche dalla temperatura e considerano questo legame come una legge "universale" che determina le sorti di una specie. L'importanza della temperatura per le reazioni biochimiche viene quindi messa in evidenza dal termine che include la costante di Boltzmann ( $e^{-E/kT}$ ,  $k$  = costante di Boltzmann). Inoltre, il ruolo delle dimensioni corporee viene indicato dalla potenza (3/4) della relazione allometrica, che stabilisce i ritmi dell'accrescimento relativo tre le parti del corpo.

La UTD sostituisce, per alcuni autori (Gillooly et al. 2001), il fattore  $Q_{10}$ , normalmente utilizzato per i sistemi biologici come una costante indipendente dalla temperatura. Tuttavia, tale assunto è incompatibile con le conoscenze attuali di fisiologia cellulare e dei meccanismi molecolari di adattamento evolutivo alla temperatura (Clarke, 2004). Ad ogni modo, tale teoria non fornisce una descrizione esplicita dei flussi energetici di base attraverso la riproduzione individuale. Ciò, porta alla ricerca di altri modelli che siano in grado di descrivere il collegamento dei flussi energetici al funzionamento metabolico di un organismo, indispensabili per la stima dei bilanci energetici.

Per capire in che modo, e a che livello, l'ammontare di energia può influenzare le attività vitali di un singolo organismo, gli studi di bioenergetica tentano di stimare in modo preciso e più accurato possibile, il *budget* energetico di questo sistema biologico complesso. Tuttavia, la vera sfida è quella di quantificare esattamente l'ammontare di

energia destinata in modo differenziale alla riproduzione ed al mantenimento delle strutture.

Il modello del *Dynamic Energy Budget* (DEB - Kooijman, 1993; 2010) sembra essere il miglior candidato a soddisfare tali necessità.

## 2.2 L'approccio meccanicistico: il modello DEB

Considerando l'attuale stato dell'arte riguardo ai modelli bioenergetici presenti in letteratura, risulta chiaro che il modello più accurato nel determinare esattamente la quantità di energia da allocare ai vari compartimenti di un organismo è il modello *Dynamic Energy Budget* (DEB), sviluppato dal biomatematico S.A.L.M. (detto Bas) Kooijman (1993) della Vrije University di Amsterdam (NL).

L'efficacia di questo modello è stata descritta in molti studi (Pouvreau et al. 2006; van der Veer et al. 2006; Sarà et al. 2011a; Sarà et al. 2012; Freitas et al. 2011).

Il modello DEB presenta diversi vantaggi rispetto ad altri modelli di bioenergetica affini, i) è un modello che si basa su principi fisiologici e termodinamici comuni a tutti gli organismi (Kooijman, 2001); ii) sebbene presenti un numero elevato di parametri, in esso risulta possibile integrare gli effetti delle variazioni ambientali (Alunno-Bruscia et al. 2009; Kearney et al. 2010), iii) consente il confronto della gestione dell'energia in diverse specie e l'analisi delle loro risposte fisiologiche alle variazioni ambientali sulla base di alcuni parametri standard (Kooijman, 2000).

Il modello del bilancio energetico dinamico sfrutta come concetto di base la capacità degli organismi di immagazzinare l'energia ad essi necessaria all'interno di riserve, che vengono conseguentemente utilizzate in relazione alle esigenze di ogni singolo individuo (Bacher e Gangnery, 2006; Nisbet et al. 2000). **Con il termine riserve si indica il *pool* di metaboliti sintetizzato a partire da substrati trofici presenti nel cibo ed utilizzato per lo svolgimento delle funzioni metaboliche.** A tal proposito, negli anni 80' Kooijman (1986a) pubblica la nota  *$\kappa$ -rule* e, con il passare degli anni tale teoria, che nel frattempo prese campo, è stata applicata più volte per descrivere le basi dell'allocazione energetica in vari organismi. La  *$\kappa$ -rule* afferma che una frazione ben precisa di energia  $\kappa$  viene periodicamente allocata al mantenimento delle strutture e alla

crescita. La rimanente frazione  $1-\kappa$  viene utilizzata dall'organismo per raggiungere la maturità sessuale e riprodursi (Fig. 2.1) (van der Meer, 2006).



Fig. 2.1: Schema della  $\kappa$ -rule (tratto e modificato da van der Meer, 2006).

Ciò significa che, in relazione al valore di  $\kappa$ , è possibile stimare quantitativamente l'energia che verrà allocata al comparto della riproduzione da parte di un organismo. Maggiore è il valore di  $\kappa$ , minore sarà la quantità di riserve energetiche destinate alla riproduzione ( $1-\kappa$ ).

Il modello DEB si avvale di una serie di parametri specifici (Tab. 2.1) per ogni specie, attraverso cui è possibile stimare numericamente le modifiche delle condizioni fisiologiche di un organismo in funzione delle dinamiche energetiche.

Tab. 2.1: Parametri principali descritti dalla teoria DEB.

<i>Simbolo</i>	<i>Unità di misura</i>	<i>Parametro</i>
$T_A$	K	Temperatura di Arrhenius
$\{J_{X_m}\}$	$\text{J cm}^{-2}\text{h}^{-1}$	Massimo tasso di ingestione per area di superficie
$[p \cdot M]$	$\text{J cm}^{-3} \text{d}^{-1}$	Costi di mantenimento volume – specifici
$[E_m]$	$\text{J cm}^{-3}$	Energia delle riserve
$[E_G]$	$\text{J cm}^{-3}$	Costi energetici per l'accrescimento
$\kappa$	-	Frazione di energia per la crescita ed il mantenimento
$\delta m$	-	Coefficiente di forma
$ae$	-	Efficienza di assimilazione
$X_K$	$\mu\text{g chl-a L}^{-1}$	Coefficiente di saturazione
$k_R$	-	Efficienza riproduttiva

Tuttavia, la teoria poggia su alcuni criteri biologici e termodinamici di base come quelli relativi alla conservazione della massa, degli isotopi, dell'energia e del tempo (Sousa et al. 2010). Infatti, come in tutti i sistemi biologici, la distribuzione delle riserve energetiche alle varie funzioni fisiologiche, segue i principi dettati dall'omeostasi. Nella teoria DEB vengono descritte varie forme di omeostasi che gli organismi mettono in atto per controllare i processi metabolici ed adattarsi ai rapidi cambiamenti delle condizioni ambientali (Kooijman, 2010; Sousa et al. 2010). In particolare, le forme di omeostasi descritte sono cinque.

**a) Omeostasi forte**

Nella cosiddetta omeostasi forte (*strong homeostasis*), si assume che la composizione chimica delle riserve e delle strutture sia costante e che a cambiare siano solamente le quantità dei singoli componenti. L'insieme dei composti chimici che formano questi compartimenti può quindi essere considerato come un unico e generale elemento. In questa forma di omeostasi, le reazioni biochimiche svolte da ogni singolo organismo seguono le regole ferree della stechiometria, le quali prevedono l'utilizzo di fattori di conversione costanti nei diversi processi fisiologici messi in atto (assimilazione, dissipazione, crescita).

**b) Omeostasi debole**

La seconda forma di omeostasi descritta da Kooijman viene definita omeostasi debole (*weak homeostasis*) e afferma che, se la disponibilità di cibo nell'ambiente circostante è costante, anche l'ammontare delle riserve di un organismo sarà costante. In questo modo, nell'individuo non si apprezzeranno cambiamenti della composizione anche durante le fasi di crescita. L'omeostasi debole viene applicata all'intero organismo e non ai singoli compartimenti, i quali comunque vengono regolati dall'omeostasi forte.

**c) Omeostasi strutturale**

L'omeostasi strutturale (*structural homeostasis*) non riguarda la composizione chimica degli organismi bensì la forma. Durante la crescita, infatti, la maggior parte degli organismi in natura, non modificano la loro forma (organismi isomorfi, Kooijman, 2010). Ciò semplifica la gestione del metabolismo, dividendo i vari processi tra quelli

direttamente proporzionali alla superficie (ad esempio l'assunzione di cibo, che nel caso dei bivalvi è direttamente proporzionale alla superficie dell'apparato filtratore e dell'intestino) e quelli direttamente proporzionali al volume, come ad esempio i costi di mantenimento strutturale (Sousa et al. 2010).

#### **d) Omeostasi termica**

La temperatura influisce sui processi metabolici per cui, per controllare tali processi, occorre poter controllare la temperatura corporea. Gli endotermi, sono organismi in grado di regolare la temperatura corporea, evitando in questo modo che essa si innalzi o diminuisca bruscamente in base alla temperatura ambientale. Il vantaggio del processo di omeotermia è dovuto al fatto che gli organismi endotermi sono in grado di far funzionare le reazioni biochimiche, enzima – dipendenti, a prescindere dalla temperatura esterna. Tuttavia, non tutti gli organismi sono in grado di regolare la temperatura del proprio corpo. Gli organismi ectotermi, come invertebrati e pesci, non essendo in grado di termoregolare la propria temperatura corporea, e di conseguenza le proprie reazioni biochimiche, applicano una sorta di “omeostasi termica” (*thermal homeostasis*) che è mediata dalle strategie comportamentali. Alcuni di essi, infatti, in condizioni sfavorevoli, possono spostarsi in funzione della temperatura in aree più o meno calde, oppure attuare meccanismi di difesa, come ad esempio la chiusura delle valve nel caso degli organismi conchigliati. Secondo questo schema, per gli ectotermi ha un ruolo fondamentale la taglia corporea. I costi energetici, infatti, dipenderanno non solo dalla temperatura dell'ambiente esterno ma anche dalle dimensioni del corpo (Kooijman, 2010).

#### **e) Omeostasi di acquisizione**

In base alle caratteristiche di acquisizione del cibo gli organismi possono essere distinti in due categorie, quelli appartenenti al cosiddetto “*demand system*” e quelli appartenenti al “*supply system*”. Al primo gruppo appartengono principalmente gli organismi in grado di scegliere il cibo/la preda in termini di quantità (ciò che è necessario) e di qualità. In particolare, si fa riferimento a tutti gli organismi vagili o semi-vagili, i.e., che sono in grado di spostarsi, che possono muoversi per la ricerca della preda e che quindi sono meno soggetti ad affrontare situazioni di digiuno per carenza sistemica di cibo. Al

secondo gruppo appartengono, invece, tutti organismi sessili o con scarse capacità di movimento che quindi si nutrono di ciò che è disponibile nell'ambiente in cui vivono e non possono spostarsi in caso di carenza di cibo. Per tale ragione, tali organismi sono dotati di maggiore flessibilità metabolica che garantisce loro una maggiore probabilità di sopravvivenza anche in condizioni di scarsa disponibilità di cibo. Un esempio di organismi *supply system* è fornito dalle specie di organismi filtratori marini, la cui sopravvivenza è strettamente collegata alla quantità di cibo disponibile nella colonna d'acqua (Kooijman, 2010).

L'utilizzo dei principi dettati dall'omeostasi è un supporto fondamentale per la costruzione dei modelli bioenergetici applicati ai sistemi fisiologici (*sensu* Kooijman, 2010). Attraverso l'integrazione di alcuni criteri generali biologicamente impliciti in tutti i sistemi, come l'omeostasi e le leggi della termodinamica, la teoria DEB può essere applicata a tutte le specie. Inoltre, sebbene i meccanismi responsabili dell'organizzazione metabolica non siano specie – specifici (Kooijman, 2001; 2010), il modello DEB permette di stimare quantitativamente gli aspetti energetici a livello di singolo organismo per tutte le specie, modificando solamente i parametri caratteristici di ciascuna di esse (*sensu* Kooijman, 2001). L'unico fattore da tenere in considerazione all'interno di una specie, che determina modifiche sostanziali dei parametri fondamentali del modello, è **lo stadio di maturità di un organismo**. Ogni cambiamento a livello metabolico, infatti, è strettamente collegato alle differenti fasi del ciclo di vita di un organismo. In particolare, la teoria DEB fa riferimento a tre stadi di maturità, in base ai quali vengono attivati differenti sistemi di regolazione che controllano l'attività metabolica. Negli organismi pluricellulari, con il termine “**nascita**” ci si riferisce allo stadio che precede la **pubertà** e, che conduce normalmente ai tre stadi vitali principali: **stadio embrionale, giovanile ed adulto**.

Il primo stadio, quello embrionale, è definito come lo stadio iniziale di sviluppo dell'organismo, quando ancora questo non attua il processo di ingestione del cibo. L'embrione infatti, si affida, per sopravvivere, alle riserve energetiche derivanti dalla madre.

Lo stadio giovanile è quello contraddistinto dall'inizio del processo di alimentazione ma, durante tale fase, l'organismo ancora non alloca le risorse energetiche al processo riproduttivo.

Il terzo è lo stadio di adulto. E' in questa fase che l'organismo inizia a devolvere parte dell'energia disponibile alla riproduzione. I parametri energetici fondamentali variano in funzione dei differenti stadi vitali, ma rimangono strettamente collegati alla specie, garantendo in questo modo l'efficacia del modello DEB per l'analisi del *budget* energetico di una grande varietà di specie.

**Il concetto di riserve e la Synthesising Unit (SU).** Il concetto di riserve gioca un ruolo fondamentale nella teoria DEB in quanto, a partire da esso, si definisce il comparto da cui viene gestita tutta l'energia immagazzinata da un organismo. Ogni organismo usa le riserve immagazzinate per superare i periodi di stress. Il comportamento metabolico di un individuo, infatti, non dipende dalla disponibilità di cibo immediata, bensì dalla quantità di riserve immagazzinate (Kooijman, 2010). Questo fa sì che un organismo, anche in condizioni sfavorevoli, abbia a disposizione ogni tipo di risorsa e/o substrato essenziale, temporaneamente assente. Affinché un organismo possa crescere, occorre che tutte le risorse essenziali siano disponibili in una certa quantità, e questo è possibile solo grazie al loro immagazzinamento all'interno delle riserve (Kooijman, 2010). Esse, infatti, sono costituite da un insieme di metaboliti differenti (sintetizzati a partire da diversi substrati lipidici, proteici etc.) che, quando necessario, entrano attivamente in gioco nei processi metabolici di un organismo. Ciascuno di questi metaboliti è caratterizzato da una propria cinetica di reazione attivata da diversi enzimi che, all'interno del comparto delle riserve ne gestiscono la dinamica.

Il funzionamento delle riserve così come descritto, è strettamente collegato all'utilizzo frequente nella teoria DEB, della *Synthesising Unit* (SU), definita come l'insieme di enzimi generalisti la cui attivazione segue le regole della cinetica enzimatica classica ma con alcune variazioni (Kooijman, 2010). Per gli enzimi della SU ad esempio, le trasformazioni a cui prendono parte si basano sui flussi di substrati e non sulle concentrazioni di questi. Ciò significa che la SU catalizza una reazione per volta e questo processo richiede un certo periodo di tempo e termina con la liberazione di un prodotto (e.g., l'elaborazione di un pezzo di cibo ingerito) (Kooijman, 1998). Questo

comporta che la velocità alla quale un substrato giunge ad una SU è proporzionale al numero di substrati presenti e alla quantità di SU disponibili nel sistema (Kooijman, 1998). Di contro, la velocità alla quale vengono emessi i prodotti, è funzione del numero di SU occupate (Kooijman, 1998). Si consideri, ad esempio, una unità di sintesi che richiede due molecole, un substrato di tipo A e uno di tipo B per produrre una molecola di prodotto C. Nel caso in cui i due substrati non interferiscono l'uno con l'altro, si ha un processo di produzione in parallelo (*parallel processing*). In caso contrario invece, la SU opera in sequenza sui due substrati e quindi, la velocità di emissione del prodotto sarà minore (*sequential processing*) (Kooijman, 2010).

L'idea di considerare i processi biologici in termini di strutture (SU) che devono servire i *client* (substrati), gioca un ruolo centrale nella teoria DEB. I *server*, ossia gli enzimi o i complessi di enzimi, sono chiamati a sintetizzare un prodotto a partire da un substrato e per farlo, possono richiedere una o più copie di uno o più tipi di substrati presenti nelle riserve (Kooijman, 2010).

## 2.3 I parametri DEB

Per comprendere il modo con cui un organismo acquisisce e ripartisce le riserve energetiche ad esso disponibili, il modello DEB si avvale di alcune equazioni fondamentali, espresse attraverso dei parametri di base. Per facilitare l'analisi delle equazioni che verranno descritte in questa sezione, occorre descrivere la simbologia utilizzata e specificare che il punto sopra un termine (e.g.,  $J'$ ) rappresenta un tasso (espresso come media di più valori), un termine in parentesi graffe {} indica una quantità in funzione della superficie, mentre un termine in parentesi quadre [] indica una quantità espressa in funzione del volume (van der Veer et al. 2006; Kooijman 2010).

### 2.3.1 Tasso di ingestione

La prima equazione fondamentale è quella che descrive il tasso di ingestione  $J'_X$  o *ingestion rate* ( $J \text{ d}^{-1}$ ), che è direttamente proporzionale all'area di superficie (dell'apparato filtratore e dell'intestino nel caso dei mitili) dell'organismo e segue la risposta funzionale di tipo II di Holling (1959) secondo la relazione:

$$J'_X = \{J'_{Xm}\} f V^{2/3}, \quad (2.2)$$

dove:

$f$  è la risposta funzionale scalare che può variare da 0 (i.e., limitata disponibilità di cibo) ad 1 (i.e., massima disponibilità di cibo; *ad libitum*) ed equivale a  $f = X/(X_k+X)$ . La forma II di risposta funzionale descritta da Holling (1959 – fig. 2.2) valida per la maggior parte degli organismi, descrive come il legame tra disponibilità di cibo e tasso di ingestione, quindi, rappresenta una misura della quantità di alimento consumata nell'unità di tempo (Kooijman, 2010).

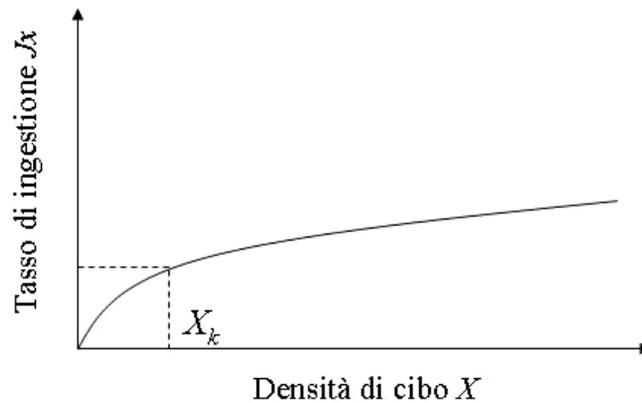


Fig. 2.2: Risposta funzionale di tipo II di Holling.

Nella relazione matematica che esprime la risposta funzionale,  $X$  è la quantità di cibo presente nell'ambiente mentre  $X_k$  è il coefficiente di saturazione espresso mediante la costante di Michaelis-Menten; in questo caso, esso equivale alla densità di cibo alla quale  $J_x$  è pari alla metà del suo massimo valore (si considera costante la conversione cibo - energia dell'intestino). Il collegamento alla cinetica di Michaelis-Menten deriva dal fatto che essa descrive l'andamento della velocità di una reazione catalizzata da enzimi, al variare della concentrazione di substrato e, nella sua accezione naturale rappresenta proprio la concentrazione di substrato necessaria affinché la reazione abbia velocità pari a metà della sua velocità massima (Michaelis e Menten, 1913).

Infine, il termine indicato come  $\{J'_{X_m}\}$  nell'equazione (2.2) equivale al massimo tasso di ingestione per unità di superficie ( $J \text{ d}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ ) e rappresenta il parametro principale nel descrivere la dipendenza del tasso di ingestione dalle dimensioni dell'organismo, infatti, invertendo l'equazione (2.2) otterremo:

$$\{J_{Xm}\} = J_X / f V^{2/3}, \quad (2.3)$$

dove V è il volume strutturale dell'organismo, ed è uguale a:

$$V = (\delta_m L)^3, \quad (2.4)$$

con  $\delta_m$  coefficiente di forma o *shape coefficient* (adimensionale) ed L lunghezza dell'organismo espressa in cm. Come è possibile notare, il V è espresso con una potenza di 2/3. In questo caso esso corrisponde alla superficie dell'organismo corretta del parametro di forma (si veda paragrafo 2.3.2). Infatti, sostituendo tale termine nell'equazione (2.4) si ha:

$$V^{2/3} = [(\delta_m L)^3]^{2/3}, \quad (2.5)$$

$$V^{2/3} = (\delta_m L)^2, \quad (2.6)$$

I termini presenti nell'equazione (2.2) rappresentano i tre principali fattori che determinano i tassi di alimentazione ossia (1) la disponibilità di cibo, (2) le dimensioni del corpo (in termini di superficie attraverso la quale il cibo viene trasportato) e (3) la temperatura, variabile implicita che regola il tasso metabolico.

Come descritto sopra, il tasso di ingestione tende ad essere proporzionale all'area di superficie dell'organismo, e ciò quindi influenza il confronto tra organismi di taglie diverse appartenenti alla stessa specie. Sebbene le tipologie di alimentazione utilizzate dagli organismi siano specie-specifiche, la differenza dimensionale della superficie che il cibo attraversa per essere ingerito, determina delle variazioni in organismi di taglie diverse appartenenti alla stessa specie (Kooijman, 2010). Così come le tipologie di alimentazione, anche i costi di questo processo possono essere considerati specie-specifici e taglia-specifica.

Tuttavia, l'energia spesa per l'alimentazione e per tutte le funzioni di *routine* svolte da un organismo, non contribuisce alla determinazione del bilancio energetico totale di un organismo e per tale ragione, può essere considerata pari a zero.

### 2.3.2 Coefficiente di forma

Il coefficiente di forma  $\delta_m$  è la grandezza adimensionale che mette in relazione il tipo di lunghezza utilizzato per misurare un organismo (lunghezza totale, standard o spessore) con la forma dell'organismo (van der Veer et al. 2006). Dal momento che l'obiettivo principale della teoria DEB è quello di voler confrontare le *performance* di organismi appartenenti a differenti specie, è fondamentale tener presente che tali specie possono differire l'una dall'altra nella forma. Per eliminare l'influenza di tale fattore nei confronti ecologici, Kooijman (2010) introduce il concetto di lunghezza volumetrica ( $L = V^{1/3}$ ) come variabile indipendente dalla forma. Il coefficiente di forma, quindi, non fa altro che trasformare la lunghezza cosiddetta fisica, in lunghezza volumetrica, relativa alla struttura dell'organismo. Occorre precisare che tale coefficiente è specie-specifico e dipende in primo luogo dai parametri adottati per misurare la lunghezza (lunghezza totale, standard o spessore).

Da un punto di vista pratico, un semplice metodo per ottenere il coefficiente di forma è quello di utilizzare le misure del peso umido (*wet weight* –  $W_w$ ) di un individuo, convertite in peso volumetrico attraverso la densità specifica (si assume che la densità specifica delle strutture sia  $d_{Vw} = 1 \text{ g cm}^{-3}$ ) e moltiplicate per l'inverso della lunghezza:

$$\delta_m = (W_w/d_{Vw})^{1/3} * L^{-1}, \quad (2.7)$$

Il concetto di forma è un fattore fondamentale nella teoria DEB. Alcuni organismi, come ad esempio gli echinodermi, i molluschi ed alcuni insetti cambiano forma attraverso i vari stadi. Molti di questi cambiamenti non causano problemi per l'applicazione del modello, in quanto, l'assunzione di cibo a volte, come abbiamo visto, avviene a partire da un preciso stadio. Se la forma cambia notevolmente nel corso dello sviluppo, i processi direttamente proporzionali alla superficie dovrebbero essere corretti di quel fattore introdotto da questi cambiamenti. Nel caso di organismi isomorfi, ossia quelli che non cambiano forma durante la loro crescita, tale valore è pressoché costante in organismi appartenenti a specie affini (Cardoso et al. 2007). Per quanto riguarda i bivalvi, sebbene siano dei molluschi e cambino la loro forma in seguito al passaggio dallo stadio larvale a quello giovanile, tale modifica può essere trascurata (Kooijman,

comm. pers.). Il processo di alimentazione, infatti, ha inizio nella fase giovanile, quando già l'organismo ha acquisito la sua forma tipica, e la manterrà inalterata anche durante le restanti fasi vitali.

### 2.3.3 Costi di mantenimento volume – specifici

Un parametro fondamentale tra i vari descritti nel modello, è quello che definisce energeticamente **i costi di mantenimento di un organismo con riserve pari a zero**, ossia dopo un periodo di digiuno. Questo parametro, definito come  $[pM]$  ( $J d^{-1} cm^{-3}$ ), rappresenta l'energia di mantenimento al netto dell'energia necessaria per i processi di crescita, riproduzione e sviluppo (Kooijman, 2010). Il suo valore può essere stimato solo tramite misure indirette dei tassi metabolici in organismi mantenuti in condizioni di digiuno (*starvation*) (van der Veer et al 2006). In particolare, come indicatore del metabolismo basale, viene utilizzato il valore del consumo di ossigeno di organismi in cui le riserve iniziano ad esaurirsi, tale termine viene indicato come  $pM$  ( $J d^{-1}$ ) (Ren e Schiel, 2008). La formula corrispondente per il calcolo di tale parametro è la seguente:

$$p \cdot M = [p \cdot M] * V, \quad (2.8)$$

da cui:

$$[p \cdot M] = p \cdot M / V, \quad (2.9)$$

Tuttavia, per una corretta stima del  $[p \cdot M]$ , gli esperimenti di non alimentazione non devono prolungarsi nel tempo, al fine di non raggiungere la fase di rottura delle strutture conseguente al depauperamento totale delle riserve, fattore che determinerebbe la morte degli organismi (van der Veer et al. 2006). Per monitorare l'andamento delle riserve è necessario misurare, durante tutto l'esperimento in fase di non alimentazione, i valori del peso secco degli organismi così come indicato da Ren e Schiel (2008) e rappresentato in figura 2.3.

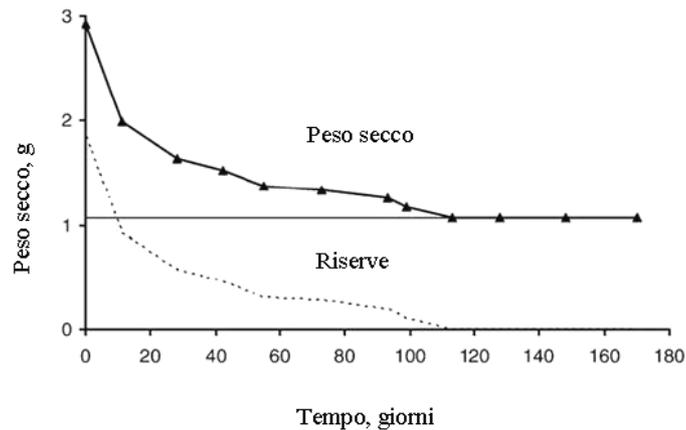


Fig. 2.3: Andamento delle riserve in funzione del decremento del peso secco (tratto e modificato da Ren e Schiel 2008).

Il  $[p \cdot M]$  è il fattore principale nel determinare l'allocazione delle riserve alla crescita ed alla riproduzione, esso è collegato all'attività di *turnover* dell'organismo e ne riflette la complessità (Freitas et al. 2011). Accanto ad esso, un altro parametro importante è il **massimo tasso di assimilazione per area di superficie**  $\{p \cdot Am\}$  ( $J d^{-1} cm^{-2}$ ), misurato come:

$$\{p \cdot Am\} = ae \mu x \{J \cdot Xm\}, \quad (2.10)$$

dove:  $ae$  rappresenta l'efficienza di assimilazione,  $\mu x$  corrisponde al fattore di conversione del cibo in energia ( $J mg^{-1}$ ) e  $\{J \cdot Xm\}$  equivale al massimo tasso di ingestione per unità di superficie (equazione 2.3). Entrambi i parametri  $[p \cdot M]$  e  $\{p \cdot Am\}$  sono temperatura dipendenti e forniscono una spiegazione dei principali flussi energetici di un organismo (Freitas et al. 2011).

Si pensa infatti, che le differenze nelle strategie di sopravvivenza delle diverse specie agiscano proprio modificando questi due parametri (Stearns, 1992).

### 2.3.4 Temperatura di Arrhenius

Ogni tasso metabolico fondamentale di un organismo è influenzato dalla temperatura (Kooijman, 2010). Tale variabile viene inserita tra i parametri principali del DEB mediante alcuni termini di temperatura che seguono la descrizione fornita da S.

Arrhenius nel 1889, grazie alla quale vengono considerati i limiti di temperatura specifici per ogni specie. In particolare, nel modello DEB compaiono cinque termini di temperatura in gradi K, riferiti ai limiti dell'optimum termico della specie. (1)  $T_A$ , è la temperatura di Arrhenius, basata sull'equazione di van't Hoff che descrive la variazione della costante di equilibrio di una reazione chimica in funzione del variare della temperatura ( $k_{(T)} = k_{(\infty)} \exp(-E_a/RT)$ ), nella quale compare un termine energetico ( $E_a$ ) definito energia di attivazione. La  $T_A$  infatti, è la temperatura alla quale una reazione (o un enzima) può essere attivata (Kooijman, 2010).

(2)  $T_{AL}$  e (3)  $T_{AH}$  sono rispettivamente il limite inferiore e superiore della temperature di Arrhenius e rappresentano gli estremi del *range* termico all'interno del quale le reazioni enzimatiche possono avvenire. (4)  $T_L$  e (5)  $T_H$  sono invece, il limite inferiore e superiore dell'optimum termico della specie che si vuole analizzare, e rappresentano la finestra termica all'interno della quale i processi metabolici principali di un organismo funzionano correttamente. Normalmente, tali temperature vengono individuate a partire da una temperatura di riferimento alla quale è possibile monitorare la specie oggetto di studio ( $T$ ).

La relazione presentata dal modello per la temperatura di Arrhenius è la seguente:

$$k_{(T)} = k_{(1)} \exp \left( \frac{T_A}{T_1} - \frac{T_A}{T} \right), \quad (2.11)$$

con  $T$  temperatura assoluta in gradi K,  $T_1$  temperatura di riferimento,  $T_A$  temperatura di Arrhenius,  $k$  tasso di reazione metabolica e  $k_1$  è il tasso alla temperatura  $T_1$ . Dall'equazione (2.11), è possibile ricavare la temperatura di Arrhenius applicando il logaritmo naturale come operazione inversa dell'esponenziale, ed effettuando una serie di passaggi matematici descritti di seguito:

$$k_{(T)} = k_{(1)} e^{(T_A/T_1) - (T_A/T)}, \quad (2.12)$$

$$k_{(T)}/k_{(1)} = e^{(T_A/T_1) - (T_A/T)}, \quad (2.13)$$

$$\ln |k_{(T)}/k_{(1)}| = (T_A/T_1) - (T_A/T), \quad (2.14)$$

$$\ln |k_{(T)}/k_{(1)}| = T_A (T - T_1)/(T_1 * T), \quad (2.15)$$

$$T_A = \ln |k_{(T)}/k_{(1)}| * (T_1 * T)/(T - T_1), \quad (2.16)$$

In questa formula non compaiono entrambi i termini dei limiti superiore ed inferiore di temperatura, per prendere in considerazione anche questi valori l'equazione di base diviene:

$$k_{(T)} = k_1 \exp (T_A/T_1) - (T_A/T) (1 + \exp (T_{AL}/T) - (T_{AL}/T_L) + \exp (T_{AH}/T_H) - (T_{AH}/T))^{-1}, \quad (2.17)$$

La temperatura di Arrhenius è stata introdotta nel modello in alternativa al coefficiente enzimatico  $Q_{10}$  e si può calcolare attraverso esperimenti che prevedono la misura di un processo o di un tasso in funzione della temperatura (van der Veer et al. 2006). In particolare, è stato dimostrato che il tasso metabolico più corretto per la stima delle temperature di Arrhenius è il consumo di ossigeno, in quanto questo è l'unico processo messo in atto da un organismo anche in condizioni di metabolismo basale o di stress (Riisgård e Seerup, 2003).

### 2.3.5 Densità massima di immagazzinamento

La densità massima di immagazzinamento  $[E_m]$ , espressa come  $J \text{ cm}^{-3}$ , è il parametro che definisce la capacità di un organismo di immagazzinare le riserve energetiche, in funzione del volume. Un assunto basilare descritto dalla teoria DEB, è che i valori di  $[E_m]$  mantengono una proporzionalità diretta con la massima lunghezza volumetrica in specie affini (Kooijman, 2000). In questo modo, è possibile verificare la coerenza della stima di questo parametro nelle diverse specie e, se necessario, colmare eventuali mancanze di dati. Il valore di  $[E_m]$  può essere calcolato in modo indiretto, confrontando il contenuto energetico della massa strutturale tra un organismo ben alimentato ed uno posto in condizioni di digiuno. Tale differenza, è considerata una stima minima della densità di immagazzinamento massima (van der Verr et al. 2006). Da un punto di vista pratico, la formula attraverso la quale è possibile calcolare l' $[E_m]$  nei bivalvi è la seguente:

$$[E_m] = (SMI_{fed} - SMI_{starved}) * 23 \text{ J} / \delta_m^3, \quad (2.18)$$

nella quale, SMI è l'indice di massa somatica, rispettivamente degli organismi alimentati ( $SMI_{fed}$ ) e a digiuno ( $SMI_{starved}$ ), espresso in termini di peso secco escluse le ceneri del soma (AFDW, mg) diviso per il cubo della lunghezza in cm ( $SMI = AFDW, \text{ mg} / \text{L}^3, \text{ cm}$ ) (Cardoso, 2007). La differenza tra i valori di SMI, diviso il coefficiente di forma ( $\delta_m$ ) della specie elevato al cubo e moltiplicata per 23 J (fattore di conversione di 1 mg di AFDW in energia), equivale all' $[E_m]$ .

### 2.3.6 Costi delle strutture volume – specifici

Così come per la densità massima di immagazzinamento, i costi delle strutture volume – specifici  $[E_G]$  ( $\text{J cm}^{-3}$ ), rappresentano un parametro descrittivo della dinamica delle riserve nel tempo, in funzione del volume. In particolare, attraverso questo parametro si descrivono i costi necessari ad un organismo per accrescere le proprie strutture. In linea con il concetto di omeostasi strutturale, esso può essere considerato una costante in organismi appartenenti a specie affini (Kooijman, 2009). L'unico metodo indiretto per la stima dell' $[E_G]$ , è quello di moltiplicare il contenuto energetico delle strutture della massa corporea di un organismo mantenuto in condizioni di digiuno, per un fattore di conversione che riflette l'efficienza di accrescimento (van der Veer et al. 2006).

Anche in questo caso, per il calcolo di questo parametro, viene utilizzato il valore di SMI degli organismi a digiuno ( $SMI_{starved}$ ) secondo la formula:

$$[E_G] = SMI_{starved} * 23 \text{ J} / \delta_m^3, \quad (2.19)$$

con  $\delta_m$  coefficiente di forma della specie e 23 J fattore di conversione di 1 mg di AFDW del soma in energia.

### 2.3.7 Kappa ( $\kappa$ )

La  $\kappa$ -rule (si veda 2.2) afferma che la crescita e lo sviluppo sono processi paralleli che dipendono in primo luogo dalla quantità di energia che viene allocata da un organismo a ciascuno di essi. In particolare si ha che una frazione nota di energia  $\kappa$  viene distribuita,

a partire dalle riserve, al mantenimento delle strutture e alla crescita, mentre la rimanente frazione  $1 - \kappa$  viene devoluta ai processi necessari per il raggiungimento della maturità sessuale e alla riproduzione. Dal momento che la ripartizione delle riserve non influisce sulla loro dinamica, cioè la quantità iniziale di riserve deve essere uguale alla quantità di energia ripartita ai vari processi, la teoria DEB giunge alla conclusione che  $\kappa$ , e quindi il processo di allocazione, non può dipendere dall'ammontare delle riserve stesse (o dalla densità). L'assunto della teoria DEB standard, è che  $\kappa$  è costante e che a variare siano le quantità relative dei componenti delle riserve (Kooijman, 2010). Ciò deriva dal fatto che le riserve costituiscono un comparto generalizzato, formato da una miscela di proteine e lipidi di vario tipo (Kooijman, 2009). Ciascuno di tali componenti, segue la propria cinetica, funzione delle loro rispettive quantità, ma non determinano i cambiamenti nel loro rapporto reciproco all'interno delle riserve che, quindi, possiedono la medesima cinetica. Le caratteristiche delle riserve appena descritte, portano alla conclusione che il valore di  $\kappa$  è indipendente dal volume e può essere stimato solo in maniera indiretta, mediante l'ausilio di specifici programmi di calcolo (ad esempio Matlab), dopo aver calcolato gli altri parametri di base quali  $[E_G]$ ,  $[E_m]$  e  $[p'M]$ .

## CAPITOLO 3

### I bivalvi: filtratori marini

#### 3.1 Aspetti morfologici ed ecologici dei bivalvi: *Brachidontes pharaonis* e *Mytilaster minimus* specie oggetto di studio.

La classe dei bivalvi appartiene al *phylum* Mollusca, che è uno dei più grandi per numero e diversità di specie (Gosling, 2003).

I bivalvi, altrimenti conosciuti come lamellibranchi, sono caratterizzati da una conchiglia formata da due valve, caratteristica da cui prende il nome la classe. Le due valve, sono unite dorsalmente mediante una cerniera e ricoprono il corpo del mollusco. Infatti, una delle funzioni principali della conchiglia è proprio quella di protezione degli organi interni. Il suo componente principale è il carbonato di calcio, che viene depositato, sotto forma di cristalli di sale, in una matrice organica costituita da una serie di proteine, definita conchiolina. Data la complessità di queste strutture, la quantità di energia necessaria ad un mollusco bivalve per la formazione delle valve è fondamentale nella regolazione totale del bilancio energetico (Hawkins e Bayne, 1992). I tratti morfologici delle valve, quali colore e forma, variano sensibilmente in funzione della specie e, per tale ragione, tali caratteristiche vengono utilizzate come strumento di identificazione. Ad esempio, nei mitili, le due valve possiedono una forma pressoché triangolare e sono simili in dimensione. Le misure convenzionali utilizzate per il rilevamento delle dimensioni delle valve sono riportate in figura 3.1.

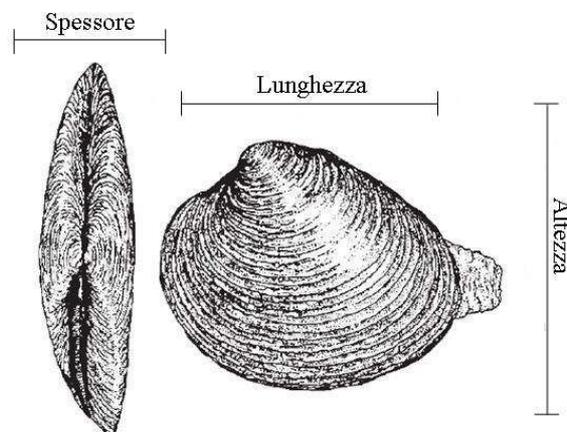


Fig. 3.1: Misure convenzionali per il rilevamento delle dimensioni delle valve.

Dalla parte interna della conchiglia si sviluppa il mantello che, in alcuni punti, può essere saldato e formare i sifoni, strutture attraverso le quali il mollusco aspira l'acqua che serve a raccogliere il nutrimento e ad ossigenare le branchie. Il mantello è costituito da un tessuto connettivo irrorato da vasi colmi di emolinfa (“sangue dei bivalvi”) e muscoli, particolarmente sviluppati lungo i margini di questo. Nei mitili, all'interno del mantello avviene la gametogenesi, processo che ha origine grazie alla presenza, in questa struttura, delle gonadi. Inoltre, il mantello è il sito di immagazzinamento delle riserve nutritive ed in particolare del glicogeno. Data la sua elevata capacità ricettiva, è anche l'organo principale di bioaccumulo dei bivalvi, che fungono quindi da bioindicatori per la presenza di metalli pesanti e composti organici (Widdows e Donkin, 1992).

Quasi tutte le specie di bivalvi hanno un piede, struttura muscolosa che viene estroflessa dalle valve e utilizzata per il movimento (Fig. 3.2). L'emolinfa penetra nel piede, rendendolo turgido in modo che agisca come un'ancora capace di promuovere lo spostamento su un substrato roccioso, nel fango o nella sabbia. Successivamente i muscoli longitudinali si contraggono per accorciare il piede e trascinare in avanti l'animale.

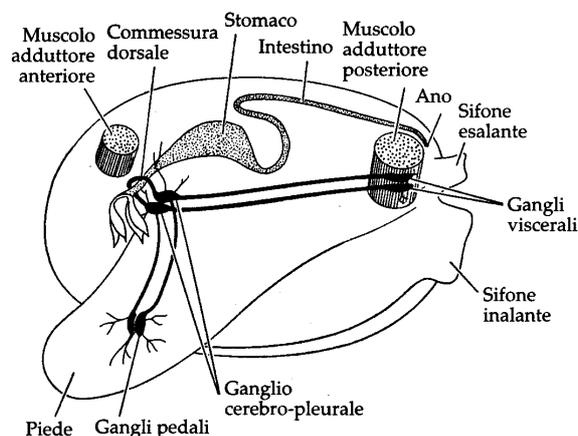


Fig. 3.2. Schema di un bivalve.

Tra piede e mantello vi è la cavità palleale, al cui interno sono situate le branchie, organi principali di respirazione. Queste strutture, si sono evolute nel tempo a partire dalle branchie dei bivalvi primitivi, ed hanno il compito di aumentare la superficie di scambio con l'acqua (Barnes, 1980). Nei bivalvi infatti, il movimento delle ciglia delle branchie

crea una corrente d'acqua che convoglia le particelle presenti in colonna e consente a questi organismi di mettere in atto il meccanismo di filtrazione.

Nelle specie che vivono attaccate al substrato, come i mitili, l'ancoraggio avviene mediante la secrezione del bisso, che fissa una valva al substrato. Il sistema riproduttivo dei bivalvi è molto semplice ed è caratterizzato dalla separazione dei sessi ed una fecondazione esterna.

I bivalvi costituiscono la componente principale della fauna bentonica della maggior parte delle aree marine e costiere del mondo; a causa della loro abbondanza (Gosling, 2003) rappresentano una risorsa importante di cibo per altri organismi quali ad esempio uccelli, pesci e crostacei (Pihl e Rosenberg, 1984). Le specie appartenenti alla classe dei bivalvi possono essere ritrovate in una grande varietà di ambienti, dai poli ai tropici (Dance e Ward, 2002). I principali fattori chimico – fisici che influenzano la distribuzione e l'abbondanza dei bivalvi nel mondo sono la salinità (Bayne, 1976a) e la temperatura (Helmuth, 1999; Sarà et al. 2008). Questi due fattori, non solo pongono i limiti della distribuzione spaziale dei bivalvi ma, influenzano i principali processi biologici messi in atto da questi organismi, ad esempio, l'alimentazione, la riproduzione, la crescita, la respirazione e l'osmoregolazione (Gosling, 2003). Inoltre, gli effetti della loro sinergia, sono ampliati se sommati all'azione di altre variabili ambientali come l'altezza della colonna d'acqua e la tipologia di substrato (Wells, 1957), la disponibilità di cibo (Griffiths, 1980) e la presenza di competitori e/o predatori (Seed e Suchanek, 1992), tutti fattori che entrano in gioco nella regolazione delle attività eco-fisiologiche dei bivalvi.

A scala latitudinale, le differenze nei tassi di crescita dei bivalvi, sono state spesso collegate ai gradienti latitudinali di temperatura (Gilbert, 1973). I bivalvi sono organismi ectotermi, cioè hanno la temperatura corporea approssimabile a quella dell'ambiente che li circonda e, per tale ragione, sono altamente influenzati della temperatura esterna a cui sono sottoposti (Menge et al. 2008).

A scala locale, invece, è stato constatato che i processi di crescita e riproduzione dei bivalvi sono principalmente influenzati dalla quantità e qualità del cibo, dalla tipologia dei sedimenti e dall'ampiezza di marea (Carmichael et al. 2004).

Una caratteristica chiave che fa dei bivalvi una classe di organismi cruciale dal punto di vista ecologico, è che molti bivalvi marini possono essere classificati come *ecosystem*

*engineer* (Gutierrez et al. 2003). Gli *ecosystem engineer* sono organismi che modificano la distribuzione di materia ed energia nell'ambiente abiotico, attraverso la creazione ed il mantenimento di nuovi habitat nel paesaggio originale, creando interazioni non trofiche con le altre specie (Badano e Marquet, 2008). Cambiamenti di tale genere possono influenzare la distribuzione di altre specie, ad esempio, la presenza di nuove *patches* create dagli *ecosystem engineer* porta alla formazione di habitat idonei a quelle specie che non possono sopravvivere nelle aree circostanti non modificate, con un conseguente aumento della diversità di specie ad essi associata (Badano e Cavieres, 2006a). In particolare, i bivalvi esercitano il loro ruolo di *ecosystem engineer* attraverso alcuni meccanismi peculiari che li contraddistinguono: essi svolgono il ruolo di *suspension feeding* (Peterson e Black, 1987; 1991) e *deposit feeding* (Fenchel e Kofoed 1976, Bianchi e Levinton, 1981); producono attività di *grazing* (Hill et al. 2000); sono predatori (Peterson, 1982) ed inoltre danno luogo ai processi di bio-deposizione (Bertness, 1984) e bio-turbazione (Flach, 1996). Infine, aspetto fondamentale, tutti i bivalvi sono produttori di conchiglie, e per tale ragione essi sono in grado di costruire

**SCHEDA 3.1**  
*Brachidontes pharaonis*  
(Krauss, 1848)

Famiglia: Mytilidae  
Ordine: Mytiloida  
Classe: Bivalvia  
Phylum: Mollusca



**MORFOLOGIA**  
Valve equivalvi ed equilaterali;  
Presenza di striature radiali lungo tutta la conchiglia;  
Colorazione esterna marrone scuro-nera  
interna gradazioni del viola;  
Lunghezza massima valve 4 cm.

**BIOLOGIA**  
Meccanismo di dispersione attraverso  
larve planctoniche;  
Specie dioica con fecondazione esterna.

**ECOLOGIA**  
Specie invasiva tipica dei fondi rocciosi  
dell'intertidale;  
Meccanismo di alimentazione per  
filtrazione.

vere e proprie impalcature strutturanti l'habitat, fornendo in questo modo nuovo substrato idoneo ad un gran numero di specie differenti (Gutierrez et al. 2003).

Alla classe dei bivalvi appartengono le specie *Brachidontes pharaonis* (*Brachidontes variabilis*, Krauss, 1848) e *Mytilaster minimus* (Poli, 1975), oggetto di studio del presente lavoro di tesi. In particolare, la specie *B. pharaonis* è una specie alloctona del Mediterraneo mentre la specie *M. minimus* è autoctona. La bibliografia riguardante le caratteristiche peculiari di entrambe le specie è limitata ai lavori scientifici di pochi autori (Rilov et al. 2002; Safriel e Sasson Frostig, 1988; Safriel et al. 1980; Sarà et. al. 2000; 2003; 2006), ed

è attraverso il loro contributo che proveremo a riportare una descrizione delle caratteristiche più importanti di entrambe le specie.

La specie *Brachidontes pharaonis* (*Brachidontes variabilis*, Krauss 1848) è una specie invasiva, detta Lessepsiana (da Ferdinand Marie, Vicomte de Lesseps, promotore ed esecutore del progetto del Canale di Suez aperto nel 1869), in quanto è originaria dell'area Indo-Pacifica ed è giunta in Mediterraneo attraverso il Canale di Suez (Safriel e Sasson Frostig, 1988; Sarà et al. 2000).

*B. pharaonis* è un bivalve tipico delle zone rocciose dell'intertidale marino e, alla stregua di molte altre specie invasive, mostra una elevata capacità adattativa che gli ha permesso di colonizzare alcune aree mediterranee formando popolazioni stabili (Sarà et al. 2000). Tale specie è stata segnalata di recente anche lungo le coste siciliane ed in particolare in ambienti caratterizzati da elevata salinità e temperatura (Sarà et al. 2006), come ad esempio lo Stagnone di Marsala, una delle aree umide più interessanti del Mediterraneo (Sarà et al. 1999). Questa laguna della Sicilia occidentale, infatti, si contraddistingue perché in essa è consentito l'esercizio della salicoltura, attività che prevede l'utilizzo di un sistema di vasche che diventano per *B. pharaonis* un habitat ottimale (Sarà et al. 2000).

É documentato che l'ampliamento dell'areale di distribuzione di *B. pharaonis* in Mediterraneo, come della maggior parte delle specie invasive, sia dovuto all'attività antropica che, attraverso l'apertura del Canale di Suez, ha rimosso una vera e propria barriera fisica (Galil, 2000; Rilov et al. 2004; Sarà 2006) (Fig. 3.3).



Fig. 3.3. Areale di distribuzione di *B. pharaonis* in Mediterraneo.

Oltre che in Mediterraneo, è confermato dalla letteratura che *B. pharaonis* è presente anche in Oceano Pacifico lungo le coste di Hong Kong; in particolare, Lee e Morton (1985) affermano che questa specie, indicata però come *B. variabilis*, è uno dei bivalvi più comuni nelle zone di estuario.

In Mediterraneo *B. pharaonis* mostra un ampio range di tolleranza termico (9-31° C) e di salinità (35 - 53 PSU) (Safriel e Sasson Frostig, 1988). La plasticità trofica di *B. pharaonis* (Sarà et al. 2000; 2003), suggerisce che gli organismi di questa specie sono capaci di colonizzare nuovi ambienti caratterizzati da temperature e salinità diverse ed elevate, a scapito delle specie residenti come ad esempio *M. minimus*, altra specie oggetto di studio.

La specie *M. minimus* (Poli, 1795) predilige i bassi fondali rocciosi e detritici, dove può fissarsi bene con il bisso e formare “lettiere” ad alta densità (Rilov et al. 2004). In tali comunità, molte specie epibionti sfruttano la “rugosità” creata dalla popolazione di mitili che, aumentando la superficie totale, crea rifugio per diverse specie e determina anche variazioni del tasso di sedimentazione e della disponibilità di cibo. E’ questa la caratteristica che inserisce *M. minimus* tra le specie strutturanti l’habitat descritte sopra (*ecosystem engineer*). In funzione di tale caratteristica, molte specie appartenenti alla famiglia dei Mitili, possono assumere la funzione di *key species*, anche all’interno della stessa comunità (Rilov et al. 2004). In particolare, ciò ha un ruolo fondamentale in alcuni habitat dell’intertidale mediterraneo, dove *M. minimus* è la specie autoctona predominante (Fig. 3.4).

### SCHEDA 3.2

*Mytilaster minimus*  
(Poli, 1795)

Famiglia: Mytilidae  
Ordine: Mytiloidea  
Classe: Bivalvia  
Phylum: Mollusca



#### MORFOLOGIA

Conchiglia allungata e sub cilindrica liscia e molto lucida;  
Valve equivalvi ed equilaterali;  
Colorazione bruno-rossastra;  
Lunghezza massima valve 2 cm.

#### BIOLOGIA

Meccanismo di dispersione attraverso larve planctoniche;  
Specie dioica con fecondazione esterna.

#### ECOLOGIA

Specie autoctona del Mediterraneo tipica dei substrati rocciosi litorali e sommersi;  
Meccanismo di alimentazione per filtrazione.



Fig. 3.4. Areale di distribuzione di *M. minimus* in Mediterraneo.

Tuttavia, lungo il margine della piattaforma intertidale mediterranea viene rinvenuto sempre più frequentemente il bivalve alloctono *B. pharaonis*, che tende a sostituire il mitilastro autoctono *M. minimus* (Safriel e Sasson Frostig, 1988; Sarà et al. 2003). Rilov e colleghi (2004), affermano che in un arco temporale di 4 anni (1995-1999), negli habitat di fondo roccioso del Mediterraneo, da sempre caratterizzati dalla dominanza di *M. minimus*, si è assistito ad un rapido cambiamento dovuto all'aumento della densità di *B. pharaonis* (da 1:7 a 1.4:1 individui di *Brachidontes/Mytilaster*). Questo è probabilmente il risultato della saturazione dell'habitat dovuto al reclutamento di *B. pharaonis* proveniente dalle popolazioni stabilite sulle piattaforme intertidali.

Uno dei fattori che ha determinato questo slittamento tra le due specie è la competizione per lo spazio e per il cibo (Safriel et al. 1980). Tuttavia, i cambiamenti di alcune variabili ambientali come salinità e temperatura nonché le caratteristiche genetiche delle specie, possono aver contribuito in maniera robusta alla colonizzazione da parte di *B. pharaonis* (Rilov et al. 2004). Per azzardare una ipotesi, probabilmente alla base di questo rapporto vi sono delle sostanziali differenze dei tratti energetici dei due bivalvi. Potenzialmente, se una specie risulta più abile, rispetto ad un'altra, nella gestione delle risorse energetiche, avrà una maggiore possibilità di colonizzazione di un determinato habitat. Le differenze delle strategie nelle *life history* delle specie infatti, si basano proprio sulle "scelte energetiche" messe in atto dagli organismi per sopravvivere (Stearns, 1992).

Per tale ragione, risulta necessario uno studio più approfondito di entrambe le specie, che miri ad ampliare le conoscenze già acquisite, con informazioni riguardanti anche le

loro caratteristiche bioenergetiche. In questo lavoro di tesi infatti, si presentano i primi risultati degli studi condotti sulle proprietà energetiche di *B. pharaonis* e *M. minimus*, analizzate in funzione dei processi fisiologici principali dell'organismo, quali consumo di ossigeno, tasso di alimentazione, crescita etc.

## CAPITOLO 4

### Metodologie di laboratorio applicate per la stima dei parametri DEB

#### Introduzione

L'analisi dei bilanci energetici e di massa di un organismo, in funzione della variabilità indotta spesso dai fenomeni antropici, fornisce informazioni utili sui processi biologici di base indispensabili alla sopravvivenza e alla riproduzione. Per prevedere come gli organismi interagiscono con l'ambiente, è necessario capire in primo luogo, proprio come avviene la regolazione dei flussi energetici. In particolare, occorre definire, in termini quantitativi, quanta energia gli organismi sono in grado di assorbire dall'ambiente circostante, come trattano tale energia ingerita, come questa energia viene gestita e canalizzata ai vari comparti (mantenimento delle strutture, riproduzione, etc.) se sottoposti a differenti condizioni di variabilità ambientale. Tutto ciò, rappresenta l'informazione di base per analizzare il funzionamento di un organismo all'interno dell'ecosistema.

La necessità di ottenere informazioni precise riguardanti la bioenergetica di un organismo ha permesso di evidenziare i vantaggi e gli svantaggi dei vari modelli di bioenergetica presenti in letteratura.

Tra i modelli presi in considerazione in questo lavoro, il *Dynamic Energy Budget* (DEB, Kooijman, 1993) risulta essere quello più completo nell'analisi dei bilanci energetici di un organismo. Il modello DEB nasce a partire da alcuni principi fondamentali della fisica, ed è basato su equazioni puramente matematiche mediante le quali è possibile estrapolare le caratteristiche bioenergetiche di un organismo. In tale modello, vengono evidenziati alcuni aspetti fondamentali di un organismo quali l'assimilazione di energia mediante il cibo, la crescita e la riproduzione (esprese in funzione delle condizioni ambientali). Attraverso alcuni parametri fondamentali descritti dal modello, tali caratteristiche vengono trasformate in quantità numeriche che entrano in gioco nella gestione dei bilanci energetici. In sintesi, in relazione al valore di ogni parametro, è possibile predire se un organismo devolve principalmente l'energia ingerita, e conservata nelle riserve, al comparto del mantenimento delle strutture, alla crescita o alla riproduzione. Tuttavia, a svantaggio del modello, vi è il fatto che la stima dei

parametri fondamentali non è semplice e, nella maggior parte dei casi deve essere effettuata mediante un approccio indiretto (van der Meer, 2006). Per tale ragione, oltre al modello DEB, in questo lavoro, sono state utilizzate alcune tecniche di misurazione diretta dei bilanci energetici descritte in un altro modello di bioenergetica, lo *Scope for Growth* (SFG - Winberg, 1960). Attraverso tale modello, infatti, è possibile calcolare l'ammontare totale dell'energia disponibile per un organismo calcolando la differenza tra quella assimilata dal cibo e quella persa attraverso la respirazione e l'escrezione (Widdows e Staff, 2006). Secondo tale procedura, se tale differenza è positiva, l'organismo avrà a disposizione una quantità nota di energia da poter devolvere alla crescita.

In questo lavoro di tesi, abbiamo provato ad affiancare alla teoria descritta nel modello DEB, le già conosciute tecniche dello SFG, al fine di poter raggiungere una stima, il più possibile fedele alla realtà, dei bilanci energetici di un organismo.

In particolare, i principi del modello DEB e le equazioni in esso descritte, sono state combinate con le note misure dei tassi fisiologici descritte dallo SFG. Questo metodo, sicuramente più sperimentale, si è rivelato utile per la valutazione dei bilanci energetici delle specie oggetto di studio di questo lavoro, il bivalve lessepsiano *Brachidontes pharaonis* e quello autoctono *Mytilaster minimus*.

Il vantaggio nell'utilizzo complementare dei due modelli, sta nel fatto che le tecniche proposte dallo SFG semplificano la misurazione dei tassi energetici di un organismo e, sono necessarie per la stima dei parametri descritti nel modello DEB. Di contro, il DEB, a differenza dello SFG, si basa su alcuni principi fondamentali noti in fisica e chimica, che permettono di generalizzare il funzionamento dei processi fisiologici di base a tutte le specie (Pouvreau et al. 2006).

**Tassi fisiologici ed equazioni DEB.** Le tecniche di misurazione fisiologica utilizzate in questo lavoro di tesi, sono quelle adottate tradizionalmente per calcolare lo SFG nei bivalvi marini (Widdows e Staff, 1998). L'applicazione di queste tecniche, permette la stima diretta della capacità di allocazione energetica da parte di un organismo, al processo di accrescimento. In sintesi, si descrive il bilancio energetico tra energia assunta tramite il cibo, e quella persa attraverso il metabolismo ed il processo di escrezione. Questa quantità di energia è quantificabile applicando una serie di

misurazioni, che portano alla stima dei principali tassi fisiologici di un organismo. Per quanto concerne i molluschi bivalvi, la metodica più utilizzata per la misura dei tassi fisiologici, risulta essere quella messa a punto da Widdows e Staff (2006).

Il modello DEB descrive, attraverso l'applicazione di principi teorici noti, i flussi di energia all'interno di un organismo, e le modifiche di questi in relazione ad ambienti con densità di cibo e temperature diverse (Kooijman, 2000; 2001). Esso si basa fondamentalmente sui concetti di crescita e riproduzione a differenti densità di cibo, e le sue variabili di stato principali sono la struttura e le riserve. Sulla base di questi principi, vengono descritte alcune equazioni di base che servono per determinare i tassi di crescita, alimentazione, sopravvivenza e riproduzione di un organismo, dettagliatamente descritte nel capitolo 2 di questa tesi.

Sebbene la stima dei parametri DEB risulta spesso difficile e non di immediata soluzione (van der Meer, 2006), in questo capitolo verrà descritto come, le equazioni del modello DEB, possono essere uno strumento pratico per l'analisi delle caratteristiche di una specie se accoppiate ai tassi fisiologici calcolati secondo le tecniche dello SFG.

Tra le misure fisiologiche descritte per lo SFG, quelle necessarie alla stima dei parametri DEB prevedono la misura del tasso di alimentazione (che nei bivalvi corrisponde al tasso di filtrazione o *clearance rate* - CR), per la stima del massimo tasso di ingestione  $\{J_{X_m}\}$  (si veda capitolo 2, equazione 2.3), e il tasso di respirazione (*respiration rate* - RR), per la stima dei costi di mantenimento  $[p'M]$  (si veda capitolo 2, equazione 2.9) e delle temperature di Arrhenius (si veda capitolo 2, equazione 2.16).

La misura del CR, definito come la quantità di acqua ripulita dalle particelle sospese (i.e. particelle di diametro compreso tra 2.5 e 4.5  $\mu\text{m}$ ) per ora ( $\text{L h}^{-1}$ ), prevede il calcolo della quantità di cellule algali (a concentrazione iniziale nota) rimosse da un organismo mantenuto in acqua di mare artificiale pre-filtrata a 0.45  $\mu\text{m}$  per intervalli di tempo, e viene calcolato (in termini del declino lineare della concentrazione cellulare espresso come  $\ln$ ), secondo la seguente formula (Coughlan, 1969):

$$\text{CR}(\text{L h}^{-1}) = (\text{Vol}) * (\ln C_1 - \ln C_2) / \text{intervallo di tempo in ore}, \quad (4.1)$$

dove Vol è il volume del beaker usato negli esperimenti mentre  $C_1$  e  $C_2$  sono rispettivamente le concentrazioni iniziali e ad ogni intervallo di tempo successivo.

Le misure di RR invece, vengono effettuate seguendo il declino dell'ossigeno disciolto all'interno di una camera respirometrica, riempita con acqua di mare filtrata, nella quale viene posto l'organismo. Secondo tale procedura il tasso di consumo di ossigeno equivale a:

$$RR = (\mu\text{moli O}_2 \text{ h}^{-1}) = [C(t_0) - C(t_1)] * (V_r) * 60/(t_1 - t_0), \quad (4.2)$$

dove:

$t_0$  = tempo iniziale (in minuti);

$t_1$  = tempo finale (in minuti);

$C(t)$  è la concentrazione di ossigeno nell'acqua ( $\mu\text{moli O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) al tempo  $t$ ;

$V_r$  è il volume di acqua all'interno della camera respirometrica.

Quindi, misurando i tassi fisiologici principali degli organismi, mediante esperimenti condotti in laboratorio, e sostituendo questi valori al termine corrispondente nell'equazione del modello DEB, è stato possibile risalire al valore dei principali parametri energetici di *B. pharaonis* e *M. minimus*. Nella tabella 4.1 sono riportate le equazioni del modello DEB, ciascuna delle quali è affiancata dalla corrispondente misura del tasso fisiologico descritta dallo SFG, necessaria per la stima del parametro energetico.

Per ogni parametro DEB stimato, verrà riportato dettagliatamente l'esperimento che ha condotto alla misurazione della variabile fisiologica, e la successiva applicazione di questa nell'equazione del modello associata. Inoltre, per maggiore chiarezza, saranno riportati i processi matematici e le conversioni delle unità di misura, che devono essere applicate per stimare numericamente i parametri DEB principali.

Infine, una sezione del capitolo sarà dedicata alla stima di quei parametri DEB che non possono essere calcolati sperimentalmente, e per i quali è necessario l'ausilio di specifici programmi di calcolo, come ad esempio Matlab.

Tab 4.1. Parametri DEB e misure fisiologiche utilizzate, i termini in grassetto indicano i tassi che possono essere misurati secondo le equazioni riportate per CR e RR.

Parametro DEB	Unità di misura	Equazione	Tasso fisiologico	Unità di misura	Equazione
<i>[p·M], costi di mantenimento volume-specifici</i>	$J d^{-1} cm^{-3}$	$[p·M]=\mathbf{p}·\mathbf{M}/V$	Tasso di respirazione, <b>RR</b>	$\mu\text{moli O}_2 h^{-1}$	<b>RR</b> = $[C(t_0)-C(t_1)]*(V_r)*60/(t_1-t_0)$
<i>TA, temperatura di Arrhenius</i>	<b>K</b>	$T_A=\ln \mathbf{k}(T)/\mathbf{k}(T_1) (T_1*T)/(T-T_1)$	Tasso di respirazione, <b>RR</b>	$\mu\text{moli O}_2 h^{-1}$	<b>RR</b> = $[C(t_0)-C(t_1)]*(V_r)*60/(t_1-t_0)$
<i>{J·<math>x_m</math>}, massimo tasso di ingestione</i>	$J d^{-1} cm^{-2}$	$\{J·x_m\}=\mathbf{J}·\mathbf{x}/fV^{2/3}$	Tasso di alimentazione, <b>CR</b>	$(L h^{-1})$	<b>CR</b> = $(Vol)*(lnC_1-lnC_2)/\Delta t$

## Materiali e metodi

### Area e metodologie di campionamento

Sul litorale occidentale della Sicilia si estende tra Marsala e Trapani, la laguna più vasta dell'intero territorio siciliano, meglio conosciuta come lo Stagnone (Fig. 4.1). Lo Stagnone di Marsala è un braccio di mare semichiuso, che si estende per circa 21 Km<sup>2</sup>, caratterizzato da basso fondale di natura sabbioso-fangosa e detritica. Attualmente all'interno del bacino, delimitato dall'Isola Grande distante nel punto più ampio soltanto 3 Km dalla costa, è possibile distinguere tre isolotti: Santa Maria, l'Isola della Scuola e S. Pantaleo, corrispondente all'antica *Mothya*. Lo Stagnone è collegato al mare tramite due bocche: la bocca nord, in corrispondenza di S. Teodoro, è ampia circa 450 m, con profondità che variano tra i 10 e i 30 cm e, la bocca sud, compresa tra Punta Stagnone (sull'Isola Grande) e Punta d'Alga, è larga 1350 m con profondità media di 2 m (Sarà et al. 1999).

La componente vegetale sommersa di questa laguna costiera, comprende principalmente rizofite (Sarà et al. 2003). La specie più frequente è *Posidonia oceanica*, che colonizza circa il 12% del substrato del bacino (Calvo et al. 1997).

Al centro dello Stagnone, dove il substrato è più fine e l'idrodinamismo risultata ridotto, l'associazione dominante è il *Cymodocetum nodosae*, con *Cymodocea nodosa* e *Caulerpa prolifera* come specie predominanti (Calvo et al. 1982).

Per quanto riguarda la componente animale di questo ecosistema, i molluschi rappresentano il gruppo tassonomico più ricco, con la presenza di oltre 130 specie, tra le quali il bivalve lessepsiano *Brachidontes pharaonis* (Sarà et al. 2003).

L'ipotesi del ritrovamento di questa specie all'interno dello Stagnone di Marsala, ed in particolare nella vasca di fredda della Salina Ettore-Inferna, adiacente e comunicante con lo Stagnone, è collegata all'attività dell'uomo (Sarà et al. 2000). Questa laguna della Sicilia occidentale, infatti, si contraddistingue perché in essa è consentito



Fig. 4.1. Stagnone di Marsala, Trapani

l'esercizio della salicoltura, attività che prevede l'utilizzo di un sistema di vasche che diventano per *B. pharaonis* un habitat ottimale (Sarà et al. 2000). La presenza di *B. pharaonis* nel Mediterraneo è conseguente all'apertura del Canale di Suez (1869) (Safriel e Sasson Frostig, 1988). Tale specie invasiva, infatti, è riuscita a colonizzare prima la parte orientale e successivamente quella occidentale del Mar Mediterraneo, garantendosi anch'essa una nicchia ecologica (Sarà et al. 2000). Le aree umide costiere, come lo Stagnone di Marsala, sono ambienti di transizione tra la fascia continentale ed il mare, con caratteristiche fisico-chimiche ed ecologiche ideali per tale specie.

Per le peculiarità appena descritte, lo Stagnone di Marsala è stato scelto come area di campionamento di *B. pharaonis*.

Il numero di individui campionato nella salina Ettore-Infersa (Sicilia occidentale, 37° 52' Nord, 12 ° 28' Est) è stato di 624, di taglia compresa tra da 18 a 37 mm. Questi, sono stati prelevati manualmente e trasferiti al Laboratorio di Ecologia Sperimentale e del Comportamento dell'Università di Palermo, all'interno di contenitori umidi. Giunti in laboratorio, gli organismi sono stati ripuliti dagli epibionti e posizionati all'interno di acquari adeguatamente areati, alimentati e mantenuti ad una temperatura costante di  $20 \pm 2^\circ \text{C}$ , per un periodo di due settimane, necessario per l'acclimatazione. Per garantire il riconoscimento di ogni individuo, i 624 campioni sono stati suddivisi in 8 differenti acquari (78 individui per vasca) riempiti di acqua di mare e dotati di pompa ad immersione con filtro interno per l'aerazione (Serplast Compact Blue, Italia). La sistemazione degli organismi in ogni vasca è avvenuta mediante l'ausilio di griglie di posizionamento che impedivano la dispersione dei campioni; inoltre, questi sono stati precedentemente segnati con un pennarello indelebile, al fine di poter riconoscere e monitorare ogni individuo per tutta la durata dell'esperimento. Le principali variabili chimico-fisiche degli acquari sono state monitorate giornalmente mediante l'ausilio di una sonda multiparametrica (YSI 556, USA), e mantenute a condizioni costanti di pH (8.2-8.3), temperatura (20-22 °C) e salinità (~37‰) (Ren e Schiel, 2008).

La fase sperimentale è durata 16 settimane, da marzo a giugno 2010. In particolare il disegno sperimentale è stato elaborato secondo uno schema *before-after* (Fig. 4.2). In una prima fase, durata 8 settimane, tutti gli acquari sono stati alimentati costantemente (*ad libitum*) con un composto algale (*Isochrysis galbana*), durante le restanti 8 settimane dell'esperimento, 4 degli 8 acquari sono stati posti in condizioni di non

alimentazione (*starvation*) secondo la procedura descritta da Ren e Schiel (2008). I 4 acquari alimentati sono stati individuati come controllo (CTRL) mentre i 4 non alimentati come impatto (IMP). Oltre alle variabili chimico-fisiche, ogni vasca veniva controllata giornalmente per eliminare gli individui morti.

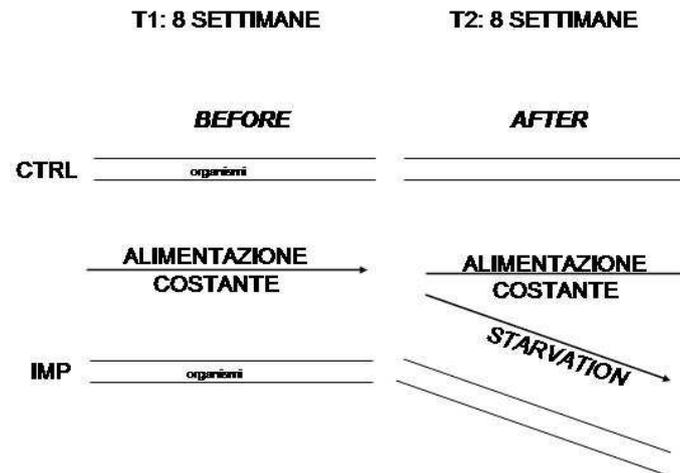


Fig. 4.2. Schema del disegno sperimentale.

Parallelamente agli esperimenti di laboratorio, sono state effettuate le stesse misurazioni su organismi mantenuti in condizioni naturali. In questo caso, un numero di 500 esemplari di *B. pharaonis*, che vivono nelle acque basse dello Stagnone di Marsala, sono stati accuratamente etichettati e conservati in speciali griglie immerse in acqua. Le analisi applicate sono state le stesse condotte per gli organismi alimentati, durante gli esperimenti di laboratorio. Lo scopo degli esperimenti sul campo è stato quello di fornire dati relativi ad organismi mantenuti in ambiente naturale, al fine di rimuovere ogni possibile cambiamento sui tassi fisiologici dovuto alle condizioni di cattività.

In un secondo momento (aprile 2011), è stato allestito in laboratorio il medesimo esperimento per la stima dei parametri DEB della specie *Mytilaster minimus*. In questo caso sono stati prelevati 400 individui di *M. minimus*, con una taglia compresa tra 10-13 mm, lungo il litorale di Altavilla Milicia (a poche decine di km ad est di Palermo, 38° 01' N, 13° 53' E). Lungo il margine interno della piattaforma si ha, infatti, la presenza del bivalve autoctono *M. minimus*, che forma dense lettiere sui substrati rocciosi che si estendono orizzontalmente sul limite superiore di marea. I molluschi, sono stati prelevati manualmente mediante l'utilizzo del metodo del grattaggio. La tecnica consta

dell'utilizzo di un quadrato di lato 20 cm (per una superficie di campionamento di 400 cm<sup>2</sup>), all'interno del quale vengono prelevati mediante una spatolina tutti gli individui presenti. Una volta raccolti, gli animali sono stati sistemati in contenitori con materiale assorbente e raffreddati con ghiaccio sintetico, per mantenerli umidi durante il trasporto in laboratorio.

Giunti in laboratorio, i campioni sono stati ripuliti dagli epibionti presenti sulle valve e messi in un acquario (con le caratteristiche tecniche descritte sopra) per un periodo di due settimane, in modo da far acclimatare gli animali. Trascorso tale periodo, gli individui sono stati posizionati in due differenti acquari all'interno delle griglie (200 individui per acquario) e, non essendo stato possibile marcarli a causa delle dimensioni ridotte, ogni griglia è stata rivestita con una copertura a maglia più piccola, tale da garantire il passaggio del cibo ed una corretta circolazione dell'acqua, ma da impedire la dispersione dei campioni. L'unica differenza tra i due esperimenti ha riguardato il tempo impiegato, nel caso di *M. minimus* infatti, data la differente plasticità della specie, l'esperimento si è concluso dopo 12 settimane (maggio-luglio 2011). Anche in questo esperimento, dopo la fase di acclimatazione, i due acquari sono stati alimentati *ad libitum* per un periodo di 4 settimane. Trascorso tale periodo, una delle due vasche è stata mantenuta in condizioni di non alimentazione per le restanti settimane, ciò al fine di individuare una vasca di controllo (CTRL) ed una di impatto (IMP).

### **Metodologie per la stima dei parametri DEB**

Dal momento che per la stima indiretta dei principali parametri DEB occorre conoscere le caratteristiche fisiologiche di una specie, la finalità degli esperimenti condotti è stata la misurazione dei tassi fisiologici fondamentali di un organismo (respirazione e alimentazione, sia in condizioni di alimentazione che di non alimentazione) attraverso la metodica messa a punto da Widdows e Staff (2006) per i molluschi bivalvi. Ad ogni tasso fisiologico, per il quale verrà descritta la metodologia sperimentale utilizzata, sarà associata l'equazione matematica relativa al parametro DEB di cui è stato stimato il valore.

**Metodologie per la stima del coefficiente di forma.** Le variabili necessarie per la stima del coefficiente di forma ( $\delta m$ , adimensionale) sono la lunghezza totale delle valve ed il peso umido del soma. Per ottenere questi dati sono state effettuate, con cadenza settimanale, le biometrie e le misure di peso di tutti gli individui di entrambe le specie (n=624 per *B. pharaonis* e n=400 per *M. minimus*). Le biometrie comprendevano misure della lunghezza e dello spessore delle valve effettuate mediante un calibro digitale (Kanon EMA; sensibilità 0,001 mm); mentre il peso umido è stato misurato mediante una bilancia elettronica Mettler Toledo PL 602-5 sensibilità 0,01gr nel caso di *B. pharaonis* e Sartorius BL 120s sensibilità 0.0001 gr nel caso di *M. minimus*. A questo punto, i valori di lunghezza (L, cm) e di peso ( $W_w$ , g) ottenuti, sono stati inseriti nell'equazione  $\delta m = (W_w/d_{V_w})^{1/3} * L^{-1}$  ( $d_{V_w} = 1$ ), ed il valore del coefficiente di forma è stato calcolato applicando la procedura descritta nel capitolo 2, paragrafo 2.3.2.

**Metodologie per la stima del volume strutturale.** Sebbene il volume strutturale (V, cm<sup>3</sup>) non sia un parametro energetico, esso risulta di fondamentale importanza per la stima di gran parte dei parametri energetici descritti nel modello DEB. Per poter ricavare il volume di un organismo bivalve sono necessari il coefficiente di forma (si veda sopra) e la lunghezza delle valve (L, cm). Infine, basta applicare l'equazione  $V = (\delta m L)^3$  secondo la procedura descritta nel capitolo 2, paragrafo 2.3.1.

**Metodologie per la stima del massimo tasso di ingestione per unità di superficie.** Per ottenere i dati necessari alla stima del massimo tasso di ingestione per unità di superficie ( $\{J_{X_m}\}$ , J d<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>) occorre scomporre l'equazione  $\{J_{X_m}\} = J_X/f V^{2/3}$  descritta dettagliatamente nel capitolo 2, paragrafo 2.3.1, e calcolare ogni singolo componente separatamente.

Il termine  $J_X$  (J d<sup>-1</sup>) corrisponde al tasso di ingestione e la variabile fisiologica necessaria per calcolarlo è il tasso di alimentazione che, nei bivalvi come *B. pharaonis* e *M. minimus*, corrisponde al tasso di filtrazione o *clearance rate* (CR). Il CR (L h<sup>-1</sup>) è stato determinato ogni 15 giorni mediante un sistema chiuso, misurando la rimozione delle cellule aggiunte all'acqua di mare artificiale pre-filtrata a 0.45 µm (Whatman GF/C) ad una concentrazione iniziale teorica di 25.000 cellule di *I. galbana* per ml. Le medesime misurazioni sono state effettuate, con la stessa cadenza, sugli organismi di *B.*

*pharaonis* mantenuti in condizioni naturali, infatti il valore finale di CR, utilizzato per la stima del  $J'_X$ , è dato dalla media dei CR misurati in campo ed in laboratorio.

La misurazione del CR ha previsto la sistemazione di 16 animali (8 alimentati ed 8 a digiuno) in 16 differenti beaker contenenti un litro d'acqua di mare artificiale e una barretta magnetica (in totale n=54 per *B. pharaonis*, 8 individui per 7 settimane, meno 2 morti e, n=37 per *M. minimus*, 8 individui per 5 settimane, meno 3 morti). Un beaker senza mollusco è stato utilizzato come controllo al fine di valutare l'eventuale effetto della sedimentazione delle cellule algali. Il rimescolamento è stato garantito da un agitatore magnetico sul quale è stato posizionato ogni beaker. Dopo un periodo di acclimatazione di circa 5 min, in ogni beaker è stata aggiunta un'aliquota di coltura cellulare fitoplanctonica tale da dare una concentrazione iniziale di  $\sim 25.000$  cell. ml<sup>-1</sup> che decresceva esponenzialmente come effetto della filtrazione dei molluschi. Dopo circa 1 min., il tempo necessario affinché la soluzione risultasse ben mescolata, si è proceduto con il prelievo di una aliquota di 20 ml dal centro del beaker. Ogni campione è stato conservato in una bottiglietta e avviato al conteggio (media su tre misure) del numero di particelle presenti per mezzo di un contatore di particelle (Coulter Counter, Z2 version; Beckman Coulter, Inc. USA). Da questo momento in poi sono stati prelevati campioni da 20 ml ogni 30 min per 2 ore. Il *clearance rate* dei singoli molluschi è stato calcolato secondo l'equazione (4.1) del presente capitolo.

Il termine indicato con  $f$  è la risposta funzionale scalare (si veda capitolo 2, paragrafo 2.3.1) ed equivale a  $f = X/(X_k+X)$  dove  $X$  è la quantità di cibo presente nell'ambiente e  $X_k$  è il coefficiente di saturazione, calcolato come la quantità di cibo a cui il tasso di ingestione è pari alla sua metà. Questo dato può essere ricavato mediante esperimenti di CR a concentrazioni note di cibo. Qualora non fosse possibile calcolare l' $X_k$  sperimentalmente, è possibile effettuare un'approssimazione del suo valore ad 1 (Kooijman, 2010).

L'ultimo termine dell'equazione è il volume ( $V$ , cm<sup>3</sup>) elevato a 2/3 che corrisponde quindi alla superficie dell'organismo, come descritto nel capitolo 2, paragrafo 2.3.1 equazione (2.6).

Ottenuti tutti i dati necessari, è sufficiente sostituirli nell'equazione (2.2) (si veda capitolo 2), con  $J'_X$  corrispondente al valore del CR, per cui avremo:

$$\{J_{Xm}\} = CR / fV^{2/3}, \quad (4.3)$$

Come si può notare, le unità di misura del CR ( $L h^{-1}$ ) e del  $J_X$  ( $J d^{-1}$ ) sono differenti, quindi occorre moltiplicare il valore ottenuto per un fattore di conversione pari a 18.5 (1 mg POM = 18.5 J) e per 24 in maniera da ottenere il tasso al giorno.

**Metodologie per la stima dei costi di mantenimento volume-specifici.** La variabile fisiologica necessaria per calcolare i costi di mantenimento volume-specifici ( $[p'M]$ ,  $J d^{-1} cm^{-3}$ ), secondo l'equazione (2.9) riportata nel capitolo 2, paragrafo 2.3.3, è il consumo di ossigeno di organismi non alimentati. Come descritto da Widdows e Staff (2006), per i molluschi bivalvi le misure di respirazione (RR,  $\mu\text{moli } O_2 h^{-1}$ ) vengono effettuate mediante l'ausilio di un sensore predisposto per la misurazione del declino dell'ossigeno disciolto all'interno di una camera respirometrica. Le RR sono state effettuate, per entrambe le specie, settimanalmente sul totale dei campioni. Tuttavia, dal momento che per la stima del  $[p'M]$  secondo letteratura (Ren e Schiel, 2008) occorre il tasso degli organismi a riserve zero, sono state utilizzate le RR degli organismi in condizioni di digiuno ( $n=64$ ). Gli animali, presi singolarmente, sono stati posizionati all'interno di una camera respirometrica, del volume di 0.7 L per *B. pharaonis* e 0.5 L per *M. minimus*, al cui interno era presente acqua di mare filtrata su filtri Whatman GF/C da  $0.45 \mu\text{m}$ , adeguatamente aerata per 24 ore prima dell'utilizzo. La camera respirometrica in plexiglass (Pierron) veniva riempita totalmente, quindi, inserito l'organismo, veniva chiusa ermeticamente con un coperchio. Nella fase successiva si inseriva il sensore per le misure dell'ossigeno disciolto (Hanna Instruments HI 9145) (Fig. 4.3), precedentemente calibrato a secco.



Fig. 4.3. Respirometro e camera respirometrica.

In questa fase è di fondamentale importanza fare fuoriuscire le bolle d'aria presenti all'interno della camera, le quali potevano, aderendo al sensore per l'ossigeno alterare le letture dello strumento. Dopo un tempo di 10 minuti, si effettuava un'altra calibrazione del sensore elettropolarografico in acqua, fatto ciò si misurava il valore dell'ossigeno iniziale e dopo 30 minuti il valore finale espresso in ppm di O<sub>2</sub>. Infine, il valore della respirometria è stato calcolato secondo la procedura descritta in questo capitolo (si veda equazione 4.2).

Ottenuto il tasso di consumo di ossigeno degli organismo a riserve zero e avendo il volume, è sufficiente sostituire questi valori all'equazione  $[p'M] = p'M/V$  (descritta nel capitolo 2), dove il termine  $p'M$  corrisponde al valore medio delle RR:

$$[p'M] = RR / V, \quad (4.4)$$

Per riordinare le unità di misura occorre moltiplicare per 0.456 per trasformare il tasso da  $\mu\text{mol O}_2$  a J (si veda paragrafo 4.1) e per 24 in maniera da ottenere il tasso al giorno.

**Metodologie per la stima delle temperature di Arrhenius.** Come per il  $[p'M]$  anche per la stima delle temperature di Arrhenius ( $T_A$ , K) occorre il tasso di consumo di ossigeno. In questo caso, però, tale valore deve essere calcolato tramite esperimenti effettuati a differenti temperature, ciò al fine di poter stimare i limiti superiore ed inferiore del *range* termico di funzionamento di entrambe le specie. Per tale ragione, sono stati utilizzati i valori delle RR di *B. pharaonis* e *M. minimus* a differenti temperature, misurati seguendo la stessa procedura già descritta.

Dopo aver ottenuto questi valori, occorre sostituire al termine  $k_{(1)}$  nell'equazione (2.16) (si veda capitolo 2), che viene riportata di seguito come promemoria  $T_A = \ln |k_{(T)}/k_{(1)}| * (T_1 * T) / (T - T_1)$ , una volta i valori del tasso di consumo di ossigeno alla temperatura inferiore della finestra termica ( $T_1$ ), al fine di ottenere il limite inferiore della temperatura di Arrhenius ( $T_{AL}$ ), e una volta i valori del tasso di consumo di ossigeno alla temperatura superiore della finestra termica, al fine di ottenere il limite superiore della temperatura di Arrhenius ( $T_{AH}$ ). Ricordiamo inoltre, che  $k_{(T)}$  rappresenta il tasso alla temperatura di riferimento scelta (T) che, nel nostro caso è di 20°C.

**Metodologie per la stima del peso secco e del peso secco escluse le ceneri.** Tra i valori fondamentali necessari per la stima dei parametri DEB vi sono quelli riguardanti il peso degli organismi, espresso sia in termini di peso secco (*dry weight* - DW) che di peso secco escluse le ceneri (*ash free dry weight* - AFDW). Il DW è necessario per verificare l'andamento delle riserve degli organismi non alimentati, come descritto nel paragrafo 2.3.3. L'AFDW, come vedremo, è fondamentale per calcolare i parametri energetici riguardanti l'immagazzinamento delle riserve ( $[E_G]$  ed  $[E_m]$ ).

Per ottenere questi valori, al termine di ogni analisi respirometrica e di clearance rate, è stata effettuata sugli organismi la stima della biomassa. In particolare, si è proceduto separando accuratamente, mediante l'ausilio di un bisturi, il soma e le valve di ogni individuo. I sub-campioni sono stati quindi posizionati su appositi crogiuoli in alluminio precedentemente pesati, al fine di ottenere il peso umido delle due componenti principali del campione. A questo punto, i campioni sono stati messi in stufa a 100 °C per 24 ore, questo permette la disidratazione del campione ed evita l'eventuale perdita di composti volatili. Applicando la differenza tra il peso delle due componenti (soma e valve) ed il crogiuolo ed il peso iniziale di quest'ultimo, è possibile ottenere il peso secco del soma e delle valve (espresso in grammi). Gli stessi campioni, quindi, sono stati trasferiti in muffola (Forno a muffola ZB), settata ad una temperatura di 490°C per un tempo di 24 ore. Al termine di questa fase, dopo che il peso dei campioni si è stabilizzato e questi sono stati nuovamente pesati, si è proceduto sottraendo al peso secco dei campioni precedentemente trovato, il peso delle ceneri ottenute dopo il passaggio in muffola. In questo modo è stato possibile ricavare il valore della materia organica totale sottoforma di AFDW (espressa in grammi). Tutte le pesate sono state effettuate mediante una bilancia elettronica (Sartorius BP 221 S) con una sensibilità di  $\pm 0.0001$  gr.

**Metodologie per la stima della densità massima di immagazzinamento.** La densità massima di immagazzinamento ( $[E_m]$ ,  $J\ cm^{-3}$ ), nei due bivalvi, è stata stimata come differenza tra l'indice di massa somatica degli organismi alimentati ( $SMI_{fed}$ ) e quello degli organismi non alimentati ( $SMI_{starved}$ ). Le variabili necessarie per calcolare l'SMI sono l'AFDW in mg e la lunghezza delle valve in cm. In particolare, occorre il valore massimo di AFDW (mg) degli organismi alimentati per l'  $SMI_{fed}$ , e quello minimo per

gli organismi non alimentati, diviso la lunghezza delle valve al cubo ( $SMI = AFDW, \text{ mg} / \text{L}^3, \text{ cm}$ ). Ottenuti questi valori, l' $[E_m]$  viene calcolato applicando l'equazione (2.18) descritta nel capitolo 2.

**Metodologie per la stima dei costi delle strutture volume - specifici.** L'unico metodo indiretto per la stima dei costi delle strutture volume – specifici ( $[E_G], \text{ J cm}^{-3}$ ) è quello di moltiplicare il valore di SMI degli organismi a digiuno ( $SMI_{starved}$ ) per il fattore di conversione dell'AFDW del soma in energia (1 mg di AFDW del soma = 23 J) e dividere per il cubo del coefficiente di forma ( $\delta_m$ ), come descritto dall'equazione (2.19) descritta nel capitolo 2.

**Metodologie per la stima di kappa.** La maggior parte dei lavori riguardanti la stima dei parametri DEB presenti in letteratura, utilizzano un approccio teorico che prevede l'impiego di *routine* di calcolo, appositamente create, che forniscono una stima dei parametri generali caratteristici di una specie (Pouvreau et al. 2006; Saraiva et al. 2011). Durante i primi corsi sulla teoria DEB, Kooijman (2009) propone l'utilizzo di un documento (*Add my pet*, accessibile su <http://www.bio.vu.nl/thb/deb/index.html>), attraverso il quale è possibile seguire di pari passo la procedura che consente la stima dei parametri DEB. Questa procedura ha lo scopo prioritario di creare una collezione di parametri realistici, inerenti la bioenergetica di un numero elevato di specie. Gli strumenti necessari per effettuare l'ottimizzazione sono: un software di calcolo matematico (ad esempio Matlab o Octave) e un pacchetto di codici matematici (DEBtool, <http://www.bio.vu.nl/thb/deb/index.html>) scritto in Octave e/o Matlab, che può essere utilizzato per studiare il comportamento bioenergetico delle diverse specie. Uno dei parametri fondamentali che può essere stimato solo mediante l'ausilio dei DEBtool è il  $\kappa$ , ossia la frazione di energia allocata al mantenimento del corpo dell'organismo.

Nel caso delle specie *B. pharaonis* e *M. minimus*, la stima di  $\kappa$  è stata effettuata mediante le *routine* di calcolo create in linguaggio Matlab.

In particolare, i parametri stimati sperimentalmente per le due specie (*input parameter*) sono stati inseriti all'interno di file madre di calcolo che operano sulla base delle DEBtool *routine* (denominati *pars\_my\_pet.m*, *mydata\_my\_pet.m* e *predict\_my\_pet.m*

disponibili su [http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add\\_my\\_pet/index.php](http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/index.php)). Così facendo, è stato possibile ottenere la stima esatta del valore di  $\kappa$  (*output parameter*) e, indirettamente attraverso l'applicazione della  $\kappa$ -rule, della frazione di energia  $1-\kappa$  devoluta dall'organismo alla riproduzione.

**Analisi statistica.** I dati sono stati confrontati e le differenze testate con ANOVA (Underwood, 1997). Il test di Cochran è stato utilizzato a priori per testare l'assunto di omogeneità di varianza (Underwood, 1997), nei casi in cui non è stato possibile assumere l'omogeneità della varianza a priori, si è proceduto con la trasformazione ( $\ln X$ ) dei dati. L'analisi della varianza è stata interamente condotta usando il software di supporto GMAV. L'analisi multivariata PERMANOVA (Anderson, 2001) è stata condotta su matrici log-trasformate delle distanze Euclidee con 9999 permutazioni. Il software utilizzato è stato il Primer 6.0.

## Risultati e discussioni

In questa sezione verranno riportati: i) i dati sperimentali ottenuti per le variabili fisiologiche, sia per *Brachidontes pharaonis* che per *Mytilaster minimus*, utilizzati per la stima dei parametri DEB tramite l'applicazione delle procedure sopra descritte; ii) i valori dei parametri DEB stimati attraverso Matlab; iii) il confronto dei parametri DEB di *B. pharaonis* e *M. minimus* con quelli della specie *Mytilus galloprovincialis* presenti in letteratura (Sarà et al. 2012; Saraiva et al. 2011).

La tabella 4.2 riassume schematicamente tutti i valori dei parametri DEB per *B. pharaonis* e *M. minimus* calcolati sperimentalmente, e quelli di *M. galloprovincialis* raccolti dalla letteratura.

Tab. 4.2. parametri DEB per *B. pharaonis* e *M. minimus* calcolati sperimentalmente, e quelli di *M. galloprovincialis* raccolti dalla letteratura.

<i>Parametro</i>	<i>B. pharaonis</i>	<i>M. minimus</i>	<i>M. galloprovincialis</i>
$T_A$ , K Temperatura di Arrhenius	8232	3425	5800
$\{J \cdot X_m\}$ , $J \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ Massimo tasso di ingestione per S	17.88	21.09	8.2
$[p \cdot M]$ , $J \text{ cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$ Costi di mantenimento per volume	9.29	19.10	1
$[E_m]$ , $J \text{ cm}^{-3}$ Energia delle riserve	1967	342	2190
$[E_G]$ , $J \text{ cm}^{-3}$ Costi energetici per l'accrescimento	1118	845	1900
$\kappa$ Energia allocata al soma	0.9874	0.9986	0.7000
$\delta m$ Coefficiente di forma	0.2880	0.4312	0.2254
$V_b$ , $\text{cm}^3$ Volume alla nascita	0.00000049	0.0000073	0.0000013
$V_p$ , $\text{cm}^3$ Volume alla pubertà	0.01008	0.00731	0.06
$ae$ Efficienza di assimilazione	0.75	0.75	-
$X_K$ , $\mu\text{g chl-a L}^{-1}$ Coefficiente di saturazione	0.62	0.42	2.1
$k_R$ Efficienza di riproduzione	0.95	0.95	0.8

**Coefficiente di forma ( $\delta m$ ).** La stima del coefficiente di forma ( $\delta m$ , adimensionale) di *B. pharaonis* (Fig. 4.4) e *M. minimus* (Fig. 4.5), basata sui dati di lunghezza totale delle valve e peso umido del soma, corrisponde rispettivamente a  $0.288 \pm 0.002$  e  $0.431 \pm 0.001$ . Tali dati, possono essere confrontati con il valore del coefficiente di forma del bivalve *M. galloprovincialis* che, come riportato in letteratura (Sarà et al. 2012; Saraiva et al. 2011), equivale a 0.2254.

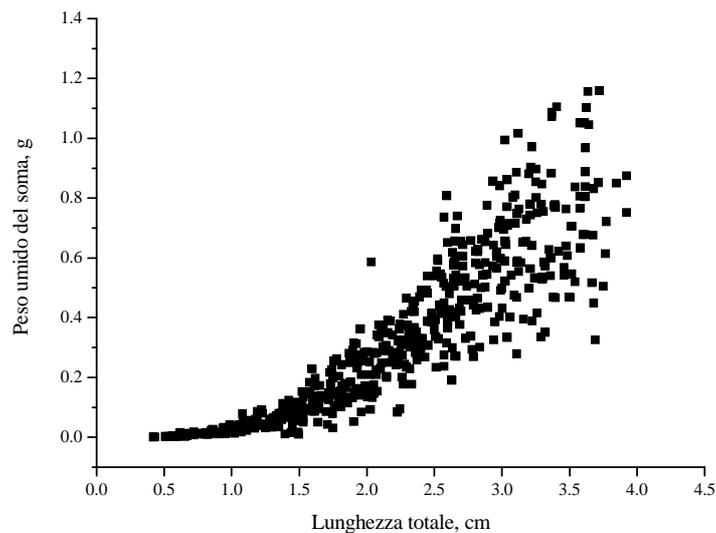


Fig. 4.4. Rapporto tra il peso umido del soma (g) e la lunghezza totale delle valve (cm) per la stima del coefficiente di forma di *B. pharaonis*.

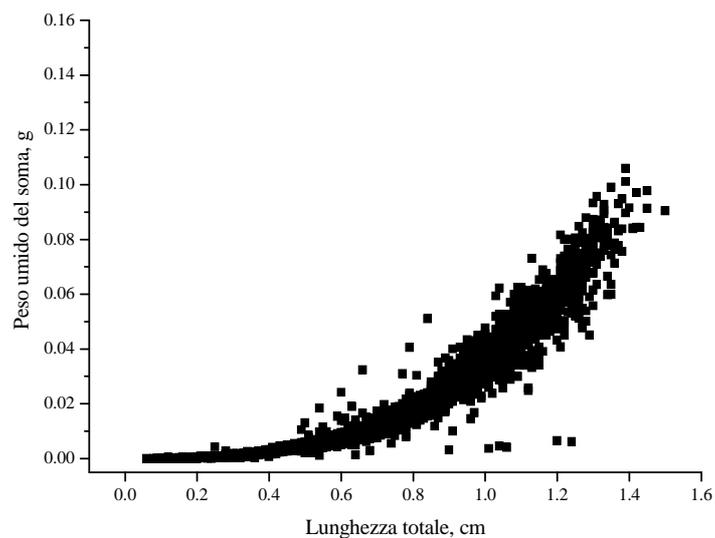


Fig. 4.5. Rapporto tra il peso umido del soma (g) e la lunghezza totale delle valve (cm) per la stima del coefficiente di forma di *M. minimus*.

**Massimo tasso di ingestione per unità di superficie  $\{J'_{xm}\}$ .** I dati utilizzati per la stima del massimo tasso di ingestione per superficie  $\{J'_{xm}\}$  si basano sui valori di *clearance rate* (CR) misurati per *B. pharaonis* e *M. minimus* alla temperatura di 20 °C. Per quanto riguarda gli organismi di *B. pharaonis*, il valore finale di  $\{J'_{xm}\}$ , che equivale a  $17.88 \pm 0.68 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^2$ , è stato calcolato applicando l'equazione (4.1), e utilizzando la media dei valori di CR, sia degli organismi alimentati mantenuti in laboratorio che di quelli in condizioni naturali, pari a  $0.39 \text{ L/h}^{-1}$  (fattore di conversione di 1 mg di POM filtrata in 1 L = 18.5 J) e una superficie media degli organismi di  $0.77 \text{ cm}^2$ . Per *M. minimus* invece, il valore finale di  $\{J'_{xm}\}$  equivale a  $21.09 \pm 1.08 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^2$ , il CR corrisponde al valore medio dai tassi degli organismi mantenuti in laboratorio ed equivale a  $0.16 \text{ L/h}^{-1}$  (fattore di conversione di 1 mg di POM filtrata in 1 L = 18.5 J) e il valore medio per la superficie è di  $0.21 \text{ cm}^2$ . Dal momento che il massimo tasso di ingestione è un parametro direttamente proporzionale all'area di superficie dell'organismo e segue la risposta funzionale di tipo II di Holling ( $f = X/(X_k+X)$ ), per poterlo calcolare occorrono i valori della quantità di cibo presente nell'ambiente ( $X$ ) e del coefficiente di saturazione  $X_k$ . Nel nostro caso, abbiamo utilizzato come cibo una concentrazione nota di *Isochrysis galbana* pari ad 1mg ( $X$ ) (fattore di conversione 1 mg POM = 18.5 J) sia per *B. pharaonis* che *M. minimus*. Mentre l' $X_k$ , misurato a differenti concentrazioni di cibo, è di  $0.62 \mu\text{g CHL-a L}^{-1}$  per *B. pharaonis* (Fig. 4.6) e  $0.42 \mu\text{g CHL-a L}^{-1}$  per *M. minimus* (Fig. 4.7). Al fine di poter effettuare un confronto, riportiamo il valore di  $\{J'_{xm}\}$  calcolato per *M. galloprovincialis* da Sarà et al. (2011a), che equivale a  $8.2 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^2$ .

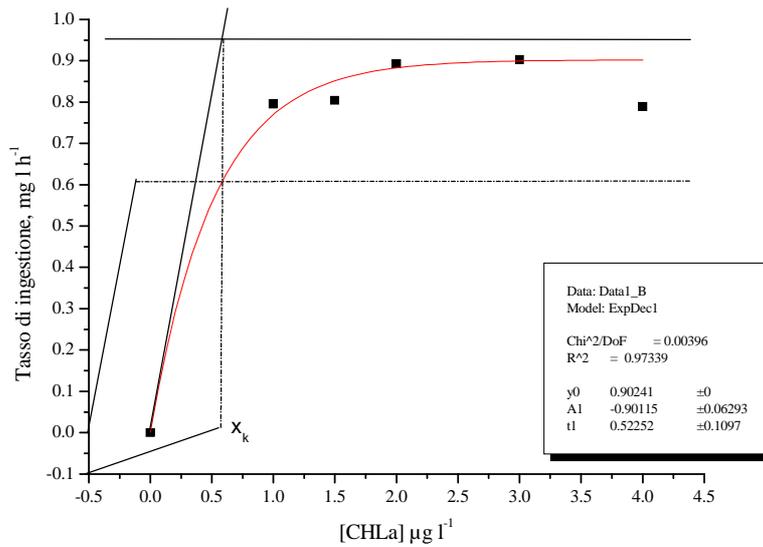


Fig. 4.6. Tasso di ingestione in funzione della densità di cibo (coltura mono-algale di *I. galbana*) per *B. pharaonis*. Il coefficiente di saturazione ( $X_k$ ) corrisponde alla densità a cui il tasso di ingestione è pari alla metà del suo valore massimo.

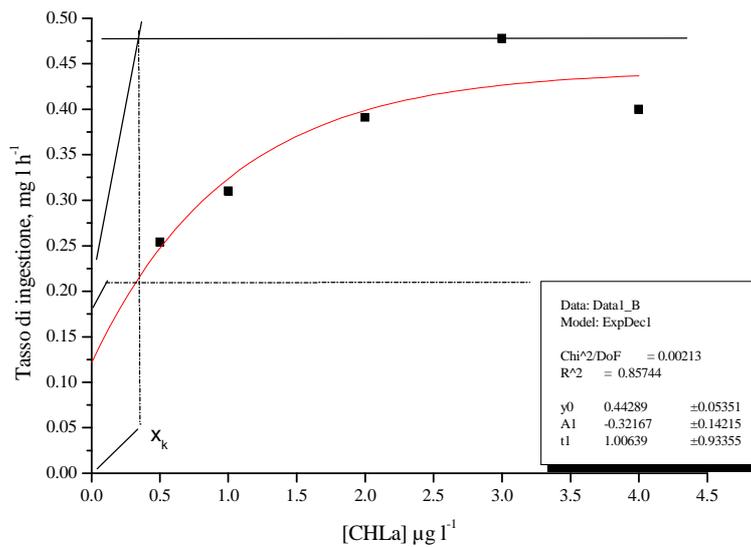


Fig. 4.7. Tasso di ingestione in funzione della densità di cibo (coltura mono-algale di *I. galbana*) per *M. minimus*. Il coefficiente di saturazione ( $X_k$ ) corrisponde alla densità a cui il tasso di ingestione è pari alla metà del suo valore massimo.

**Costi di mantenimento volume-specifici [p'M].** La stima dei costi di mantenimento volume specifici ([p'M],  $J d^{-1} cm^{-3}$ ) permette di avere una misura diretta dell'energia immagazzinata nelle riserve e utilizzata da un organismo per affrontare eventuali condizioni di stress, come quelle dovute ad un lungo periodo di digiuno. Per poter calcolare il [p'M], sono stati allestiti in laboratorio appositi esperimenti di non

alimentazione, attraverso i quali è stato possibile monitorare l'andamento delle riserve in funzione del peso secco (DW, g) degli organismi mantenuti a digiuno. In figura 4.8 viene riportato l'andamento del peso secco dei tessuti degli organismi di *B. pharaonis*, mantenuti in condizione di alimentazione per le prime 8 settimane dell'esperimento e a digiuno per le restanti settimane. I valori medi del DW hanno mostrato una differenza significativa tra le settimane in cui gli organismi erano alimentati e quelle in cui è iniziato il digiuno (Tab. 4.3). A partire dalla settimana 13, si assiste al raggiungimento di un valore costante del DW ( $0.048 \pm 0.004$  g), indicativo del consumo totale delle riserve. Se l'esperimento fosse stato prolungato nel tempo, infatti, gli organismi privi di riserve energetiche avrebbero iniziato a degradare le strutture del corpo, per ottenere l'energia necessaria alla sopravvivenza, falsando i reali valori del peso secco dei tessuti.

Tab. 4.3. ANOVA effettuata sulla matrice dei pesi secchi dei tessuti degli organismi di *Brachidontes pharaonis* in fase di alimentazione e non (Df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; \* = differenza significativa per  $p < 0.05$ ; \*\* = differenza significativa per  $p < 0.01$ ; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.001$ ; ns = non significativo).

Peso secco dei tessuti					
Sorgente	Df	SS	MS	F	P
Condizione (Cond)	1	4.40	4.40	15.79	***
Settimane (Sett)	7	1.92	0.27	0.99	ns
Cond x Sett	7	2.97	0.42	1.52	ns
Residui	112	31.25	0.28		
Cochran's C					*(ln X)

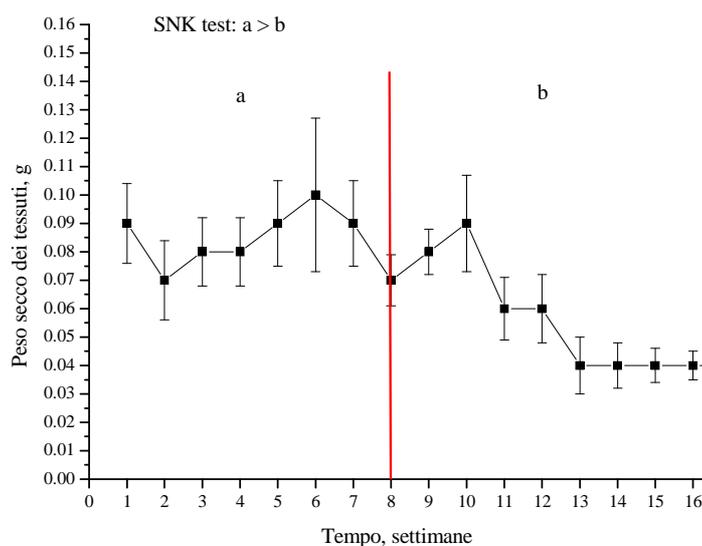


Fig. 4.8. Peso secco in grammi degli organismi non alimentati di *B. pharaonis* in funzione del tempo espresso in settimane.

Nel caso di *M. minimus*, dopo le prime 4 settimane di alimentazione, si assiste ad un brusco declino dei valori del peso secco, coincidente con l'inizio della fase di digiuno, che mostrano una differenza significativa con le settimane in cui gli organismi erano alimentati (Tab. 4.4). Gli organismi raggiungono la fase di *plateau* tra l'ottava e la nona settimana (Fig. 4.9). Fino a questo momento infatti, gli organismi hanno continuato ad utilizzare le riserve senza intaccare il comparto delle strutture. Dopo le 4 settimane durante le quali il valore del peso secco si è mantenuto costante ( $0.0058 \pm 0.0001$  g), si è assistito ad un collasso del DW nella settimana 12.

Tab. 4.4 PERMANOVA effettuata sulla matrice dei pesi secchi dei tessuti degli organismi di *Mytilaster minimus* in fase di alimentazione e non (Df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \* = differenza significativa per  $p < 0.05$ ; \*\* = differenza significativa per  $p < 0.01$ ; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.001$ ; ns = non significativo).

Sorgente	Peso secco dei tessuti					
	Df	SS	MS	F	P(perm)	n
Condizione (Cond)	1	0.0001	0.00008	13.67	***	9829
Settimane (Sett)	3	0.0000	0.00000	0.73	ns	9961
Cond x Sett	3	0.0000	0.00001	1.67	ns	9950
Residui	44	0.0002	0.00001			
Totale	51	0.0004				

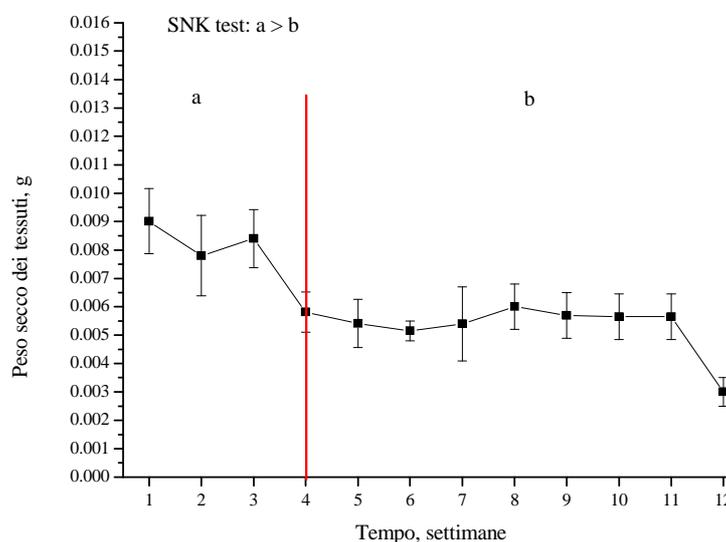


Fig. 4.9. Peso secco in grammi degli organismi non alimentati di *M. minimus* in funzione del tempo espresso in settimane.

Gli organismi sono in grado di sopravvivere a lunghi periodi di digiuno, durante i quali essi limitano le loro funzioni vitali alla respirazione e, utilizzano per il mantenimento l'energia immagazzinata nelle riserve. Per tale ragione, la stima del [p'M] si è basata

proprio sull'utilizzo dei tassi di respirazione (RR) degli organismi, nelle settimane in cui hanno raggiunto un valore costante di DW. Nel caso di *B. pharaonis*, il valore di RR è stato calcolato utilizzando i valori medi delle respirometrie delle settimane 13, 14, 15 e 16, ed è pari a 15.48  $\mu\text{mol/h}$  (oppure 7.06 J/h se moltiplicato per il fattore di conversione in J di 0.456). Applicando quindi l'equazione (4.2) riportata in questo capitolo, si è giunti ad un valore di  $[p'M]$  di  $9.29 \pm 1.47 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^{-3}$ . Per *M. minimus*, i valori medi di RR delle settimane 8, 9, 10 e 11, corrispondono a 5.54  $\mu\text{mol/h}$  ossia 2.52 J/h, ed il valore di  $[p'M]$  calcolato attraverso l'equazione (4.2) è pari a  $19.10 \pm 1.86 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^{-3}$ .

Per quanto riguarda il valore di  $[p'M]$  di *M. galloprovincialis* riportato in Sarà et al. (2011a), questo equivale a  $1 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^{-3}$ .

**Densità massima di immagazzinamento  $[E_m]$ .** Il valore di  $[E_m]$ , ( $\text{J/cm}^3$ ) in *B. pharaonis* e *M. minimus* è stato calcolato attraverso gli indici di massa somatica degli organismi alimentati ( $\text{SMI}_{fed}$ ) e non ( $\text{SMI}_{starved}$ ) applicando l'equazione (2.18) come descritto nel capitolo 2.

In particolare, per *B. pharaonis* il valore massimo dell'AFDW degli organismi alimentati è pari a 76.53 mg e la lunghezza media delle valve è di 2.88 cm ( $L^3 = 23.89 \text{ cm}^3$ ); il valore minimo dell'AFDW degli organismi non alimentati è di 26.31 mg e la lunghezza media delle valve è di 2.83 cm ( $L^3 = 22.67 \text{ cm}^3$ ). Con questi valori, è stato calcolato per *B. pharaonis* un  $\text{SMI}_{fed}$  di 3.20 mg AFDM/ $\text{cm}^3$  e un  $\text{SMI}_{starved}$  di 1.16 mg AFDM/ $\text{cm}^3$  (si veda paragrafo 2.3.5). Applicando infine, l'equazione (2.18) riportata nel capitolo 2, si ricava per *B. pharaonis* un  $[E_m]$  pari a 1967  $\text{J/cm}^3$ .

Per *M. minimus* il valore massimo dell'AFDW degli organismi alimentati è pari a 6.80 mg e la lunghezza media delle valve è di 1.18 cm ( $L^3 = 1.64 \text{ cm}^3$ ); il valore minimo dell'AFDW degli organismi non alimentati è di 4.25 mg e la lunghezza media delle valve è di 1.13 cm ( $L^3 = 1.44 \text{ cm}^3$ ). Questi dati hanno condotto ad un  $\text{SMI}_{fed}$  di 4.14 mg AFDM/ $\text{cm}^3$  e un  $\text{SMI}_{starved}$  di 2.95 mg AFDM/ $\text{cm}^3$  (si veda paragrafo 2.3.5). Applicando l'equazione (2.18) riportata nel capitolo 2, si ricava per *M. minimus* un  $[E_m]$  pari a 342  $\text{J/cm}^3$ .

Il valore di  $[E_m]$  per la specie *M. galloprovincialis* riportato in Sarà et al. (2011a), equivale a  $2190 \text{ J h}^{-1} \text{ cm}^{-3}$ .

**Costi delle strutture volume-specifici  $[E_G]$ .** Come per l' $[E_m]$ , anche per il calcolo dell' $[E_G]$ , ( $J\ cm^{-3}$ ) occorre il valore di SMI ma, in questo caso, è sufficiente quello degli organismi non alimentati ( $SMI_{starved}$ ), il cui valore è riportato nel paragrafo precedente. Applicando l'equazione (2.19) riportata nel capitolo 2, avremo quindi un  $[E_G]$  di  $1118\ J\ cm^{-3}$  per *B. pharaonis* e un  $[E_G]$  di  $845\ J\ cm^{-3}$  per *M. minimus*. Per *M. galloprovincialis* questo valore corrisponde a  $1900\ J\ cm^{-3}$ .

**Temperatura di Arrhenius  $T_A$ .** La stima della temperatura di Arrhenius ( $T_A$ , K) e dei limiti superiore ( $T_{AH}$ , K) ed inferiore ( $T_{AL}$ , K) di questa, si è basata sui valori del consumo di ossigeno di entrambe le specie, *B. pharaonis* e *M. minimus*, i quali sono stati applicati nell'equazione (2.16) descritta nel capitolo 2 di questo lavoro. In particolare, i tassi di respirazione utilizzati nella formula, corrispondono a quelli misurati ad una temperatura di riferimento ( $T_{ref}$ ) di  $20\ ^\circ C$  e alle temperature inferiore ( $T_L$ ) e superiore ( $T_H$ ) del *range* termico delle due specie pari, rispettivamente, a  $284\ ^\circ K$  e  $305\ ^\circ K$  per *B. pharaonis* e a  $278\ ^\circ K$  e  $301\ ^\circ K$  per *M. minimus*. Nella tabella 4.5, sono riportati i valori delle temperature sia per *B. pharaonis* e *M. minimus* che per la specie *M. galloprovincialis*, i cui valori sono stati tratti da Sarà et al. (2011a).

Tab. 4.5. Temperatura di Arrhenius, limite inferiore e superiore della temperatura di Arrhenius, temperature inferiore e superiore del *range* termico e temperatura di riferimento per le specie *B. pharaonis* e *M. minimus*.

Parametro ( $^\circ K$ )	<i>B. pharaonis</i>	<i>M. minimus</i>	<i>M. galloprovincialis</i>
$T_{ref}$ Temperatura di riferimento	293	293	293
$T_L$ Limite inferiore del <i>range</i> di tolleranza	284	278	275
$T_H$ Limite superiore del <i>range</i> di tolleranza	305	301	296
$T_A$ Temperatura di Arrhenius	8232	3425	5800
$T_{AH}$ Limite superiore della temperatura di Arrhenius	6005	1158	31376
$T_{AL}$ Limite inferiore della temperatura di Arrhenius	17957	11588	45430

Nelle figure 6.7 a e b, vengono riportati i valori del  $\ln$  dei tassi in funzione dell'inverso della temperatura in K per le due specie *B. pharaonis* e *M. minimus*.

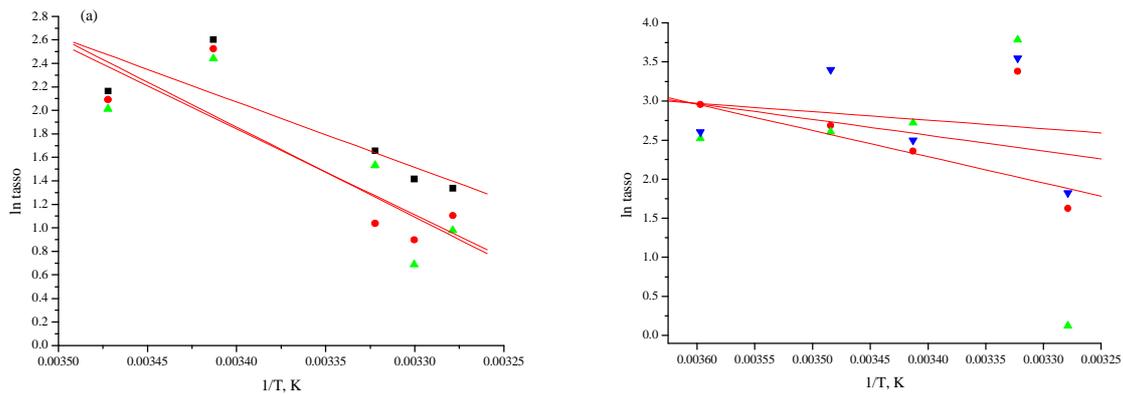


Fig. 6.7. Plot del ln del tasso per l'inverso della T in K per *B. pharaonis* (a) e *M. minimus* (b).

**Kappa  $\kappa$ .** La stima di  $\kappa$  è stata effettuata utilizzando i valori dei parametri stimati sperimentalmente e inseriti all'interno dei file Matlab, denominati pars, mydata e predict (si veda, in questo capitolo: *metodologie per la stima di kappa*), appositamente creati per *B. pharaonis* e *M. minimus* (i file pars, mydata e predict *\_Brachidontes pharaonis.m* e pars, mydata e predict *\_Mitilaster minimus.m*. sono consultabili sul sito [http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add\\_my\\_pet/index.php](http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/index.php)). In questo modo, il valore di  $\kappa$  ottenuto corrisponde a 0.9874 per *B. pharaonis* e 0.9986 per *M. minimus*. Inoltre, applicando la regola del  $\kappa$  descritta dal modello ( $\kappa$ -rule, si veda capitolo 2), è stato possibile calcolare anche la frazione di energia  $1-\kappa$  utilizzata dall'organismo per raggiungere la maturità sessuale e riprodursi. Per *B. pharaonis* questa quantità equivale a 0.0126 (differenza  $1 - 0.9874$ ), mentre per *M. minimus* corrisponde a 0.0014 (differenza  $1 - 0.9986$ ).

Nelle tabelle 4.6 e 4.7 vengono riportati i valori dei parametri di *input* (stimati sperimentalmente) e di *output* (stimati mediante Matlab), rispettivamente per *B. pharaonis* e *M. minimus*.

Per quanto riguarda la specie *M. galloprovincialis*, il valore di  $\kappa$  riportato da Sarà et al. (2011a) è di 0.7, con una conseguente differenza  $1-\kappa$  pari a 0.3.

Tab. 4.6. Parametri di input ed output ottimizzati mediante Matlab per *B. pharaonis*.

PARAMETRO	Stimati (INPUT)	Ottimizzati (OUTPUT)
ab, d, Età alla nascita	1.1	1.151
ap, d, età alla pubertà	182	193.2
Lb, cm, Lunghezza alla nascita	0.027	0.268
Lp, cm, Lunghezza alla pubertà	0.75	1.545
Li, cm, lunghezza finale	4.5	4.295
Wp, g, Peso alla pubertà	0.0841	0.07699
Wi, g, Peso finale	1.546	1.653
rB, 1/d, von Bertalanfy	0.007	0.002924
Ri, #/d, Tasso di riproduzione	1400	1410
am, d, <i>life span</i>	7167	7093
v, cm/d, conduttanza	0.02	0.02672
$\kappa$ , Energia per il soma	0.8	0.9874
[p_M], J/d.cm <sup>3</sup> , Costi di mant. Vol. Spec.	9.29	21.49
{p_T}, J/d.cm <sup>2</sup> , Mantenimento del soma	0	0
k_J, 1/d, Tasso di maturità*	0.002	0.002018
[E_G], J/cm <sup>3</sup> , Costi per le strutture	1118	2387
kap_G, Efficienza di accrescimento	0.8	0.8406

Tab. 4.7. Parametri di input ed output ottimizzati mediante Matlab per *M. minimus*.

PARAMETRO	Stimati (INPUT)	Ottimizzati (OUTPUT)
ab, d, Età alla nascita	1.1	0.861
ap, d, età alla pubertà	182	154.3
Lb, cm, Lunghezza alla nascita	0.25	0.2433
Lp, cm, Lunghezza alla pubertà	0.45	0.5655
Li, cm, lunghezza finale	2	1.846
Wp, g, Peso alla pubertà	0.015	0.01471
Wi, g, Peso finale	0.5	0.5115
rB, 1/d, von Bertalanfy	0.007	0.005373
Ri, #/d, Tasso di riproduzione	1400	1327
am, d, <i>life span</i>	7167	4190
v, cm/d, conduttanza	0.02	0.01587
$\kappa$ , Energia per il soma	0.8	0.9986
[p_M], J/d.cm <sup>3</sup> , Costi di mant. Vol. Spec.	19.10	39.61
{p_T}, J/d.cm <sup>2</sup> , Mantenimento del soma	0	0
k_J, 1/d, Tasso di maturità*	0.002	0.00179
[E_G], J/cm <sup>3</sup> , Costi per le strutture	845	2420
kap_G, Efficienza di accrescimento	0.8	0.8293

## Discussioni

Esistono in letteratura numerosi modelli energetici in grado di spiegare gli effetti delle condizioni ambientali sulla bioenergetica degli organismi (Pouvreau et al. 2006). Alcuni di questi modelli si basano sulla teoria DEB in quanto essa, fa riferimento ad alcuni concetti chiave che permettono, in funzione di una serie di parametri, di generalizzare i bilanci energetici di base per un organismo, a tutte le specie (Pouvreau et al. 2006).

Anche l'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di valutare l'efficacia del modello DEB come strumento di confronto delle *life history* e delle caratteristiche bioenergetiche di specie diverse. In particolare, ci si è occupati di catturare tali differenze, in termini di bilanci energetici, in due specie presenti nel Mediterraneo, il bivalve invasivo *Brachidontes pharaonis* e quello autoctono *Mytilaster minimus*. Inoltre, un obiettivo è stato quello di confrontare i parametri energetici delle nostre specie *target*, con i parametri energetici stimati per la specie *Mytilus galloprovincialis* riportati in Sarà et al. (2012).

La scelta di questi bivalvi come oggetto di studio, è stata dettata sia da alcune caratteristiche morfologiche peculiari, come ad esempio il fatto di essere organismi sessili e ubiquitari in gran parte delle coste Mediterranee (proprietà che hanno semplificato la fase di campionamento e di mantenimento in laboratorio), sia perché essi svolgono un ruolo ecologico cruciale modificando e strutturando l'habitat naturale in cui vivono (Gutierrez et al. 2003), anche a favore di nuove specie (Jones et al. 1997). Inoltre, tali organismi rappresentano una vera e propria "memoria biologica", in grado di registrare informazioni, più o meno importanti, sulla variabilità indotta dai fattori antropici all'habitat in cui vivono.

Nello scenario attuale di continui cambiamenti, risulta quindi necessario capire se e come tali modifiche, possono influenzare il funzionamento, la presenza e la stabilità di queste specie.

**Stima dei parametri e dati sperimentali.** Il confronto delle caratteristiche bioenergetiche delle due specie è stato effettuato combinando i principi fondamentali descritti dalla teoria DEB (e.g., concetto di riserve, omeostasi e mantenimento delle strutture), con le tecniche di laboratorio per la misura dei principali tassi fisiologici degli organismi note allo SFG. L'applicazione di questi due approcci è stata adottata al

fine di fornire uno strumento semplificato ed accurato per l'analisi dei tratti energetici dei bivalvi marini.

Dall'analisi dei risultati, descritti nel capitolo 4, in merito ai parametri DEB stimati per *B. pharaonis* e *M. minimus* e tratti dalla letteratura per *M. galloprovincialis*, scaturiscono le riflessioni riportate di seguito.

**Coefficiente di forma ( $\delta m$ ).** Per quanto riguarda il coefficiente di forma ( $\delta m$ ), entrambe le specie mostrano un valore di questo parametro dello stesso ordine di grandezza. Lo stesso avviene con il valore di  $\delta m$  riportato per *M. galloprovincialis*. Dal momento che, come descritto dal modello DEB il  $\delta m$  può essere calcolato in funzione della lunghezza e del peso degli organismi, negli isomorfi, cioè gli organismi che mantengono la stessa forma durante tutte le fasi vitali (come è possibile assumere anche nei bivalvi; Koojiman pers. com.), questa relazione si mantiene costante, determinando un valore simile del  $\delta m$  nelle specie affini. La stima di questo parametro è risultata fondamentale per l'analisi degli altri parametri DEB che dipendono in qualche modo dalla forma dell'organismo (in termini di superficie e volume strutturale). Come vedremo nelle sezioni seguenti, alcuni parametri, come ad esempio il massimo tasso di ingestione e i costi di mantenimento, vengono stimati, rispettivamente, in funzione della superficie e del volume degli organismi. Per tale ragione, anche differenze minime del valore di  $\delta m$  delle specie oggetto di studio, possono spiegare la relazione esistente tra le dimensioni corporee di un organismo ed i parametri energetici che inglobano tale valore.

**Massimo tasso di ingestione  $\{J'_{xm}\}$ .** La curva descritta dal parametro  $\{J'_{xm}\}$  si adatta bene alla descrizione del tasso di filtrazione dei bivalvi in funzione della quantità di cibo e della superficie. In questo caso, viene evidenziato come, a parità di quantità e qualità di cibo somministrato durante gli esperimenti (CHL-a sotto forma di colture fitoplanctoniche di *I. galbana*), il valore di  $\{J'_{xm}\}$  nelle tre specie segue un andamento del tipo *M. minimus* > *B. pharaonis* > *M. galloprovincialis*. Anche se, i bivalvi sono organismi filtratori che si adattano alle differenti tipologie di materia organica disponibili (Sarà, 2006; 2007), Pouvreau et al. (2006) hanno dimostrato che le colture fitoplanctoniche pure (espresse come CHL-a), rappresentano la tipologia di cibo migliore per la stima dei parametri DEB nei bivalvi. Inoltre, la maggior parte degli

esperimenti di bioenergetica presenti in letteratura, considerano il fitoplancton una fonte di cibo attendibile per calcolare le risposte teoriche di questi organismi alle varie condizioni naturali (Widdows e Staff, 2006; Sarà et al. 2008; Ezgeta-Balic et al. 2010). Questo elemento, si è rivelato vantaggioso per l'applicazione dei parametri stimati sperimentalmente, nelle simulazioni effettuate con concentrazioni reali di CHL-a.

Al contrario di quanto avviene per il  $\{J_{x_m}\}$ , i valori della superficie (calcolati in funzione della lunghezza volumetrica e del coefficiente di forma, rispecchiano l'andamento  $M. minimus < B. pharaonis < M. galloprovincialis$ , sottolineando la proporzionalità inversa del tasso di ingestione dalla superficie. Ciò sta ad indicare che la specie  $M. minimus$  sfrutta a proprio vantaggio le dimensioni inferiori, per mantenere comunque elevato il tasso di ingestione.

**Costi di mantenimento [p`M].** La stima del [p`M] è cruciale nel modello DEB in quanto permette di avere una misura diretta di come viene gestita l'energia immagazzinata da un organismo, in condizioni di riserve zero, prima che sopraggiunga la morte. Per poter affrontare eventuali condizioni di stress che si possono verificare in natura (e.g., carenza di cibo, estremizzazione della variabilità ambientale), gli organismi hanno sviluppato un meccanismo di immagazzinamento e riutilizzo delle riserve energetiche, che permette loro di sopravvivere a lunghi periodi di digiuno e di stress in generale. Sulla base di queste considerazioni, è stato dimostrato che il valore di questo parametro, può essere indicativo di una maggiore o minore abilità di sopravvivenza di una data specie (Freitas et al. 2011). Avere dei costi di mantenimento per unità di volume inferiori infatti, è per un organismo la caratteristica chiave nella competizione per le risorse, per lo spazio e per il mantenimento della popolazione nel tempo, attraverso la riproduzione.

Nel caso specifico delle specie trattate in questo lavoro di tesi, il valore di [p`M] è risultato di molto inferiore (meno della metà) per la specie  $B. pharaonis$  rispetto alla specie  $M. minimus$ . Quindi, se come abbiamo detto, questo parametro indica i costi necessari ad un organismo per sopravvivere, la grande differenza nei valori ottenuti può spiegare perchè  $B. pharaonis$  venga citato dalla letteratura corrente come la prima specie Indo-pacifica invasiva (Sarà et al. 2000; 2006) e tra le prime 100 più aggressive. Sebbene esso appartenga alla Famiglia dei mitili, come il bivalve autoctono  $M. minimus$ , a differenza di questo ultimo,  $B. pharaonis$  mette in atto una strategia

specifica, riassumibile in una minore quantità di energia necessaria per sopravvivere, che risulta essere il processo chiave della sua grande abilità adattativa. Infatti, gli organismi di *B. pharaonis* colonizzano con successo svariati ambienti mediterranei e si stabiliscono in nuove comunità formando popolazioni stabili (Sarà et al. 2000). Questa capacità è supportata dall'elevata plasticità fisiologica che contraddistingue la specie, in grado di modulare le proprie prestazioni fisiologiche anche in ambienti altamente variabili come l'intertidale (Sarà e De Pirro, 2011).

Tutte queste caratteristiche lo rendono il miglior candidato nella competizione con le specie autoctone mediterranee, come *M. minimus* (Sarà et al. 2011a) e come vedremo in seguito, queste strategie danno un vantaggio competitivo a *B. pharaonis* nel colonizzare il Mediterraneo centro-occidentale (Cap. 5).

Sebbene quanto detto possa valere in un confronto tra specie a scala mediterranea, anche a scala più ampia si può affermare che la capacità adattativa e di colonizzazione di una specie è strettamente legata alla gestione delle risorse energetiche. Infatti, il valore di  $[p'M]$  di *M. galloprovincialis*, che è considerata una specie invasiva di gran parte del globo (Bownes e McQuaid, 2006; Braby e Somero, 2006; McQuaid e Phillips, 2000), è inferiore rispetto ad entrambe le specie discusse sopra.

**Densità massima di immagazzinamento  $[E_m]$  e costi delle strutture  $[E_G]$ .** La densità massima di immagazzinamento  $[E_m]$  e i costi delle strutture  $[E_G]$  hanno mostrato valori paragonabili tra le specie *B. pharaonis* e *M. galloprovincialis*, e maggiori rispetto alla specie *M. minimus*. Dal momento che questi parametri sono legati alla complessità della cellula (Kooijman, 2000), questi risultati suggeriscono che, sebbene le specie considerate appartengano alla stessa famiglia, si assiste ad una differenza sostanziale tra le due specie definite invasive *B. pharaonis* e *M. galloprovincialis* (i cui valori di  $[E_m]$  e  $[E_G]$  si attestano tra 1000 e 2200 J cm<sup>-3</sup>), rispetto alla specie autoctona *M. minimus* (i cui valori di  $[E_m]$  e  $[E_G]$  rimangono al di sotto della soglia di 1000 J cm<sup>-3</sup>). Ciò evidenzia la possibilità dell'esistenza di differenze intrinseche nella gestione delle risorse energetiche, probabilmente dettate dal corredo genetico specifico di ogni individuo.

**Temperature di Arrhenius.** La temperatura è una delle variabili ambientali più importanti per gli ectotermi. Essa regola le reazioni metaboliche di questi organismi, e

determina i limiti termici superiore ed inferiore della loro nicchia. In un contesto di cambiamenti globali quindi, potrebbe diventare indispensabile poter conoscere, *a priori*, quali specie saranno maggiormente in grado di adattarsi all'innalzamento della temperatura (Helmuth, 1998). Questo traguardo può essere raggiunto combinando l'utilizzo di modelli bioenergetici (come il modello DEB) e meccanicistici, che sono in grado di coniugare la *fitness* di una specie, con gli scenari futuri di temperatura.

In particolare, la temperatura di Arrhenius ( $T_A$ ) ed i suoi limiti superiore ( $T_{AH}$ ) ed inferiore ( $T_{AL}$ ), sono quei parametri che mettono in evidenza il *range* termico all'interno del quale i tassi metabolici di un organismo funzionano al meglio. Dalla relazione tra il logaritmo naturale del tasso di consumo di ossigeno e l'inverso della  $T_A$ , riportati in fig. 6.7 a e 6.7 b, si nota come la finestra termica di funzionamento metabolico sia più ampia per la specie *B. pharaonis* rispetto alla specie *M. minimus*. Infatti, per il bivalve lessepsiano, i valori di  $T_A$ ,  $T_{AH}$  e  $T_{AL}$  sono maggiori rispetto ai valori degli stessi in *M. minimus*. Anche in questo caso quindi, *B. pharaonis* risulta la specie fisiologicamente più plastica; essa, infatti, potrebbe essere in grado di far funzionare correttamente i processi metabolici principali anche in un contesto di innalzamento delle temperature ambientali dovute a variabilità indotta da *climate change* (Duarte, 2007).

Ciò sarebbe un'ulteriore prova della strategia più vantaggiosa messa in atto da *B. pharaonis* che, essendo una specie tropicale diffusa in tutto il mondo, potrebbe svolgere un ruolo chiave nella distribuzione attuale e futura delle specie nel Mar Mediterraneo, anche a scapito della specie autoctona *M. minimus*.

Confrontando invece i valori dei limiti superiore ed inferiore delle temperature di Arrhenius di *B. pharaonis* e *M. minimus* con *M. galloprovincialis*, anche in questo caso quest'ultimo mostra dei valori più alti di questi parametri, avallando l'ipotesi che sia questo il fattore chiave della colonizzazione di questa specie in gran parte del mondo, dalle coste del Sud Africa (McQuaid e Phillips, 2000) a quelle della California (Braby e Somero, 2006).

**Energia per il soma ( $\kappa$ ).** La stima del valore di  $\kappa$  è stata effettuata mediante l'utilizzo di *routine* Matlab (si veda 6.6). Attraverso questo parametro, che secondo la nota  *$\kappa$ -rule* (Kooijma, 1986a) rappresenta **la quantità di energia che un organismo utilizza per il mantenimento delle strutture e per accrescersi**, è possibile anche calcolare la

frazione di energia  $1-\kappa$  che rappresenta quella frazione rimanente che sarà allocata alla riproduzione.

Nel caso delle specie oggetto di studio, il valore di  $\kappa$  è risultato di poco inferiore per *B. pharaonis* rispetto a *M. minimus*, mentre per *M. galloprovincialis*, il valore di questo parametro è più basso rispetto alle altre due specie di circa 0.3.

Anche in questo caso, i risultati confermano il maggiore successo di *B. pharaonis* rispetto a *M. minimus* e di *M. galloprovincialis* nei confronti di entrambe le specie. Con un valore di  $\kappa$  più basso, infatti, un organismo avrà a disposizione una maggiore quantità di energia da potere allocare alla riproduzione ( $1-\kappa$ ). Questo, è il presupposto fondamentale per garantire il successo riproduttivo di una specie rispetto ad un competitore. Tuttavia, probabilmente la quantità di energia destinata allo sviluppo e alla riproduzione non è la sola che svolge un ruolo importante ma, anche la qualità di energia disponibile nell'ambiente (Pouvreau et al. 2006). Ciò amplifica l'interesse degli studiosi al comportamento energetico di un organismo in funzione delle principali variabili ambientali.

**Conclusioni.** L'obiettivo di questo capitolo è stato quello di fornire uno strumento più semplice per la stima dell'energia immagazzinata e utilizzata dagli organismi, per il funzionamento dei principali processi vitali (crescita, mantenimento e riproduzione). Per farlo, è stato necessario combinare gli aspetti matematici e teorici del modello DEB, con l'approccio pratico delle tecniche di misurazione dei tassi fisiologici descritte nel modello SFG. In questo modo, è stato possibile calcolare sia per *B. pharaonis* che per *M. minimus* tutti i termini energetici fondamentali descritti dalla teoria DEB.

Sulla base dei parametri DEB stimati attraverso la misura dei tassi fisiologici per *B. pharaonis* e *M. minimus*, è possibile affermare che in generale *B. pharaonis* mostra una maggiore plasticità fisiologica ed una migliore strategia di sfruttamento ed allocazione delle risorse energetiche.

Attraverso i risultati riportati in questo capitolo è possibile confermare che, anche se esiste la difficoltà nel combinare la stima sperimentale dei parametri con il modello DEB, a causa delle intra ed inter-specifiche variazioni dei tassi fisiologici, è evidente la capacità del modello DEB come strumento di confronto dei tratti energetici di specie diverse.

Questo elemento, è stato confermato anche dalla possibilità di confrontare le caratteristiche energetiche di organismi trattati secondo l'approccio sperimentale descritto, con dati provenienti dalla letteratura come nel caso di *M. galloprovincialis* (Sarà et al. 2012; Saraiva et al. 2011).

## CAPITOLO 5

### **Simulazione del modello DEB: la mappa delle distribuzioni dei bivalvi delle coste rocciose nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale**

#### **Razionale**

**La *fitness* dei tre bivalvi delle coste italiane: la modellizzazione dei tratti con il DEB tra il 2006 ed il 2009.** Come detto ed illustrato in molte occasioni in questa tesi, la temperatura somatica (*body temperature* BT) è una variabile fondamentale, insieme alla quantità di cibo, nel determinare l'entità dei tratti delle *life history* degli organismi ectotermi. Qui di seguito si riporta un esercizio di modellizzazione DEB effettuato sui bivalvi *Mytilaster minimus* e *Brachidontes pharaonis*, i cui parametri DEB sono stati calcolati con il lavoro di questa tesi. In particolare questo esercizio vuole rispondere ad alcune domande importanti da un punto di vista ecologico, ossia: i) come si sovrappone l'areale di questi bivalvi in Mediterraneo? ii) La specie invasiva, *B. pharaonis* possiede "porte preferenziali" di entrata per il bacino occidentale? iii) Quali sono i fattori più importanti nel determinare il potenziale invasivo di questa specie, la temperatura o il cibo? iv) E' possibile prevedere l'espansione di questa specie sulle coste italiane al variare delle condizioni trofiche?

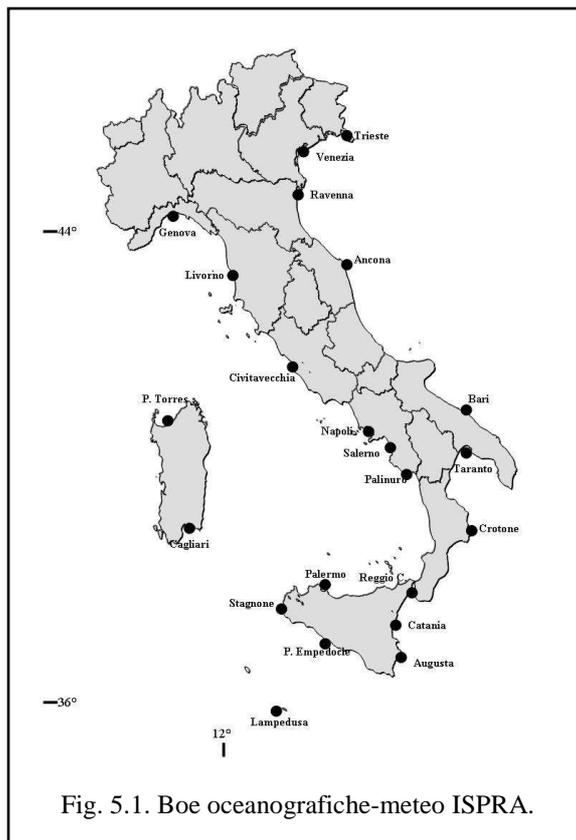
Per rispondere a queste domande e per porle su larga scala, è necessario quindi **misurare** la *fitness* delle specie; essa in questa tesi è espressa come numero di uova e di eventi riproduttivi **potenzialmente ottenibili** in ciascuna località in un ciclo di vita di quattro anni (2006-2009).

La *fitness* delle due specie oggetto di questa tesi sarà confrontata con quella del *Mytilus galloprovincialis*, ossia con quella del mitile edule, specie mediterranea diffusa sulle coste italiane e allevata in molti siti. In questo caso, i parametri DEB standard sono stati ottenuti da Saraiva et al. (2011) e già applicati in Sarà et al. (2012).

## Materiali e metodi

Le simulazioni sono state effettuate a partire da variabili ambientali fondamentali come la temperatura dell'acqua, che si assume rispecchi la temperatura somatica negli organismi ectotermi e la concentrazione di clorofilla in sospensione. La prima variabile è stata ottenuta dai *dataset* provenienti dalle boe oceanografiche-meteo mantenute dall'ISPRA (<http://www.mareografico.it/>) in molte località italiane (Fig. 5.1).

In particolare, le simulazioni sono state effettuate su una base quadriennale, periodo che meglio rappresenta il normale ciclo vitale di un bivalve (Gosling, 1992), usando la serie quadriennale oraria di temperatura dell'acqua ISPRA 2006-2009. In questa tesi, si riportano anche le simulazioni effettuate con le variabili ambientali di siti non italiani, come Gabes (Tunisia), Dubrovnik e Spalato (Croatia) (non riportati in mappa). Inoltre, si riportano anche i risultati relativi alle serie termiche delle due centrali elettriche costiere di Augusta (SR) e Termini Imerese (PA) che, si suppone siano stati



i punti di ingresso della specie invasiva *Brachidontes pharaonis* nel Bacino occidentale del Mediterraneo. Le serie termiche in questo caso sono state ottenute sommando + 5°C alla serie termica della boa ISPRA più vicina: Palermo nel caso di Termini Imerese e Catania nel caso di Augusta. Con esse si riportano anche le simulazioni effettuate per lo Stagnone di Marsala. In questo caso, le serie termiche derivano da serie orarie di temperatura ottenute con termometri (i-Button, AlphaMAc Inc., Canada), posti in quella area dal 2009 al 2010 (Rinaldi, 2011; Sarà et al. submitted).

La concentrazione di clorofilla, che in questa tesi si assume esprima la concentrazione di cibo per i bivalvi subtidali (*sensu* Dame, 1996; Pouvreau et al. 2006; Sarà et al. 2012), è stata ottenuta dal database satellitare MODIS, mantenuto sul sito EMIS

(<http://emis.jrc.ec.europa.eu>). In questo caso, le simulazioni sono state condotte con le concentrazioni mensili medie di ogni località scelta (si veda mappa) stimate per il periodo 1998-2007. Per lo Stagnone la concentrazione di clorofilla è bi-mensile ed è quella riportata in Sarà et al. (2000).

I parametri degli animali standard in base ai quali è stato possibile far girare i modelli, sono riportati nella precedente sezione dei risultati (si veda CAP. 4). L'*output* delle simulazioni è:

1. lunghezza totale massima raggiungibile al quarto anno;
2. peso totale massimo raggiungibile al quarto anno;
3. numero di uova per grammo di peso secco;
4. numero di eventi riproduttivi nel quadriennio;
5. tempo in giorni per raggiungere la maturazione puberale.

**Validazione dei risultati.** Per quanto riguarda la validazione dei dati delle specie *Mytilaster minimus* (le tecniche di validazione età-dimensione riportate sotto per la specie invasiva non sono applicabili al *Mytilaster* in quanto troppo piccolo da maneggiare; si veda di seguito) e *Mytilus galloprovincialis*, essa è stata effettuata mediante una analisi della letteratura, che ha permesso di raccogliere i dati inerenti le variabili principali utilizzate per le simulazioni.

I criteri del processo di raccolta del dato dalla letteratura devono basarsi su scelte scientifiche che mirino alla scelta di *dataset* affidabili. Nella presente tesi la ricerca bibliografica necessaria per la validazione dei risultati di *Mytilaster* e *Mytilus*, è stata condotta sui *database* elettronici di maggiore diffusione su Internet come ASFA, Web of Science, SCOPUS, Biological Sciences, Biology Digest, BioOne, Biotechnology and Bioengineering abstracts, Conference paper index, Environmental science and Pollution Mgmt, LISA, Oceanic abstract, Plant science, Safety Science and Risk, Tog-line, in modo da non escludere alcun articolo potenzialmente utile all'analisi. L'accesso a questi *database* è stato effettuato attraverso le banche dati della "Cambridge Science Collection" del server UNIPA e dell'University of Manitoba (Canada).

Per la specie *Brachidontes pharaonis*, la validazione dei dati è stata, invece effettuata in laboratorio secondo le procedure descritte nelle sezioni seguenti.

**Area di studio.** I molluschi sperimentali sono stati raccolti dalla vasca di fredda della salina “Ettore” di Marsala (TP, Sicilia Occidentale; Fig. 5.2). La vasca di “fridda” è così denominata in quanto mantiene le comunicazioni dirette con il mare attraverso una “portedda” che garantisce il ricircolo della massa d’acqua all’interno della vasca. Poche vasche di fredda delle Saline del trapanese e del marsalese sono state oggetto di studi descrittivi che hanno riguardato sia le loro caratteristiche fisico-chimiche e trofiche (Calvo et al. 1982; Genchi et al. 1982), sia la flora e la fauna bentonica (Cicciari et al. 1996; Sarà et al. 2000). La profondità delle vasche può variare dai 40 ai 120 cm ed il fondale è in genere di natura fango-sabbiosa. Le variabili ambientali sono caratterizzate da ampie oscillazioni tipiche degli ambienti lagunari e dei bacini di limitata cubatura, e bassa profondità. La colonna d’acqua, presente all’interno della “fridda”, è caratterizzata da una temperatura che rispecchia le medie stagionali dello specchio d’acqua antistante al sistema della salina presa in esame, ma presenta una salinità superiore ai valori medi, dovuta al maggiore tasso di evaporazione proprio della vasca, fenomeno, questo, che eleva la concentrazione a valori di ~ 40 ‰. Nell’arco dell’anno, infatti la salinità può variare da valori di 36 a 50 ‰ e la temperatura da 8 a 30 °C.



Fig. 5.2. Area di studio.

Lungo le sponde della vasca, costituite da muretti di tufo, troviamo una fauna e una flora caratteristiche degli ambienti “intertidali” marini, con una grande abbondanza di *B. pharaonis*, la specie lessepsiana non indigena, appartenente alla famiglia *Mitilidae*, e oggetto d’indagine della presente tesi.

Le “fredde” ospitano una comunità a spiccata tendenza eurialina, dominata da una fanerogama dall’ampio spettro di distribuzione, *Ruppia maritima*, che si trova in genere nelle zone più riparate; nelle aree più vicine alle bocche di entrata dell’acqua di mare

invece, non è raro trovare *Cymodocea nodosa*. I substrati duri, costituiti dai blocchi di tufo che delimitano le vasche, sono colonizzati dai feltri della cloroficea *Cladophora laetevirens*, dai talli di alghe brune fotofile e termofile come *Padina pavonica* e *Acetabularia acetabulum*. Quest'ultima, assume un colore rosso intenso in coincidenza con i periodi di massima insolazione. Fra i vertebrati predatori, i più importanti sono la spigola, *Dicentrarchus labrax*, e l'orata, *Sparus aurata*. Ad essi si affiancano i detritivori, *Mugil saliens*, *Liza ramada*, *L. aurata*, e specie planctivore come il latterino *Atherina boyeri*, e il nono, *Aphanius fasciatus*, capace di invadere anche le vasche successive fino alla vasca ruffiana con elevate salinità, alimentandosi di residui organici e di piccoli crostacei. La comunità ad invertebrati del benthos è costituita da popolamenti paucispecifici dei bivalvi *Cerastoderma glaucum*, *Abra ovata*, del gasteropode *Pirenella conica*, e di pochi altri molluschi di rinvenimento occasionale. Inoltre, nella vasca osservata viene anche praticata l'acquacoltura di specie ittiche ad elevato pregio commerciale, come le orate (*Sparus aurata*), con l'utilizzo di tecniche che seguono la metodologia dell'acquacoltura estensiva *inshore*. Nelle Saline di Trapani e Marsala l'acquacoltura estensiva, quando praticata, costituisce solo una forma di integrazione del reddito degli addetti all'attività di salicoltura ed è stata, fino ad ora, oggetto di pochi studi finalizzati a proporre eventuali politiche di sviluppo sostenibile e rilancio del territorio.

**Metodologie di laboratorio.** Per studiare la dinamica di popolazione del *B. pharaonis* sono stati effettuati due campionamenti nei periodi primaverili (i.e., tra marzo e maggio) del 2009 e del 2010. Il bivalve lessepsiano colonizza ampiamente tutti i substrati duri artificiali e non dell'invaso, raggiungendo densità superiori a mille individui per metro quadrato (Sarà et al. 2008). Tutti gli individui sono stati prelevati manualmente attraverso l'utilizzo della tecnica del grattaggio. La tecnica consta dell'utilizzo di un quadrato di lato 20 cm (per una superficie di campionamento di 400 cm<sup>2</sup>), all'interno del quale vengono prelevati mediante una spatola tutti gli individui presenti. All'interno dell'invaso sono stati raccolti tutti gli individui contenuti, in media 15 repliche di quadrati sia nel 2009 che nel 2010. In entrambi i campionamenti i bivalvi sono stati trasportati all'interno di un contenitore termico, avvolti in un panno umido, nel laboratorio di Ecologia Sperimentale e del Comportamento (Università degli Studi di

Palermo), dove si è proceduto con la conservazione a lungo termine, congelando gli animali ad una temperatura di  $-20^{\circ}$  C. Successivamente i campioni sono stati ripuliti dagli epibionti presenti sulle valve e dal bisso, inoltre è stato contato il numero totale di organismi presenti in ogni quadrato, al fine di stabilire la densità (al  $m^2$ ) della popolazione di *B. pharaonis* degli anni 2009 e 2010. Si è quindi proceduto con le misure biometriche e gravimetriche; per ogni individuo sono state misurate le seguenti variabili:

- lunghezza totale (LT, cm);
- spessore totale (SPT, cm);
- peso totale (PT, g).

Le misure di lunghezza, e dello spessore sono state effettuate tramite un calibro a corsoio digitale (Kanon EMA,  $\pm 0.01$  mm; Fig. 5.3). Questo è un tipo di calibro costituito da un regolo graduato realizzato in due parti, che scorrono assialmente tra loro, e dotato di appendici (becchi, aste) che servono da *battuta* per le quote da misurare. Diversamente dai comuni calibri a corsoio, in quello digitale viene montato un indicatore elettronico digitale che ne rileva lo spostamento, mentre sul corpo viene normalmente incisa una scala millimetrata, usata solo per la verifica grossolana.



Fig. 5.3. Calibro digitale (Kanon EMA,  $\pm 0.01$  mm).

Le misure del peso totale, sono state effettuate attraverso una bilancia elettronica (Sartorius BL 120s; Fig. 5.4) con una sensibilità di  $\pm 0.0001$  g.

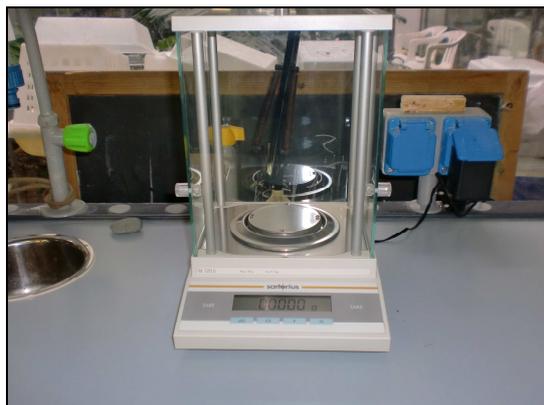


Fig. 5.4. Bilancia elettronica (Sartorius BL 120s).

Dopo aver misurato le variabili biometriche e gravimetriche gli organismi sono stati divisi, in funzione della lunghezza totale, nelle 14 classi di taglia riportate in tabella 5.1 (Sarà, 1994).

Tab. 5.1. Classi di taglia

Classe di taglia	Dimensione CTL (cm)
1	0 - 0.29
2	0.3 - 0.59
3	0.6 - 0.89
4	0.9 - 1.19
5	1.20 - 1.49
6	1.50 - 1.79
7	1.8 - 2.09
8	2.1 - 2.39
9	2.4 - 2.69
10	2.7 - 2.99
11	3.0 - 3.29
12	3.3 - 3.59
13	3.6 - 3.89
14	3.9 - 4.19

Successivamente, si è proceduto con la stima dell'età degli individui campionati. Sono stati scelti casualmente 21 individui per ogni classe di taglia, per ognuno dei due anni di campionamento, su questi individui è stata praticata una sezione longitudinale della valva partendo dall'umbone. Per far ciò è stato utilizzato un multiutensile elettrico (Dremel Inc.; Fig 5.5) con una lama di spessore 0.36 mm; per evitare che la valva durante il taglio si rompesse, si è preferito includere le valve in paraffina.

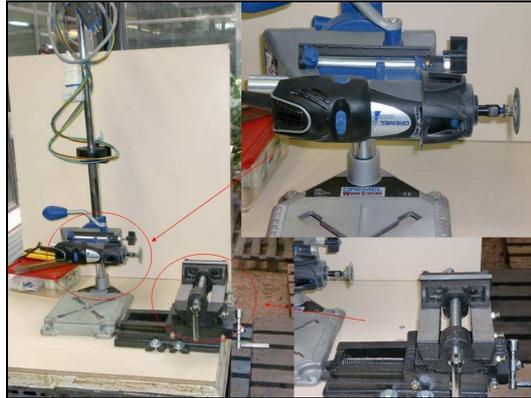


Fig 5.5. Multiutensile Dremel 300.

Una volta sezionate le valve, si è proceduto con la lettura dell'età, in accordo con McDonald e Thomas (1980), quindi, sono stati letti ed interpretati gli anelli di crescita che appaiono sulla superficie della valva (Newcombe, 1935; Stevenson e Dickie, 1954; Cerrato, 2000; Fig. 5.6).

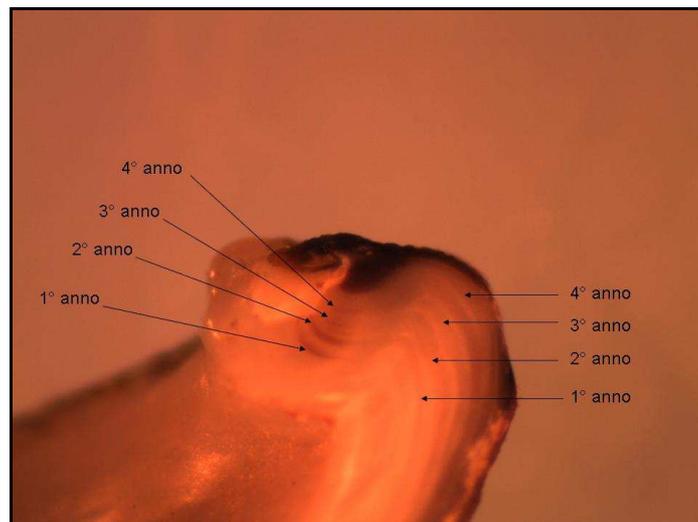


Fig. 5.6. Sezione della valva e determinazione dell'età.

**Analisi statistica.** Per rispondere alle domande poste, a seconda del tipo di dato utilizzato nel presente studio, sono state applicate differenti tipologie di analisi statistiche. In particolare, è stata utilizzata l'Analisi della Varianza (ANOVA) con disegni misti che ha previsto fattori fissi e *random*. L'omogeneità delle varianze è stata testata, prima di effettuare l'ANOVA, con il test C di Cochran mentre i dati, quando necessario, sono stati trasformati ( $\log x+1$ ). Il test di Student-Newman-Keulls è stato

usato *a posteriori* per testare le differenze tra le medie. GMAV 5.0 è stato usato per effettuare l'analisi della varianza. Inoltre laddove non era ammissibile un disegno ANOVA, è stato utilizzato il t-Student per effettuare i confronti a coppia mentre, in alcuni casi, per avere uno sguardo complessivo, si è proceduto con l'applicazione di un approccio multivariato tramite analisi della varianza con permutazioni (PERMANOVA). Le PERMANOVA sono state condotte sulle matrici di similarità euclidee trasformate con  $\log(x+1)$ ; l'analisi è stata condotta con 9999 permutazioni. L'analisi MDS ha permesso lo studio della distribuzione dei cluster (Anderson, 2001) e la valutazione grafica delle differenze, formalmente verificate con PERMANOVA. Il *software* PRIMER, in licenza all'Università di Palermo, è stato utilizzato per eseguire queste analisi. In alcuni casi necessari, i dati sono stati analizzati con la tecnica delle regressioni lineari seguendo il modello semplice  $Y = a + b * X$  (Sokal e Rohlf, 1981). Le lunghezze massime e gli altri tratti ottenuti dalle simulazioni, non sono state confrontate tra loro in quanto, provenendo da un modello e non essendo stimate da un campionamento, si considerano differenti (Mike Kearney, pers. com).

## **Risultati e discussioni**

La prima fase di questo esercizio di modellizzazione DEB, ha previsto lo studio dei *pattern* di temperatura in acqua di mare: essa rappresenta l'habitat termico degli organismi ectotermi immersi e ne determina l'entità delle risposte eco-fisiologiche. Nella seconda fase, si rappresenterà il *pattern* delle concentrazioni di cibo disponibile per i molluschi bivalvi.

In figura 5.7 (a) quindi, si riportano le temperature medie del periodo con cui è stata effettuata la simulazione. Le temperature medie sono rappresentative, per ogni località, di un periodo composto da un *dataset* di 24 ore x 365 giorni x 4 anni (2006-2009), che equivalgono a circa 33000-36000 ore. E' possibile notare, con il supporto della figura successiva (Fig. 5.7 b), che i valori di temperatura decrescono significativamente con la latitudine (ANOVA  $p < 0.05$ ; ma si veda anche la regressione riportata nel grafico), sino ad arrivare ai minimi termici medi mediterranei che si verificano, come noto, dell'alto Adriatico. Le centrali termiche, e soprattutto quella della Sicilia occidentale di Termini Imprese (centrale Enel di Capo Tifeo, "Ettore Maiorana"), rappresenta l'*outlier* della

serie; la regressione è stata simulata anche senza questo valore. Essendo noto che i valori medi di temperatura sono poco rappresentativi nel descrivere la relazione tra processi ecologici e fluttuazioni termiche degli habitat (Sarà et al. submitted), nella figura 5.8 si riporta il *pattern* degli errori standard (usato come indicatore di varianza locale), per mostrare come le località si distinguano, per prima cosa, in base alla variabilità degli strati superficiali delle loro colonne d'acqua. E' possibile notare infatti che le località presentano fluttuazioni in termini di varianza di anche oltre il 35% (e.g., confronto tra Augusta e Trieste; F-test  $p < 0.05$ ). La varianza cresce con la latitudine, ad indicare come l'escursione termica su base annuale sia maggiore nelle località settentrionali, soprattutto adriatiche, rispetto a quelle in acque meridionali.

La quantità di cibo espressa dalla clorofilla in sospensione (Fig. 5.9) non varia generalmente in modo significativo tra le località, a parte alcuni *spike* primari (ANOVA,  $p < 0.05$ ) rinvenuti a Trieste, Ravenna, nel Golfo di Gabes in Tunisia meridionale, Livorno e nelle acque dello Stagnone di Marsala (i cui valori, si ricorda, sono spettrofotometrici tratti da Sarà et al. [2000] e non satellitari cioè scaricati da EMIS). *Spike* secondari, vicini alla soglia significativa di probabilità statistica di 0.05, sono Livorno, Bari, Augusta e Salerno. Se, per quanto riguardava la temperatura era possibile evidenziare un gradiente latitudinale, in questo caso la possibile esistenza di tale gradiente è certamente mascherato dalle condizioni locali di eutrofia, generate dall'impatto locale (*sensu* Sarà et al. 2011b). Per esempio, le intense attività antropiche fanno del Golfo di Gabes l'area mediterranea, insieme alle zone costiere egiziane prospicienti il delta del Nilo e il Golfo di Trieste, a maggior impatto umano, fatto che si traduce in concentrazioni di clorofilla estremamente elevate per gli standard mediterranei (in media oltre i  $7 \mu\text{g l}^{-1}$ ), che rappresentano il *driver* potenziale fondamentale per le invasioni lessepsiane in Mediterraneo occidentale.

In conclusione, in figura 5.10 si riportano i valori medi di temperatura e clorofilla, provenienti dalle serie temporali usate nelle simulazioni, da cui si evince che il Nord Adriatico presenta i valori più elevati di cibo a fronte delle temperature medie più basse, mentre il Sud Tirreno (Stagnone incluso) presenta le concentrazioni di cibo più elevate a fronte dei valori di temperatura medi più elevati. Se escludiamo però lo Stagnone dal Basso Tirreno, quest'area diventa estremamente povera in cibo, così come le aree dello

Stretto di Sicilia che sono caratterizzate da una forte oligotrofia (e.g., Lampedusa e P. Empedocle).

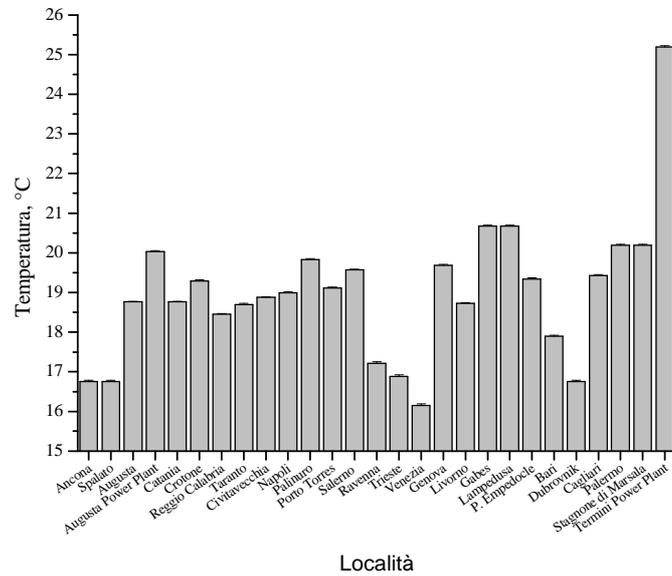


Fig. 5.7-a. Valori medi annuali di temperatura dell'acqua nel periodo 2006-2009 ( $\pm$  es), nelle località scelte per la simulazione.

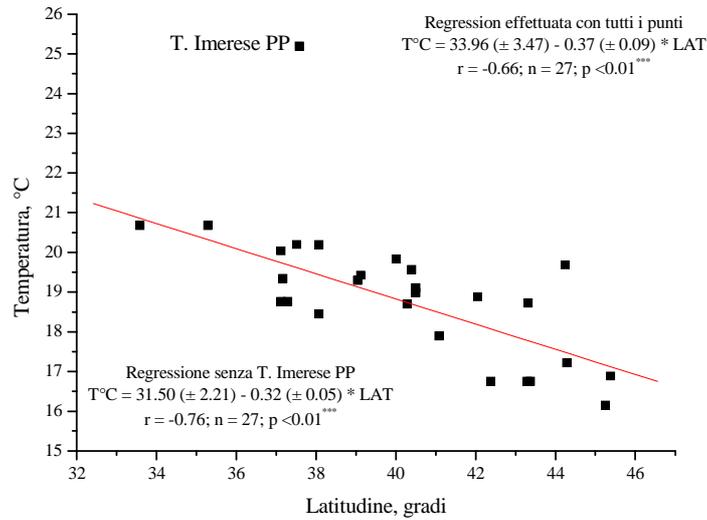


Fig. 5.7-b. Pattern latitudinale della temperatura media annuale della acqua di mare (PP = Centrale Elettrica).

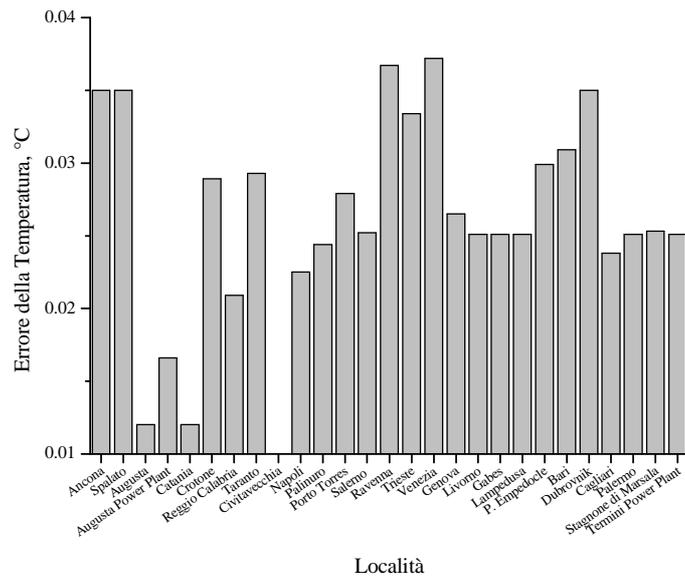


Fig. 5.8. Errori standard delle medie annuali di temperatura dell'acqua di mare nel periodo 2006-2009 nelle località scelte per la simulazione.

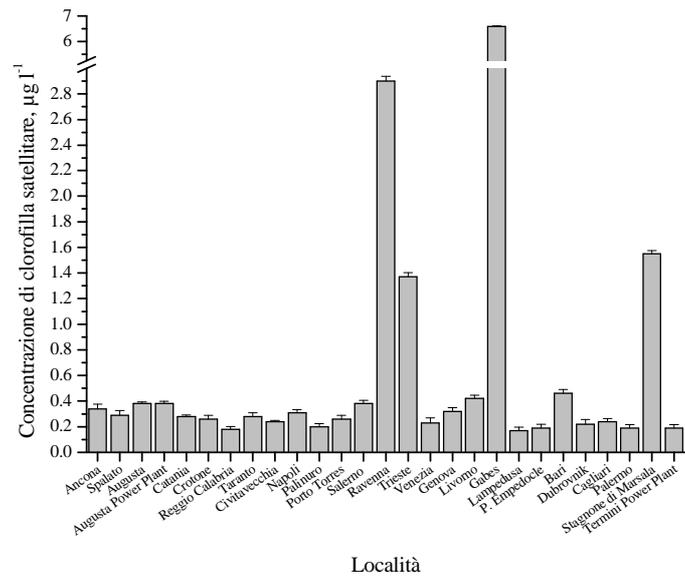


Fig. 5.9. Valori medi annuali di clorofilla-a da satellite MODIS (<http://emis.jrc.ec.europa.eu>) nel periodo 1997-2007 ( $\pm$  es) nelle località scelte per la simulazione

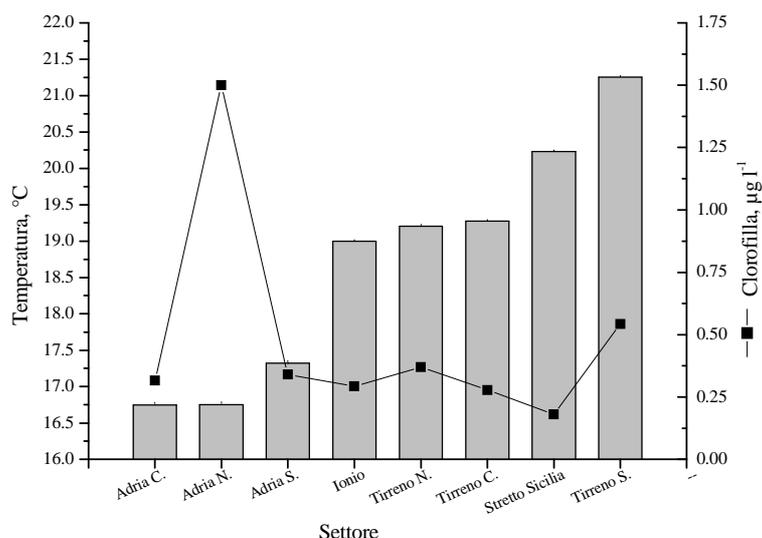


Fig. 5.10. Valori medi tra il 2006-2009 di temperatura e tra il 1997-2007 di clorofilla nei settori italiani (C. = centrale; N. = nord; S. = sud)

**Simulazione DEB dei tratti dei bivalvi sulle coste italiane.** La situazione ambientale appena sopra descritta, rappresenta la base di partenza per effettuare le simulazioni DEB. Nella precedente sezione (Tab. 6.3 e 6.4), sono stati riportati i parametri standard dei due organismi da modellizzare, mentre i dati DEB standard del mitile edule si riprendono da Sarà et al. (2012). La simulazione ha permesso di ottenere, per ogni località, i tratti dimensionali delle tre specie e una misura di *fitness*, ossia il numero di uova prodotte per grammo di peso umido. In questa tesi, un'analisi MDS, ha permesso di ottenere in ciascuna specie tre grandi classi di *fitness* (le differenze tra di esse sono state verificate e confermate con PERMANOVA): A) *fitness* massima rappresentata dalla massima produzione di uova per grammo di peso umido; B) *fitness* intermedia rappresentata da un numero medio di uova e C) *fitness* nulla rappresentata da un numero minimo, ossia vicino o pari a zero, di uova prodotte nell'intero periodo di studio (2006-2009).

E' importante notare che, la separazione in tre classi non implica automaticamente che se le simulazioni DEB mostrano *fitness nulla* in una data località, gli individui di quella specie **non saranno mai o non sono mai stati presenti**. I bivalvi, come la maggior parte degli organismi ectotermi acquatici, hanno stadi larvali planctonici che sono in grado, grazie al *drifting* idrodinamico dovuto alle correnti oceaniche, di percorrere anche parecchie centinaia di miglia prima di insediarsi, fissandosi al substrato, nel sito

definitivo dove la larva raggiungerà lo stadio adulto. Di conseguenza, le classi di *fitness* sono da intendersi come **classi di natura probabilistica**, ossia classi **che indicano una probabilità che l'individuo di una data specie possa trovare condizioni favorevoli ed idonee**, tali da permettere il raggiungimento della taglia puberale e iniziare la produzione di uova.

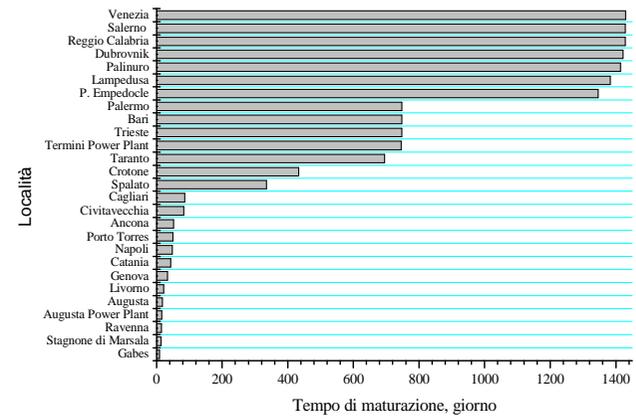
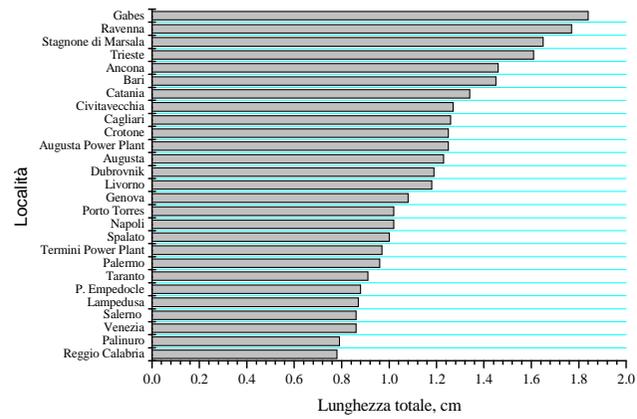
In tale contesto, le condizioni di un habitat saranno tanto più favorevoli, se l'individuo reclutato è in grado di raggiungere taglie sempre maggiori in accordo alle leggi che regolano la relazione diretta tra taglia del corpo e ammontare di uova prodotte, tipiche degli organismi ad accrescimento indeterminato (Strathmann e Strathmann, 1982; Koojiman, 2010). Tali classi inoltre non tengono in conto le interazioni biotiche (e.g., varie forme di competizione intra- ed inter-specifica) che come è noto, sono in grado di limitare le performance di un organismo. Esse non tengono nemmeno in considerazione alcune particolari condizioni ambientali sito-specifiche, come gli elevati livelli di salinità (oltre il 37 ‰ definita condizione di iperalinità), tipici di molte aree lagunari del basso Mediterraneo (e.g., Stagnone di Marsala). Questi fattori di natura biotica e abiotica possono entrare in gioco nel limitare la presenza di un organismo e in particolare possono rappresentare una barriera alla penetrazione di una specie in un dato habitat.

**La simulazione di *Mytilaster minimus*.** In tab. 5.2, si riportano gli *output* DEB di *Mytilaster minimus*, mentre nelle figure successive (Fig. 5.11 a, b, c, d) si riportano gli andamenti delle variabili DEB per le acque del Mediterraneo centro-occidentale. Le condizioni ambientali possono certamente permettere la presenza del *Mytilaster* un pò in tutte le località, raggiungendo in parte ovunque una *fitness* intermedia. In alcune località in particolare, dove la concentrazione di cibo è significativamente maggiore come a Gabes, Stagnone e Ravenna, la produzione di uova risulta essere oltre otto volte maggiore rispetto alla maggior parte delle altre località mediterranee centro-occidentali. In generale, questo andamento è confermato dalla PERMANOVA (Tab. 5.3; Fig. 5.12 a, b) che ha messo in evidenza una differenza significativa ( $p < 0.05$ ) tra tre gruppi di località come mostrato dalla figura 5.13 riportante un MDS e dai risultati dei test post-hoc. Ciò è anche supportato dal fatto che la lunghezza, correlate significativamente al numero di uova (Fig. 5.14), è maggiore nelle zone a *fitness* massima, e decresce

minimizzandosi, sino a località come Palermo, P. Empedocle etc. appartenenti al gruppo di *fitness* minima.

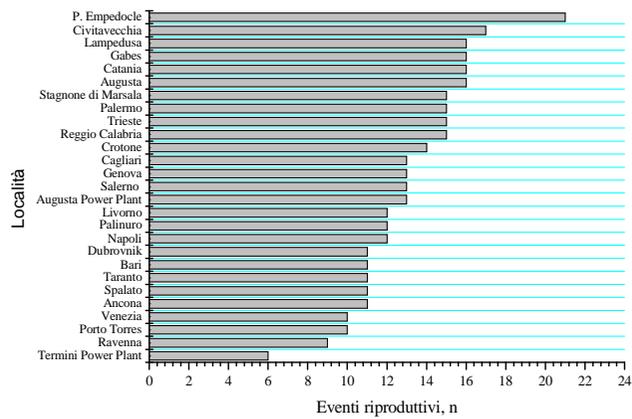
Tab. 5.2. I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Mytilaster minimus* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua), nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP. = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

Località	LT	PT	TP.	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	1.46	0.12	52	2497	11	227
Augusta	1.23	0.04	18	4912	16	307
Augusta Power Plant	1.25	0.04	16	5383	13	414
Bari	1.45	0.08	747	1284	11	117
Cagliari	1.26	0.07	86	1621	13	125
Catania	1.34	0.01	43	1929	16	121
Civitavecchia	1.27	0.07	83	1441	17	85
Crotone	1.25	0.07	434	1513	14	108
Dubrovnik	1.19	0.06	1422	1209	11	110
Stagnone di Marsala	1.65	0.47	14	19107	15	1274
Gabes	1.84	0.69	9	39410	16	2463
Genova	1.08	0.12	33	2733	13	210
Lampedusa	0.87	0.06	1383	743	16	46
Livorno	1.18	0.16	22	4341	12	362
Napoli	1.02	0.10	48	2526	12	211
Palermo	0.96	0.08	747	1284	15	86
Palinuro	0.79	0.05	1414	791	12	66
P. Empedocle	0.88	0.06	1346	722	21	34
Porto Torres	1.02	0.10	50	2251	10	225
Ravenna	1.77	0.60	15	30830	9	3426
Reggio Calabria	0.78	0.04	1429	796	15	53
Salerno	0.86	0.06	1429	1259	13	97
Spalato	1.00	0.10	335	1897	11	172
Taranto	0.91	0.07	695	1652	11	150
Termini Power Plant	0.97	0.08	746	1329	6	222
Trieste	1.61	0.08	747	1284	15	86
Venezia	0.86	0.01	1430	1061	10	106

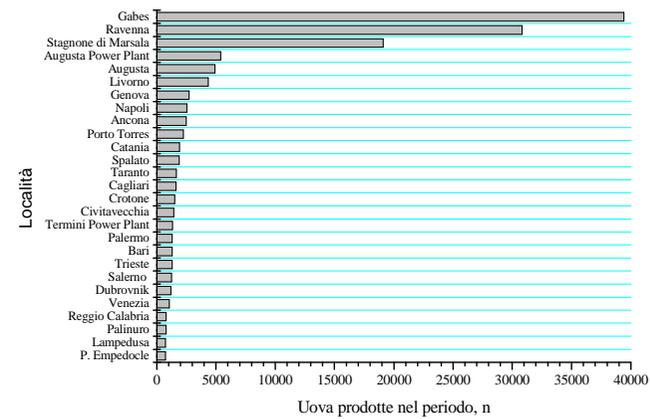


a)

b)



c)



d)

Fig. 5.11. Tratti della *fitness* in *Mytilaster minimus* nelle località centro-occidentali del Mediterraneo tra il 2006 ed il 2009: a) lunghezza totale all'umbone; b) tempo di maturazione in giorni; c) numero degli eventi riproduttivi e d) numero di uova prodotte nell'intero periodo.

Tab. 5.3. PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Mytilaster minimus* (Df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

Sorgente	Df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	n
Fitness	2	107.04	53.52	115.6	0.0001 (***)	9948
Residui	24	11.11	0.473			
Totale	26	118.16				

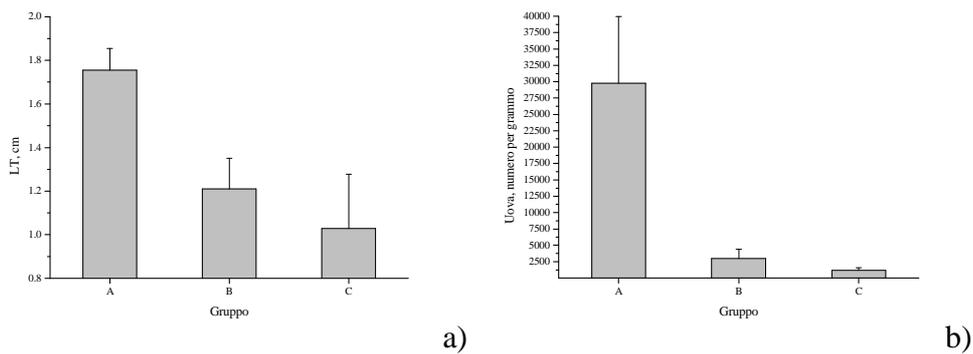


Fig. 5.12. (a) Lunghezza totale delle valve all'umbone e (b) numero di uova emesse nel periodo per grammo.

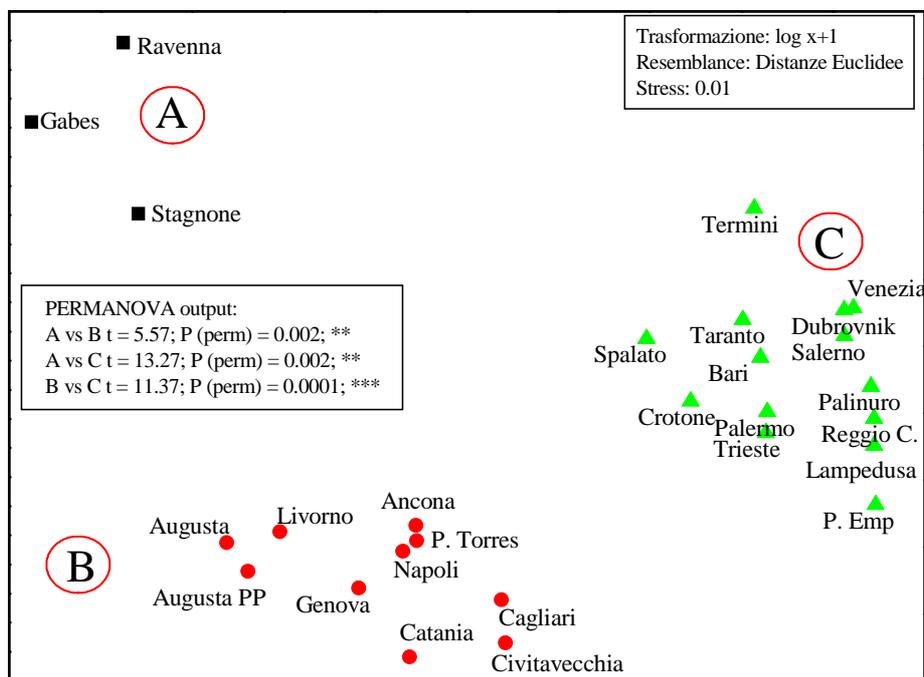


Fig. 5.13. MDS effettuato sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Mytilaster minimus*. Nel grafico si riportano le informazioni relative all'analisi MDS (in alto a destra) e nel riquadro al centro, l'output dell'analisi PERMANOVA per verificare la differenza dei tre gruppi (A, B e C).

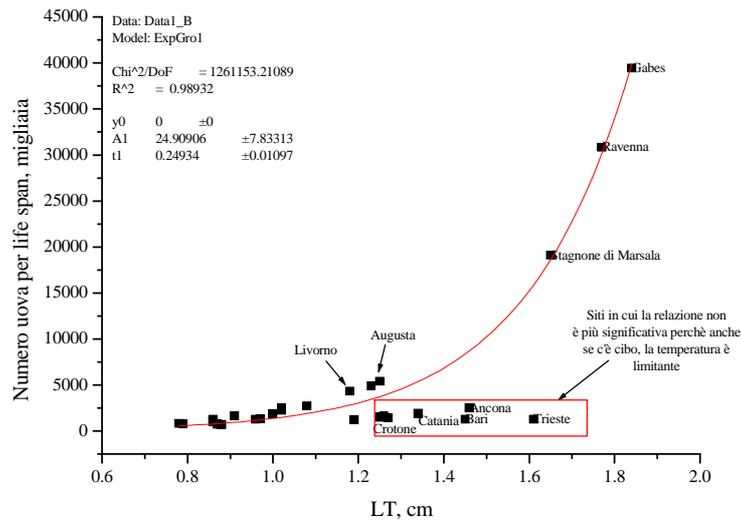


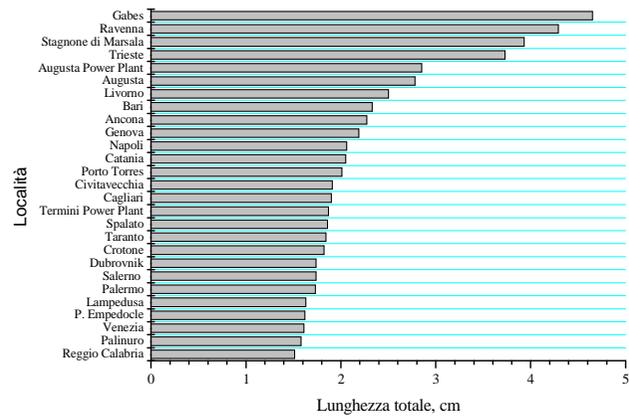
Fig. 5.14. Relazione tra lunghezza totale all'umbone e numero totale di uova in *Mytilaster minimus* emesse nel periodo 2006-2009 in ogni località

**Validazione del modello DEB in *Mytilaster*.** Per le piccole dimensioni del *Mytilaster*, non è stato possibile applicare la metodica, applicata invece per il *Brachidontes*, basata sulla conta degli anelli di crescita delle valve. In *Mytilaster*, i risultati sono stati validati solo grazie ad osservazioni in campo e con dati di letteratura, ma senza tener conto dell'età di ciascun individuo. Per esempio, Zangara (2007) riporta che *Mytilaster minimus* è presente un pò ovunque lungo le coste settentrionali della Sicilia, in località come S. Nicola, Capo Plaia, S. Vito lo Capo etc. con densità elevate e lunghezze di non oltre un centimetro. Questo dato può permettere di inferire sulla quantità minima di uova che sono necessarie per il mantenimento di una popolazione di *Mytilaster* che potrebbe essere non più di qualche migliaio per grammo di peso umido. Il *Mytilaster* è invece assente da Porto Empedocle, Lampedusa e dalle acque dello Stretto di Messina (Reggio Calabria e Messina) come messo in evidenza da osservazioni in campo effettuate nelle estati del 2009 e del 2010 (Sarà pers. com.). Anche se la simulazione DEB predice il raggiungimento di una *fitness* massima allo Stagnone di Marsala, tale risultato rappresenta un *bias* ed è uno di quei casi in cui le particolari condizioni locali abiotiche di un sito come la iperalinità, limita l'espressione eco-fisiologica (Sarà e De Pirro, 2011) di questa specie, escludendola da quelle acque lagunari.

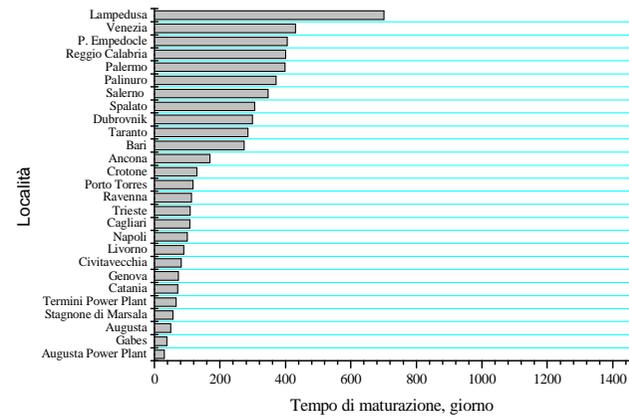
**La simulazione di *Brachidontes pharaonis*.** Il *Brachidontes pharaonis* è una specie invasiva che sembra riuscire a sopravvivere in svariate condizioni ambientali, sia di temperatura che cibo. La simulazione DEB mostra che questa specie (Tab. 5.4; Fig. 5.15 a, b, c, d) trova condizioni idonee al raggiungimento di una *fitness* elevata ovunque nelle località studiate, a parte Lampedusa e Venezia. In particolare, essa raggiunge le taglie e la *fitness* più elevate a Gabes, allo Stagnone di Marsala in Sicilia occidentale e sui litorali di Ravenna ( $p < 0.05$ ). In queste località, gli individui di questa specie possono riuscire a produrre da oltre 4 milioni di uova per ciclo quadriennale come a Gabes e, poco meno di 700 mila come a Trieste. Tale gruppo, che rappresenta la massima *fitness* raggiungibile, si differenzia significativamente (Tab. 5.4; Fig. 5.16 a, b PERMANOVA,  $p < 0.05$ ; Fig. 5.17 MDS) dal gruppo di località in cui è possibile prevedere *fitness* intermedie, composto da siti ionici (e.g., Catania, Augusta e Crotona), da siti medio- ed alto-tirrenici (e.g., Civitavecchia, Napoli, Livorno e Genova) e dalla centrale ENEL di Tifeo a Termini Imerese. In ultimo, le località sud-tirreniche, medio e basso adriatiche occidentali ed orientali e quelle dello Stretto di Sicilia, compongono un gruppo di siti in cui il *Brachidontes* potrebbe non trovare condizioni favorevoli per il mantenimento di popolazioni persistenti nel tempo. Il grafico delle lunghezze e delle uova emesse nei quattro anni (Fig. 5.18), supporta tale quadro, mostrando come ogni gruppo di *fitness* è significativamente differente dagli altri (A vs B vs C).

Tab. 5.4. I tratti delle *life history* e la *fitness* in *Brachiontes pharaonis* espressa dal numero di uova in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

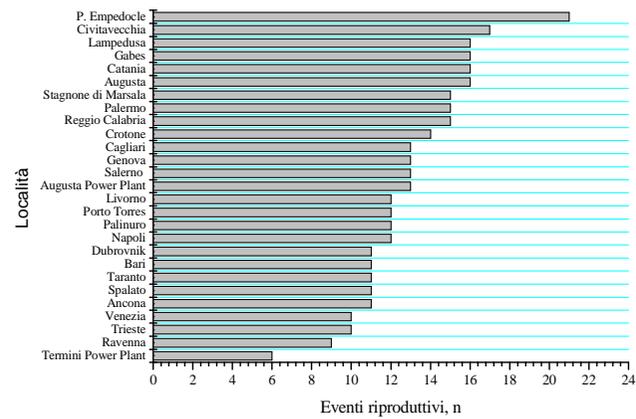
Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	2.27	0.43	170	32183	11	2926
Augusta	2.78	0.38	49	77920	16	4870
Augusta Power Plant	2.85	0.41	30	124976	13	9614
Bari	2.33	0.47	274	54219	11	4929
Cagliari	1.90	0.25	108	20792	13	1599
Catania	2.05	0.12	71	25793	16	1612
Civitavecchia	1.91	0.26	81	19505	17	1147
Crotone	1.82	0.22	130	17220	14	1230
Dubrovnik	1.74	0.20	299	12245	11	1113
Gabes	4.65	6.21	38	4225719	16	264107
Genova	2.19	0.43	73	41504	13	3193
Lampedusa	1.63	0.15	701	7402	16	463
Livorno	2.50	0.71	90	77485	12	6457
Napoli	2.06	0.32	100	33320	12	2777
P. Empedocle	1.62	0.15	405	5024	21	239
Palermo	1.73	0.18	399	11819	15	788
Palinuro	1.58	0.14	371	8579	12	715
Porto Torres	2.01	0.32	118	24405	12	2034
Ravenna	4.29	4.60	113	1800522	9	200058
Reggio Calabria	1.51	0.12	401	7556	15	504
Salerno	1.74	0.20	347	15331	13	1179
Spalato	1.86	0.27	306	15394	11	1399
Stagnone di Marsala	3.93	3.20	56	944094	15	62940
Taranto	1.84	0.25	285	20224	11	1839
Termini Power Plant	1.87	0.24	66	20577	6	3429
Trieste	3.73	2.88	109	696220	10	69622
Vendicari	2.00	0.12	71	25793	16	1612
Venezia	1.61	0.06	431	7248	10	725



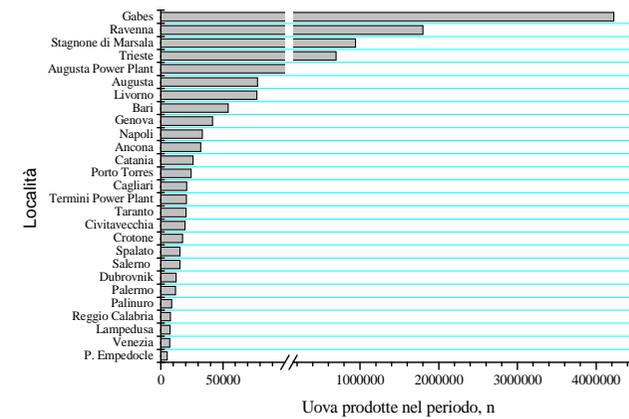
a)



b)



c)



d)

Fig. 5.15. Tratti della *fitness* in *Brachidontes pharaonis* nelle località centro-occidentali del Mediterraneo tra il 2006 ed il 2009: a) lunghezza totale all'umbone; b) tempo di maturazione in giorni; c) numero degli eventi riproduttivi e d) numero di uova prodotte nell'intero periodo.

Tab. 5.4. PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Brachidontes pharaonis* (D.f. = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ )

Sorgente	D.f.	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	n
Fitness	2	77.25	38.62	29.78	0.0001 (***)	9949
Residui	24	31.13	1.30			
Totale	26	108.38				

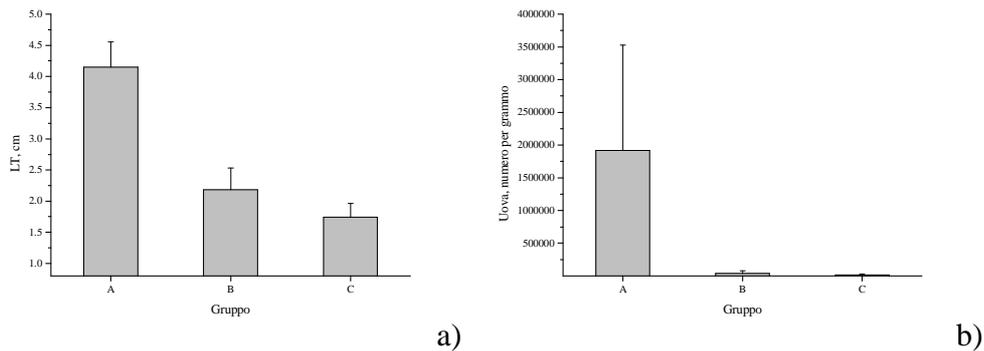


Fig. 5.16. (a) Lunghezza totale delle valve all'umbone e (b) numero di uova emesse da *Brachidontes pharaonis* nel periodo per grammo

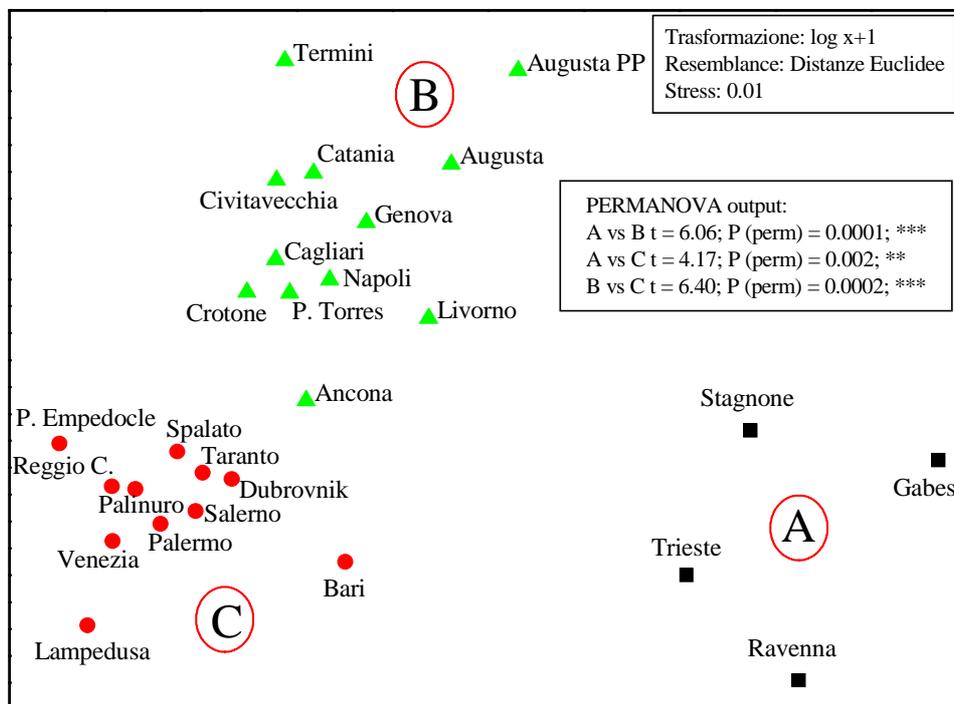


Fig. 5.17. MDS effettuato sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Brachidontes pharaonis*. Nel grafico si riportano le informazioni relative all'analisi MDS (in alto a destra) e nel riquadro al centro, l'output dell'analisi PERMANOVA per verificare la differenza dei tre gruppi (A, B e C).

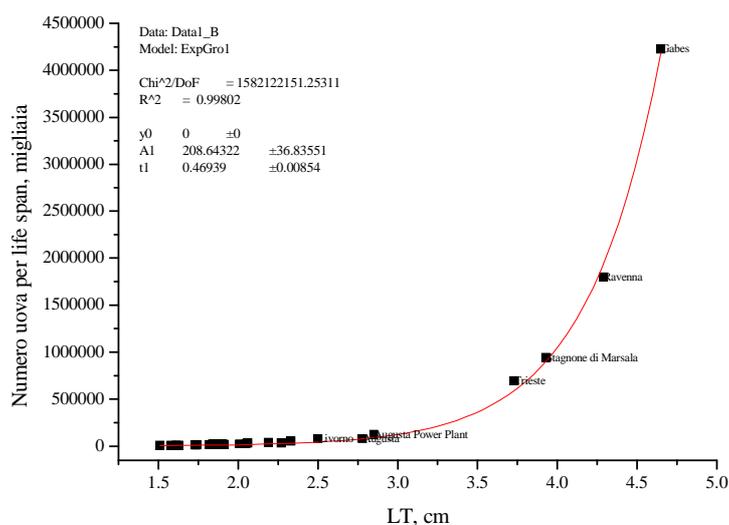


Fig. 5.18. Relazione tra lunghezza totale all'umbone e numero totale di uova in *Brachidontes pharaonis* emesse nel periodo 2006-2009 in ogni località.

**Validazione del modello DEB in *Brachidontes*.** Se per *Mytilaster* vi era grande carenza di dati per la validazione, dovuta ad un numero molto limitato di studi relativi alla sua distribuzione, per *Brachidontes* è invece presente in letteratura una quantità di dati maggiore, grazie alla quale è stato possibile validare i risultati DEB. I risultati di questa simulazione mettono in evidenza una forte collimazione con l'attuale mappa di distribuzione rilasciata dalla FAO (si veda cap. 3, Fig. 3.3) dalla quale si evince che questa specie è oramai arrivata nel Golfo di Trieste, nel Nord della Corsica e finanche in alcune lagune del sud della Francia (P. Riera pers. com.). Inoltre e comunque, i risultati DEB per questa specie, sono validabili con le curve di età-dimensione riportate qui di seguito (Fig. 5.19 a, b), costruite con i dati raccolti in questa tesi. Qui, infatti, è stato condotto uno studio, sia nel 2009 che nel 2010, con il fine di validare l'*outcome* del modello DEB. Il DEB stima che a quattro anni, nella salina Ettore dello Stagnone di Marsala, gli individui di *Brachidontes* dovrebbero raggiungere una lunghezza massima di circa 3.97 cm. Questo dato è fortemente corrispondente con quanto rinvenuto con i *survey* condotti in questa tesi nel 2009 e nel 2010, i quali mostrano che la lunghezza massima di Von Bertalanffy, stimata attraverso gli studi degli anelli delle valve di animali campionati in Salina, era di circa 3.99 cm nel 2009 e 3.69 cm nel 2010. Come conseguenza, il modello DEB stimato con i parametri standard calcolati in questa tesi e con i dati reali di temperatura e cibo, restituisce un risultato altamente confidente. Questo risultato è estremamente confortante e, valida appieno le metodiche sperimentali

adottate e proposte come strumento di indagine in questa tesi. Esso supporta anche i risultati ottenuti per le altre due specie. Le leggere differenze tra i dati di campo e teorici, provenienti dal modello, sono da spiegarsi con l'adozione dei valori di clorofilla come cibo (Sarà et al. 2012). Nella realtà, i bivalvi sono organismi che filtrano in maniera passiva, esercitando una selezione poco efficiente (Dame, 1996), tutte le particelle che rientrano in un *range* dimensionale idoneo ai loro apparati filtratori (Sarà, 2006). Le particelle inorganiche vengono eliminate come pseudofeci insieme a quelle organiche in *surplus* (Bayne, 1980), la restante parte tra quelle organiche sono invece ingerite. Tra queste ultime, quelle di natura detritale rappresentano, soprattutto in ambiente oligotrofico, una frazione importante per il mantenimento energetico delle popolazioni. Nel modello DEB, per comodità e per potere applicare le simulazioni su larga scala spaziale (e.g., regionale, latitudinale, a livello di Bacino), si è deciso di usare la clorofilla come descrittore del cibo per i bivalvi, trascurando la frazione detritale. Ciò porta spesso, ad una sottostima delle reali capacità degli organismi di sfruttare tutta l'energia contenuta nel cibo realmente disponibile nel loro habitat, con una conseguente deviazione dei risultati teorici provenienti dalle simulazioni, rispetto a quanto avvenga realmente in natura. Tuttavia in questa tesi, anche con questa importante limitazione, l'uso della clorofilla come cibo nel caso del *Brachidontes*, ha condotto a dei risultati DEB altamente confidenti su una scala quadriennale.

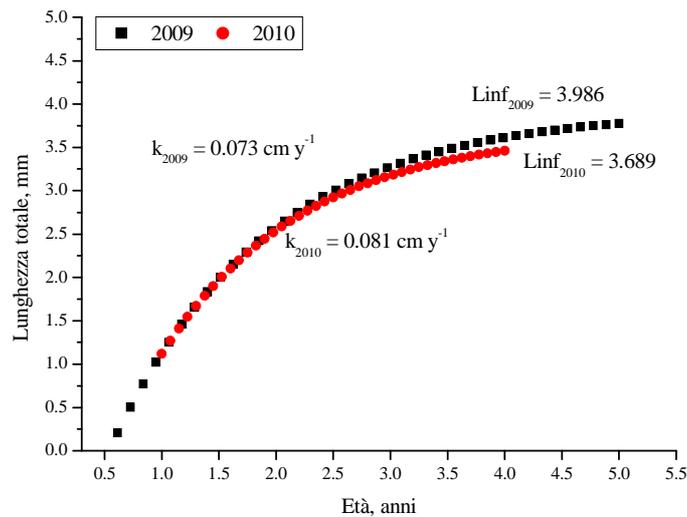


Fig. 5.19-a. Modello di accrescimento di Von Bertalanffy ottenuto nella Salina Ettore con dati reali di biometria ed età tra il 2009 ed il 2010.

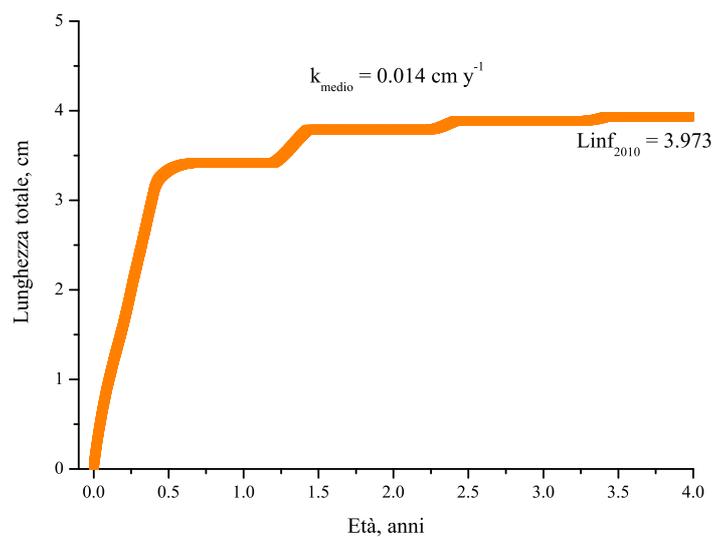
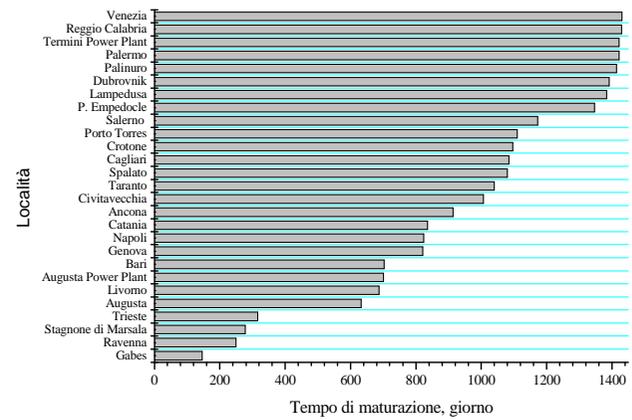
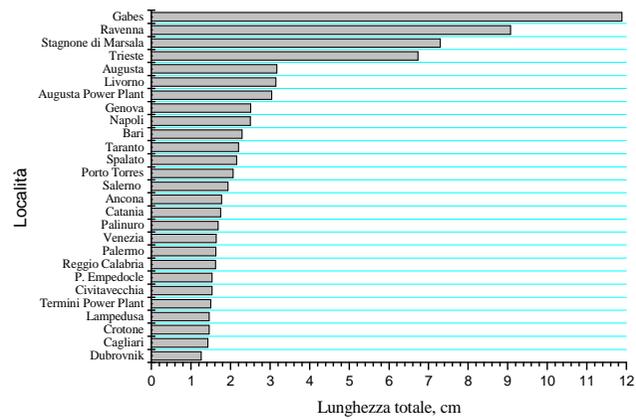


Fig. 5.19-b. Modello di accrescimento di Von Bertalanffy ottenuto per la Salina Ettore con il modello DEB ed i dati ambientali reali relativi al periodo 2006-2009.

**La simulazione di *Mytilus galloprovincialis*.** Il *Mytilus galloprovincialis*, ossia il comune mitile edule, è un bivalve che si distribuisce su un areale estremamente ampio, anche se sembra adattarsi meglio a condizioni ambientali tipiche delle acque più fredde (Gosling, 1992). Esso è allevato un pò ovunque nelle acque mediterranee al di sopra del 40°-41° parallelo; tuttavia è rinvenibile con buone *performance* di accrescimento in aree più meridionali, ma solo in siti altamente eutrofici (e.g., Lago di Faro, Messina, Biserta e Tunisi) e a valle di impianti di acquacoltura (e.g., Golfo di Castellammare; Sarà et al. 1998; 2009; 2012). Le simulazioni DEB di questa tesi, basate sull'uso dei parametri DEB calcolati in Saraiva et al. (2011) e adottati con buona affidabilità in Sarà et al. (2012), confermano la tendenza di questa specie a distribuirsi in siti meno caldi di *Brachidontes* e *Mytilaster*, a meno che le acque di questi siti, come Gabes, non siano molto ricche in particellato (Tab. 5.5; Fig. 5.20 a, b, c, d). In questo caso, il DEB restituisce risultati che vedono il *Mytilus* distribuirsi sulle coste del Mediterraneo centro-occidentale con alti livelli di *fitness* come a Ravenna e Trieste, e con una *fitness* media a Napoli, Taranto, Livorno, Civitavecchia e Porto Torres. Restituisce anche un risultato che evidenzia come la probabilità di rinvenire *Mytilus* riprodursi massivamente, in modo da perpetuare le popolazioni nel tempo, è estremamente bassa nei siti del basso Tirreno ed in quelli che si affacciano sullo Stretto di Sicilia (e.g., Palermo, P. Empedocle e Lampedusa) (PERMANOVA Tab. 5.6; Fig. 5.21 a,b; MDS Fig. 5.22; relazione tra lunghezza totale all'umbone e numero totale di uova Fig. 5.23).

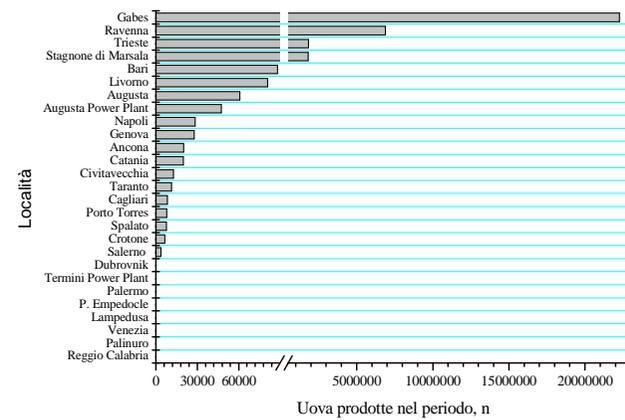
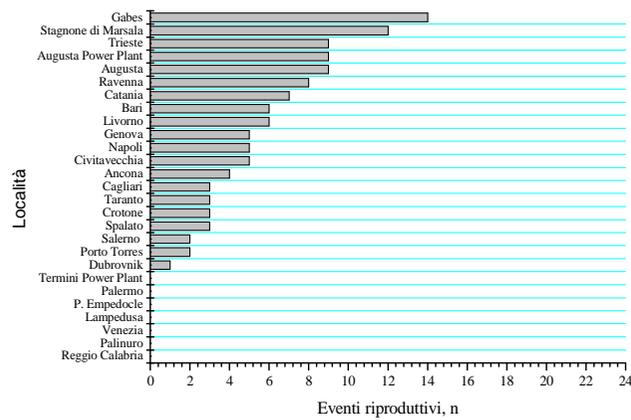
Tab. 5.5. I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Mytilus galloprovincialis* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	1.77	0.20	914	19950	4	4988
Augusta	3.17	0.03	632	60941	9	6771
Augusta Power Plant	3.04	0.03	701	47238	9	5249
Bari	2.29	0.44	703	88102	6	14684
Cagliari	1.43	0.11	1085	8253	3	2751
Catania	1.75	0.01	835	19939	7	2848
Civitavecchia	1.53	0.13	1007	12566	5	2513
Crotone	1.46	0.11	1097	6578	3	2193
Dubrovnik	1.26	0.07	1391	1	1	1
Gabes	11.88	24.52	146	22265243	14	1590375
Genova	2.51	0.20	821	27700	5	5540
Lampedusa	1.46	0.04	1383	0	0	0
Livorno	3.14	0.40	687	81103	6	13517
Napoli	2.50	0.18	824	28255	5	5651
P. Empedocle	1.53	0.04	1346	0	0	0
Palermo	1.63	0.05	1421	0	0	0
Palinuro	1.69	0.05	1414	0	0	0
Porto Torres	2.06	0.11	1110	7847	2	3923
Ravenna	9.07	10.34	249	6896424	8	862053
Reggio Calabria	1.62	0.05	1429	0	0	0
Salerno	1.93	0.09	1173	3559	2	1779
Spalato	2.15	0.13	1079	7565	3	2522
Stagnone di Marsala	7.30	4.84	278	1817976	12	151498
Taranto	2.20	0.14	1039	11218	3	3739
Termini Power Plant	1.50	0.04	1421	0	0	0
Trieste	6.73	4.12	316	1837054	9	204117
Venezia	1.64	0.00	1430	0	0	0



a)

b)



c)

Fig. 5.20. Tratti della *fitness* in *Mytilus galloprovincialis* nelle località centro-occidentali del Mediterraneo tra il 2006 ed il 2009: A) lunghezza totale all'umbone; B) tempo di maturazione in giorni; C) numero degli eventi riproduttivi e D) numero di uova prodotte nell'intero periodo.

Tab. 5.6. PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Mytilus galloprovincialis* (Df. = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

Sorgente	Df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	n
<i>Fitness</i>	2	813.18	406.59	394.58	0.0001 (***)	9942
Residui	24	24.73	1.03			
Totale	26	837.91				

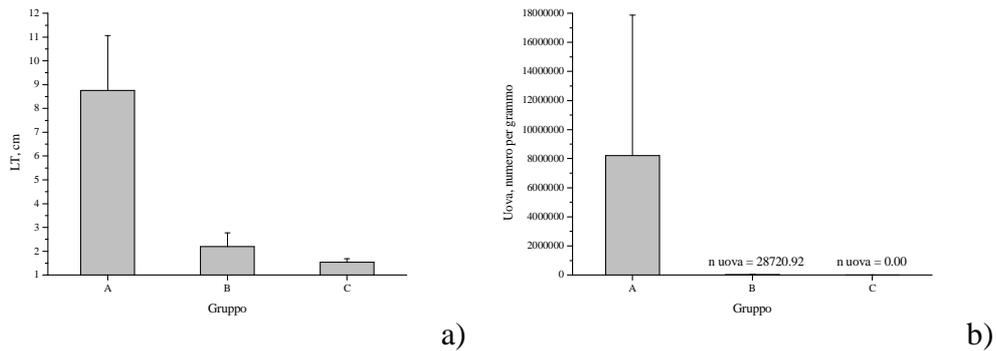


Fig. 5.21. (a) Lunghezza totale delle valve all'umbone e (b) numero di uova emesse da *Mytilus galloprovincialis* nel periodo per grammo.

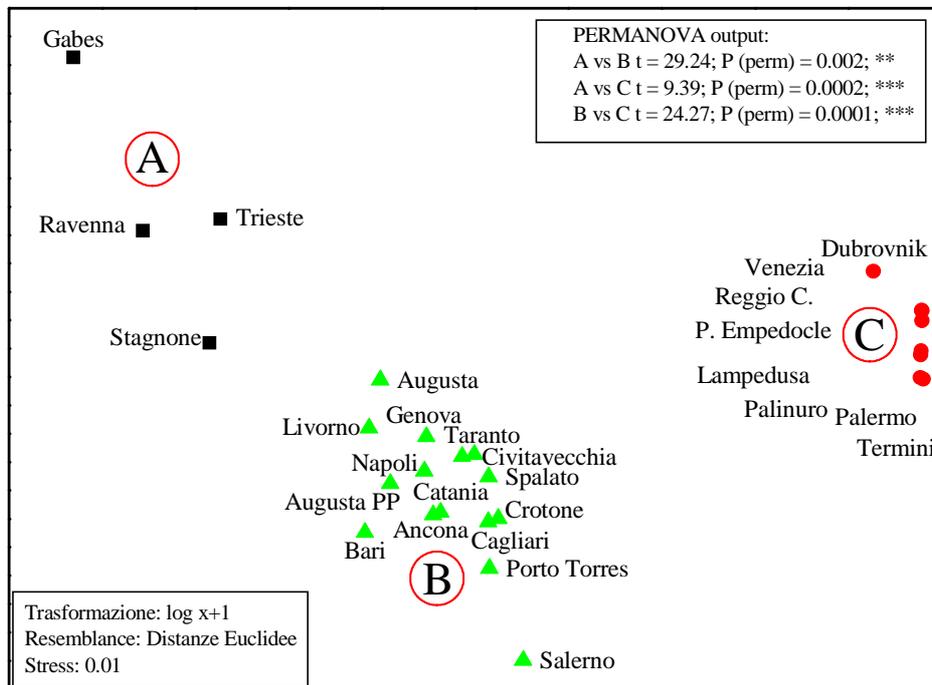


Fig. 5.22. MDS effettuato sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di eventi riproduttivi, numero di uova e tempo di maturazione) di *Mytilus galloprovincialis*. Nel grafico si riportano le informazioni relative all'analisi MDS (in basso a sinistra) e nel riquadro in alto a destra, l'output dell'analisi PERMANOVA per verificare la differenza dei tre gruppi (A = massima *fitness*; B = *fitness* intermedia; C = *fitness* nulla).

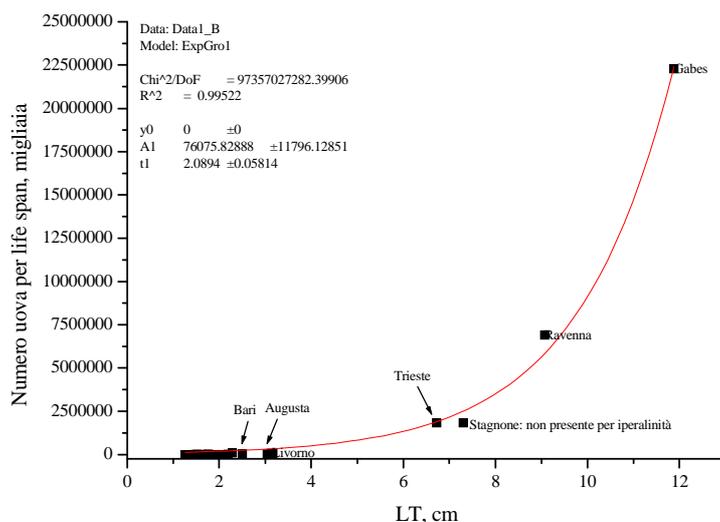


Fig. 5.23. Relazione tra lunghezza totale all'umbone e numero totale di uova in *Mytilus galloprovincialis* emesse nel periodo 2006-2009 in ogni località.

**Validazione del modello DEB in *Mytilus*.** La simulazione DEB anche per questa specie, restituisce un *bias* che riguarda la sua presenza nello Stagnone di Marsala. Le caratteristiche termiche delle acque di questa laguna e delle vasche di fredda delle saline che su di essa si affacciano, e le concentrazioni di cibo potenzialmente disponibili, permetterebbero la presenza degli individui di *Mytilus* con elevate *fitness*. Tuttavia, ciò non corrisponde al vero in quanto la penetrazione e la sussistenza di questi bivalvi in queste acque è fortemente limitata dalle elevate salinità (Sarà et al. 2000). A parte questo singolo caso, comunque, il DEB è anche in *Mytilus* estremamente affidabile. Ciò è dimostrato anche in un recente lavoro di Sarà et al. (2012), nel quale la simulazione DEB è consistente con la realtà, poichè si dimostra che individui di questa specie si accrescerebbero vicino a gabbie di acquacoltura nel Golfo di Castellammare, raggiungendo taglie massime nell'arco di quattro anni che collimano appieno con quanto riportato nella realtà (Sarà et al. 2009). Ciò porta a considerazioni che potrebbero essere utili per il settore commerciale dell'acquacoltura, o potrebbero essere utili in senso opposto, ossia per stabilire le azioni di conservazione delle aree marino-costiere di pregio naturalistico come le lagune e le acque di bassofondo (Sarà, 2009; Calvo et al. 2010; Mazzola et al. 2010). Per esempio, riprendendo il caso dello Stagnone, se qui non vi fosse una barriera di salinità (in media annuale oltre il 40‰; Mazzola e Sarà, 1995) che impedisce la presenza di *Mytilus*, è probabile che ritroveremmo gli individui di

questa specie come è stimato dal DEB. D'altronde, in aree lagunari con regimi termici molto simili allo Stagnone, con abbondanza di cibo come nello Stagnone e nelle saline prospicienti, ma con salinità inferiori (e.g., laghi di faro e Ganzirri e le lagune tunisine - Manganaro et al. 2009; Garali et al. 2010), la mitilicoltura è pratica molto frequente. Ciò porta anche a considerazioni di ordine naturalistico che riguardano lo Stagnone di Marsala. Questo specchio d'acqua rappresenta un'importante area di pregio naturalistico e la sua importanza è in larga parte dovuta alla sua attuale condizione dell'idrodinamismo locale, che si basa sul continuo interrimento di una delle bocche della laguna. Recenti proposte di gestione dell'area avanzate dall'Ente Gestore, riguardano lo svuotamento dei canali di afflusso dal mare e di una di queste bocche a mare. Ciò permetterebbe la vivificazione della laguna, grazie alla maggiore probabilità di penetrazione dell'acqua di mare e porterebbe, di certo, all'alterazione dei flussi idrici con il conseguente abbassamento delle salinità medie annuali. Questo fatto, a prescindere dalle considerazioni di merito, avrebbe il probabile effetto di alterare l'attuale *asset* di biodiversità, grazie per esempio all'immediato insediamento sui substrati duri rocciosi ed artificiali di specie come il *Mytilus galloprovincialis*, che possiede un serbatoio di larve nei vicini porticcioli pescherecci della città di Marsala (Sarà com. pers.). La capacità di una specie come il *Mytilus* di alterare il ciclo della materia organica di un bacino, è dimostrata ampiamente come tra gli altri anche da Manganaro et al. (2010) per i laghi di Ganzirri e Faro, nella Sicilia orientale.

**Le tre specie insieme.** Le simulazioni DEB di questa tesi permettono di distinguere aree del Mediterraneo centro-occidentale differenti in funzione della *fitness* potenzialmente raggiungibile dai molluschi bivalvi target di questa tesi. Le tre specie sono diverse quanto ad affinità termiche, ma trovano nelle condizioni locali (esprese dalla quantità di cibo disponibile), un volano formidabile che ne amplifica la possibilità di raggiungere *fitness* elevate laddove la temperatura non lo permetterebbe. Ciò è dimostrato dalla tendenza dei risultati della PERMANOVA (Tab. 5.7 a,b), che riporta come la differenza in *fitness* tra le specie si riduca sensibilmente ( $p=0.03/0.04$ ) fino quasi a raggiungere la non significatività nelle aree dove le tre specie possono raggiungere le *fitness* più elevate (gruppo A). Laddove il cibo non è più teoricamente *ad libitum*, come a Gabes e Ravenna, la differenza in *fitness* tra le specie, diventa altamente

significativa e la probabilità di presenza di ciascuna di esse si può spiegare con le loro maggiori o minori affinità termiche specie-specifiche. Infatti, il grafico che riporta un MDS (Fig. 5.24) condotto su tutte le specie insieme, mostra come le tre specie abbiano una capacità di separarsi le une dalle altre sostanzialmente in funzione della temperatura. Quasi idealmente, la specie autoctona di maggiori dimensioni con maggiore affinità per le temperature minori mediterranee, il *Mytilus*, occupa la parte superiore del plot; l'altra specie autoctona ad affinità calda, il *Mytilaster*, invece occupa sostanzialmente la parte bassa; il *Brachidontes*, specie di origine lessepsiana ed invasiva, occupa la porzione centrale. Anche se con questa analisi (MDS) non è possibile assegnare una posizione nello spazio geografico, questa distribuzione evidenzia che le caratteristiche di funzionamento di ciascuna specie che è, *in primis* funzione della temperatura (si vedano capitoli precedenti), sono determinanti nell'influenzare il tasso di colonizzazione di un sito e l'areale di distribuzione delle specie. Il *Brachidontes pharaonis* è una specie di medie dimensioni; essa con ogni probabilità si avvantaggia della sua enorme plasticità fenotipica, come già evidenziato in più lavori che riguardano i suoi aspetti eco-fisiologici (Sarà et al. 2000; Sarà e De Pirro, 2011). E' capace di penetrare ovunque, qualora vi fosse disponibile l'ammontare sufficiente di larve per il reclutamento, e non avrebbe difficoltà a superare le barriere di salinità come dimostrato dalla letteratura israeliana (Safriel e Sasson-Frostig, 1998) e la più recente letteratura che riguarda la sua risposta fisiologica (Sarà et al. 2008) e cardiaca al variare della salinità (Sarà e De Pirro, 2011).

Il *Mytilus* può resistere (in base alle sue caratteristiche come stimato dai parametri della teoria DEB - Saraiva et al. 2011), ai differenti livelli di temperatura rinvenibili nella maggior parte degli habitat del Mediterraneo, da sud a nord, ma le sue maggiori dimensioni lo svantaggiano in taluni casi. Laddove vi è poca energia dal cibo, infatti, come nel caso di acque fortemente oligotrofiche non soggette ad impatto antropico (e.g., basso Tirreno o del basso Adriatico), il mitile edule non è rinvenibile o se lo fosse, esso raggiungerebbe in quattro anni dimensioni inferiori alla taglia puberale. Il *Mytilaster minimus*, specie tipicamente meridionale dell'intertidale si avvantaggia delle sue piccole dimensioni e la quantità di cibo non rappresenta un limite per questa specie. Questa specie è adattata più alle condizioni intertidali che alle condizioni puramente subtidali (e.g., sempre immersa), e questo può spiegare le sue piccole dimensioni poichè essa è

una specie che deve resistere all'ampia escursione termica a basse condizioni di cibo dell'intertidale del basso Mediterraneo (Sarà et al. submitted). Ad ogni modo, l'approccio DEB non fallisce nemmeno questa volta nel descrivere l'abilità della specie nel distribuirsi nei siti del Mediterraneo centro-occidentale.

Tab. 5.7-a PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova e tempo di maturazione) delle tre specie tutte insieme (Df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

Sorgente	Df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	n
Specie	2	173.85	86.93	133.14	0.0001 (***)	9958
<i>Fitness</i>	2	648.27	324.13	496.44	0.0001 (***)	9939
Specie x <i>Fitness</i>	4	389.49	97.37	149.14	0.0001 (***)	9952
Residui	72	47.01	0.65			
Totale	80	1238.20				

Tab. 5.7-b Test post-hoc della PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova e tempo di maturazione) delle tre specie tutte insieme (df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

Livello <i>Fitness</i> 'A'				
Specie	t	P(perm)	n	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Brachidontes</i>	7.1615	0.03 (*)	35	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Mytilus</i>	7.0006	0.04 (*)	35	
<i>Brachidontes</i> vs <i>Mytilus</i>	2.1234	0.03 (*)	35	

Livello <i>Fitness</i> 'B'				
Specie	t	P(perm)	n	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Brachidontes</i>	8.1048	0.0001 (***)	9871	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Mytilus</i>	9.7087	0.0001 (***)	9917	
<i>Brachidontes</i> vs <i>Mytilus</i>	6.7739	0.0001 (***)	9927	

Livello <i>Fitness</i> 'C'				
Specie	t	P(perm)	n	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Brachidontes</i>	9.7226	0.0001 (***)	9904	
<i>Mytilaster</i> vs <i>Mytilus</i>	30.847	0.0001 (***)	9567	
<i>Brachidontes</i> vs <i>Mytilus</i>	34.666	0.0001 (***)	9264	

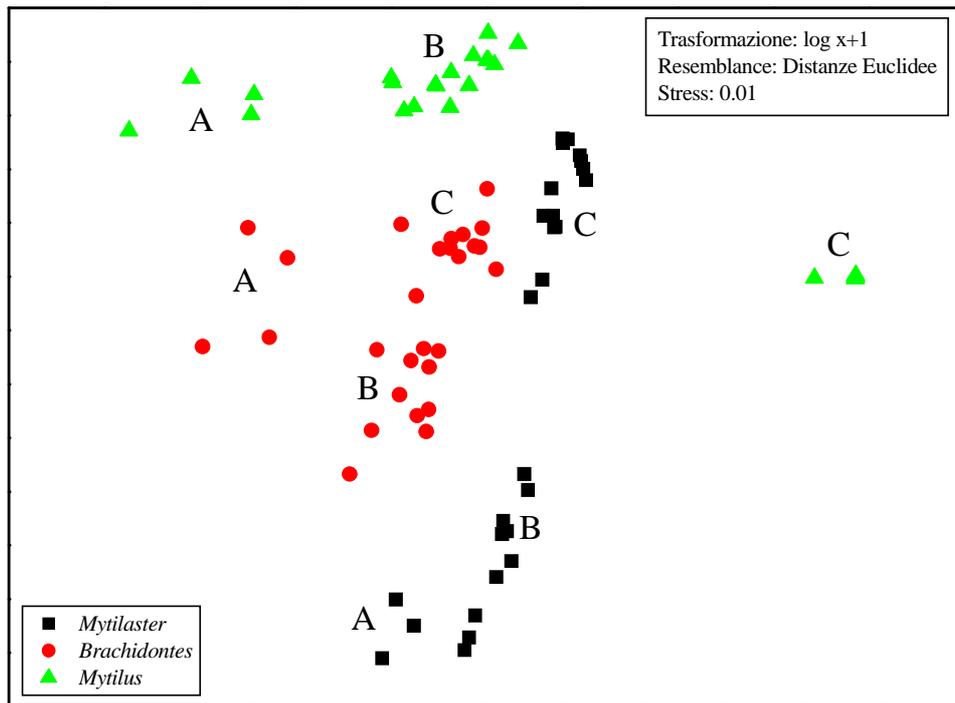


Fig. 5.24. MDS effettuato sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'ombone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova e tempo di maturazione) delle tre specie tutte insieme. Nel grafico si riportano le informazioni relative all'analisi MDS (in alto a destra) (A = massima *fitness*; B = *fitness* intermedia; C = *fitness* nulla).

**Simulazione DEB dell'effetto dei livelli di eutrofizzazione sul potenziale invasivo di *Brachidontes pharaonis*.** Questo secondo esercizio di simulazione prende spunto dal precedente, ma riguarderà solo la specie invasiva. In questa seconda sezione di simulazioni si riporteranno i risultati che riguardano la *fitness* di *Brachidontes* nei siti del Mediterraneo centro-occidentale al variare delle condizioni di cibo espresse da concentrazioni crescenti di clorofilla satellitare. Infatti, come detto già più volte in questa tesi, il cibo disponibile per i bivalvi, adottato nelle simulazioni è stato espresso dalle concentrazioni di clorofilla ottenute dalle serie mensili satellitari - EMIS, tra il 1998 ed il 2007. Anche se tali concentrazioni di clorofilla non descrivono in tutta la sua complessità l'*array* di cibo disponibile per i bivalvi, esse sono comunque sottostimate rispetto alle concentrazioni di clorofilla ottenute *in situ* per via spettrofluorimetrica o spettrofotometrica. Di conseguenza, i risultati delle simulazioni ottenute fin qui con le concentrazioni medie satellitari danno conto di una realtà ambientale che è possibile definire di *baseline*, in quanto relativa a condizioni *pristine*, ossia espressione di una realtà ambientali da cui è assente un evidente e certo impatto locale (a parte pochi casi come Gages o Ravenna in cui tutta l'area per svariate decine di km è altamente influenzata dalle attività antropiche). Tuttavia, le specie invasive come il *Brachidontes* ancora distribuite a macchia di leopardo lungo le coste del Mediterraneo occidentale, fatto dovuto alla probabile bassa pressione di larve nel Bacino (*sensu* Courchamp et al. 2008), si avvantaggerebbero nel futuro di un aumento di cibo disponibile come nel caso dell'incremento delle condizioni di eutrofia delle masse d'acqua. Esso si aspetta in un prossimo futuro, a causa del *global change*; dovrebbe risultare dall'incremento della pressione antropica sulle coste, causata dall'incremento della pressione industriale, della densità di popolazione costiera e dell'uso indiscriminato del territorio costiero (IPCC, 2007; *sensu* Sarà et al. 2011; Manachini et al. submitted). Queste nuove simulazioni quindi si basano sul dataset ISPRA 2006-2009 di temperature usate nella precedente sezione, e sulle concentrazioni di clorofilla EMIS che però sono aumentate di un ammontare fisso, in modo da simulare scenari globali di eutrofizzazione crescente. In tutte le località usate nelle simulazioni di questa tesi, fermo restando le temperature ISPRA 2006-2009, sono state variate le concentrazioni di cibo scalarmente sino a  $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Questo è stato ottenuto semplicemente aggiungendo una quantità fissa crescente di  $+ 0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $+ 1.0 \mu\text{g L}^{-1}$  ed  $+ 1.5 \mu\text{g L}^{-1}$  rispetto alle concentrazioni medie di clorofilla

EMIS usate nell'esercizio precedente in modo da simulare scenari di eutrofia crescente. Tale analisi di sensitività si è conclusa solo quando almeno il 90% di tutte le località sono rientrate nel gruppo a *fitness* A, ossia hanno raggiunto i livelli di *fitness* massima. La soglia di entrata nel gruppo a *fitness* massima è considerata lo Stagnone di Marsala (~60.000 uova per evento riproduttivo per grammo di peso fresco), che rappresenta ad oggi il maggior *reservoir*, dimostrato, di larve dell'intero bacino del Mediterraneo occidentale (Sarà et al. 2006). Se quindi, in teoria, un certo ammontare di larve sufficiente all'instaurarsi di una popolazione (effetto Allee; Courchamp et al. 2008) raggiungesse un certo sito, le condizioni idonee di temperatura e cibo dovrebbero permettere il raggiungimento della massima *fitness* della specie invasiva e il suo insediamento stabile in seno alla comunità locale.

L'analisi di simulazione (Tab. 5.8 a, b, c, d) mostra che la *fitness* di questa specie invasiva aumenta significativamente all'aumentare del cibo disponibile che tale aumento riguarda tutte le località (PERMANOVA  $p < 0.05$ ; Tab. 5.9 a). In particolare, l'aumento di cibo ha un effetto su tutti i tratti della specie come mostrato in Fig. 5.25 (a, b, c, d). Le dimensioni, come lunghezza delle valve ed il peso, aumentano significativamente e sono differenti in media in tutte le località e tra tutti gli scenari adottati in questa simulazione. Anche variabili come i giorni necessari al raggiungimento della pubertà, che sono influenzate dalle condizioni ambientali, sono differenti tra i vari scenari e rispetto alla condizione basale EMIS attuale. A tal proposito, è possibile notare che la quasi totalità delle località già per un piccolo aumento di CHL-a (i.e., nello scenario EMIS + 0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) non presentano più differenze tra loro. A questo si associa anche il fatto che non c'è differenza significativa tra i giorni, per il raggiungimento della pubertà nel confronto tra gli scenari di eutrofia (EMIS +0.5, + 1 e + 1.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e lo scenario con EMIS attuale. Ciò supporta l'idea che per raggiungere l'omogeneità di tale variabile in tutto il bacino centro-occidentale, sarebbe solo necessario un piccolo incremento sistemico di cibo (EMIS + 0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Questo suggerisce che i tempi e la durata del ciclo riproduttivo dei molluschi bivalvi, dall'attivazione della gonade alla gametogenesi e successiva deposizione delle uova con regressione della gonade, sono controllati dall'interazione tra fattori ambientali e fattori endogeni dell'organismo (Kautsky, 1982a). E' noto infatti che ogni specie mette in atto

una varietà di adattamenti, sia genetici che non genetici, che coordinano gli eventi riproduttivi con l'ambiente, in modo da massimizzare il successo riproduttivo (Newell et al. 1982). In particolare, la deposizione dei gameti sembra fare affidamento su una combinazione di fattori endogeni (e.g., le caratteristiche genetiche) ed esogeni e, di questi ultimi, il più importante risulta essere l'interazione tra temperatura e cibo (Gray et al. 1997). Infatti, nel momento in cui si raggiunge lo stato di maturità gametogenica, dettato dai fattori endogeni, una serie di stimoli ambientali, tra i quali la temperatura ed il cibo, può dare inizio alla deposizione delle uova (Kautsky, 1982a).

Tali fatti possono avere importanti ripercussioni sul tasso di colonizzazione di questa specie in quanto anche minimi aumenti nella concentrazione di cibo disponibile, possono determinare un repentino abbassamento del tempo necessario al raggiungimento della pubertà. Se quindi un contingente di larve di questa specie raggiungesse in un numero sufficiente all'insediamento, un certo sito con concentrazioni di cibo poco superiori allo scenario EMIS attuale, si avrebbe un immediato insediamento ed un probabile allargamento delle dimensioni delle popolazioni in solo pochi mesi. Tale strategia è tipica degli organismi colonizzatori a strategia *r* e alla strategia di colonizzazione *boom-and-burst* (Cadotte et al. 2006). Essi sono in grado di raggiungere elevate densità con comportamenti che si adattano plasticamente al contesto ambientale in cui la specie si viene a trovare. Una finestra così limitata di tempo necessario a che un individuo di questa specie inizi a riprodursi, è una strategia fondamentale anche per limitare gli effetti negativi dovuti alle interazioni biotiche come competizione per lo spazio e predazione. Oltre a ciò, l'ammontare di uova prodotte per evento riproduttivo è differente significativamente tra tutti gli scenari (Fig. 5.27). In questo caso, la quasi totalità delle località raggiungerebbe una quantità media di uova per evento, simile a quelle prodotte oggi nello Stagnone di Marsala, già solo con un aumento sistemico di  $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$  di cibo in più rispetto a EMIS attuale. Questo significa che se larve di questa specie raggiungessero un qualunque sito con condizioni ottimali di temperatura e di cibo leggermente superiori alla media, esse avrebbero a disposizione due importanti strumenti per colonizzare velocemente quei substrati rocciosi: la velocità di raggiungimento dell'età puberale e una quantità molto alta di propaguli producibili per individuo. L'analisi MDS mostrata in fig. 5.26, condotta come in precedenza su tutti

i tratti e le variabili di *fitness* insieme conferma tale *pattern* di differenza tra gli scenari di eutrofia (PERMANOVA  $p < 0.05$ ; Tab. 5.9 b).

Tab. 5.8-a I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Brachidontes pharaonis* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale al variare delle condizioni di disponibilità di cibo **(a) scenario simulato con cibo attuale secondo EMIS** (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

(a)	EMIS attuale					
Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	2.27	0.43	170	32183	11	2926
Augusta	2.78	0.38	49	77920	16	4870
Augusta Power Plant	2.85	0.41	30	124976	13	9614
Bari	2.33	0.47	274	54219	11	4929
Cagliari	1.90	0.25	108	20792	13	1599
Catania	2.05	0.12	71	25793	16	1612
Civitavecchia	1.91	0.26	81	19505	17	1147
Crotone	1.82	0.22	130	17220	14	1230
Dubrovnik	1.74	0.20	299	12245	11	1113
<b>Stagnone di Marsala</b>	<b>3.93</b>	<b>3.20</b>	<b>56</b>	<b>944094</b>	<b>15</b>	<b>62940</b>
Gabes	4.65	6.21	38	4225719	16	264107
Genova	2.19	0.43	73	41504	13	3193
Lampedusa	1.63	0.15	701	7402	16	463
Livorno	2.50	0.71	90	77485	12	6457
Napoli	2.06	0.32	100	33320	12	2777
Palermo	1.73	0.18	399	11819	15	788
Palinuro	1.58	0.14	371	8579	12	715
P. Empedocle	1.62	0.15	405	5024	21	239
Porto Torres	2.01	0.32	118	24405	12	2034
Ravenna	4.29	4.60	113	1800522	9	200058
Reggio Calabria	1.51	0.12	401	7556	15	504
Salerno	1.74	0.20	347	15331	13	1179
Spalato	1.86	0.27	306	15394	11	1399
Taranto	1.84	0.25	285	20224	11	1839
Termini Power Plant	1.87	0.24	66	20577	6	3429
Trieste	3.73	2.88	109	696220	10	69622
Venice	1.61	0.06	431	7248	10	725

Tab. 5.8-b I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Brachidontes pharaonis* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale al variare delle condizioni di disponibilità di cibo **(b) scenario simulato con cibo EMIS +0.5 µg L<sup>-1</sup>** (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

(b)		EMIS +0.5 µg L <sup>-1</sup>				
Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	3.33	1.37	129	227246	11	20659
Augusta	4.10	1.41	40	341918	16	21370
Augusta Power Plant	3.24	0.95	29	318604	13	24508
Bari	3.39	1.43	104	305784	11	27799
Cagliari	3.15	1.15	68	246728	13	18979
Catania	3.24	0.62	44	218967	16	13685
Civitavecchia	3.15	1.16	42	207208	17	12189
Crotone	3.11	1.12	80	222679	14	15906
Dubrovnik	3.07	1.07	106	186825	11	16984
Stagnone di Marsala	4.08	3.77	50	1285265	15	85684
Gabes	4.66	6.30	38	4317889	16	269868
Genova	3.03	1.37	54	304639	13	23434
Lampedusa	2.78	1.00	55	186847	16	11678
Livorno	3.19	1.66	74	373921	12	31160
Napoli	2.97	1.24	72	274694	12	22891
Palermo	2.81	1.03	60	204380	15	13625
Palinuro	2.77	0.99	66	168057	12	14005
P. Empedocle	2.76	0.97	62	99880	21	4756
Porto Torres	2.94	1.23	86	258654	12	21555
Ravenna	4.35	4.89	112	2057136	9	228571
Reggio Calabria	2.73	0.95	64	169767	15	11318
Salerno	2.83	1.08	74	227742	13	17519
Spalato	2.86	1.15	129	174660	11	15878
Taranto	2.88	1.16	90	234960	11	21360
Termini Power Plant	2.87	1.14	33	292230	6	48705
Trieste	3.93	3.47	105	1027180	10	102718
Venezia	2.76	0.49	131	141847	10	14185

Tab. 5.8-c I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Brachidontes pharaonis* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale al variare delle condizioni di disponibilità di cibo (c) **scenario simulato con cibo EMIS +1.0 µg L<sup>-1</sup>** (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

(c)	EMIS +1.0 µg L <sup>-1</sup>					
Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	3.93	2.25	124	527495	11	47954
Augusta	4.11	1.42	36	652885	16	40805
Augusta Power Plant	3.60	1.45	26	621028	13	47771
Bari	3.97	2.31	95	672686	11	61153
Cagliari	3.82	2.06	58	648383	13	49876
Catania	3.89	1.17	38	542446	16	33903
Civitavecchia	3.83	2.07	36	530427	17	31202
Crotone	3.81	2.04	70	604419	14	43173
Dubrovnik	3.78	1.99	96	523938	11	47631
Stagnone di Marsala	4.18	4.22	47	1586453	15	105764
Gabes	4.67	6.38	38	4402197	16	275137
Genova	3.49	2.25	49	709762	13	54597
Lampedusa	3.34	1.93	47	580436	16	36277
Livorno	3.58	2.49	68	778873	12	64906
Napoli	3.45	2.14	63	672498	12	56042
Palermo	3.36	1.96	51	600753	15	40050
Palinuro	3.34	1.94	56	497670	12	41472
P. Empedocle	3.33	1.90	53	306009	21	14572
Porto Torres	3.43	2.13	78	670479	12	55873
Ravenna	4.41	5.14	112	2277433	9	253048
Reggio Calabria	3.32	1.89	54	512029	15	34135
Salerno	3.37	2.01	63	634622	13	48817
Spalato	3.38	2.06	124	463046	11	42095
Taranto	3.40	2.08	82	617446	11	56131
Termini Power Plant	3.39	2.08	28	824756	6	137459
Trieste	4.07	3.95	103	1326442	10	132644
Venezia	3.33	1.04	124	415598	10	41560

Tab. 5.8-d I tratti delle *life history* e la *fitness* espressa dal numero di uova in *Brachidontes pharaonis* in condizioni subtidali (i.e., sempre immerso in non oltre 1 metro d'acqua) nelle acque del Mediterraneo centro-occidentale al variare delle condizioni di disponibilità di cibo **(d) scenario simulato con cibo EMIS +1.5 µg L<sup>-1</sup>** (LT, cm = lunghezza totale all'umbone; PT = peso totale, g; TP = giorni necessari per raggiungere la taglia puberale; # uova = numero di uova emesse nel *life span* di 4 anni per grammo di peso umido; # ev ripr = numero di eventi riproduttivi (i.e., *spawning*) nel periodo dei quattro anni; Uova x ev. ripr = numero di uova per evento riproduttivo).

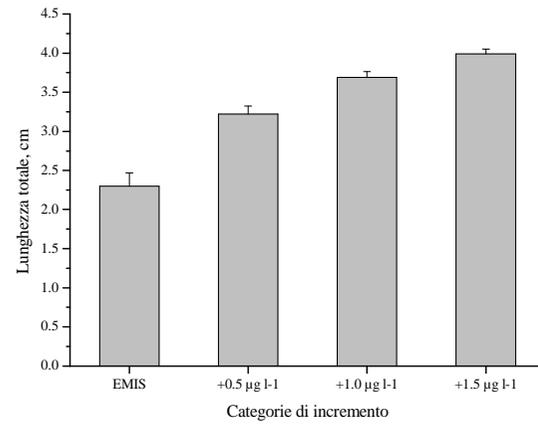
(d)	EMIS +1.5 µg L <sup>-1</sup>					
Località	LT	PT	TP	# uova	# ev ripr	Uova x ev. ripr
Ancona	4.32	2.97	121	842759	11	76614
Augusta	4.43	1.83	35	988580	16	61786
Augusta Power Plant	3.84	1.87	25	937948	13	72150
Bari	4.35	3.03	92	1051691	11	95608
Cagliari	4.24	2.82	55	1089890	13	83838
Catania	4.29	1.64	35	891352	16	55710
Civitavecchia	4.25	2.83	33	882637	17	51920
Crotone	4.24	2.81	65	1028550	14	73468
Dubrovnik	4.22	2.77	92	902180	11	82016
Stagnone di Marsala	4.27	4.59	45	1853965	15	123598
Gabes	4.69	6.45	38	4479656	16	279979
Genova	3.77	2.98	47	1141292	13	87792
Lampedusa	3.67	2.72	44	1041393	16	65087
Livorno	3.83	3.17	65	1189962	12	99164
Napoli	3.74	2.89	59	1099326	12	91611
Palermo	3.68	2.74	48	1057161	15	70477
Palinuro	3.67	2.74	52	875774	12	72981
P. Empedocle	3.66	2.69	50	545464	21	25974
Porto Torres	3.73	2.88	74	1121492	12	93458
Ravenna	4.45	5.35	111	2468174	9	274242
Reggio Calabria	3.66	2.69	50	905692	15	60379
Salerno	3.69	2.78	59	1091469	13	83959
Spalato	3.70	2.82	121	780799	11	70982
Taranto	3.71	2.84	77	1036507	11	94228
Termini Power Plant	3.70	2.87	26	1435597	6	239266
Trieste	4.18	4.35	101	1589704	10	158970
Venezia	3.66	1.53	121	726783	10	72678

Tab. 5.9-a. PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova per evento riproduttivo e tempo di maturazione) di *Brachidontes pharaonis* nel confronto tra i quattro scenari EMIS per simulare l'incremento eutrofizzazione (Df = gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

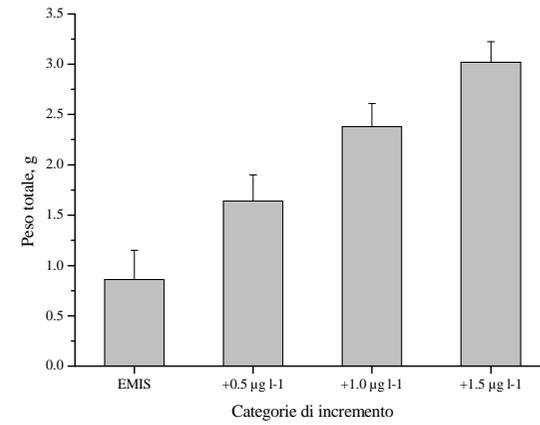
Sorgente	Df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	n
Incremento	3	209.07	69.69	42.06	0.0001 (***)	9942
Residui	104	172.32	1.66			
Totale	107	381.39				

Tab. 5.9-b. Test post-hoc della PERMANOVA effettuata sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova per evento riproduttivo e tempo di maturazione) di *Brachidontes pharaonis* nel confronto tra i quattro scenari EMIS per simulare l'incremento eutrofizzazione (D.f.= gradi di libertà; SS = somma dei quadrati; MS = quadrati medi; n = numero di permutazioni; \*\*\* = differenza significativa per  $p < 0.0001$ ).

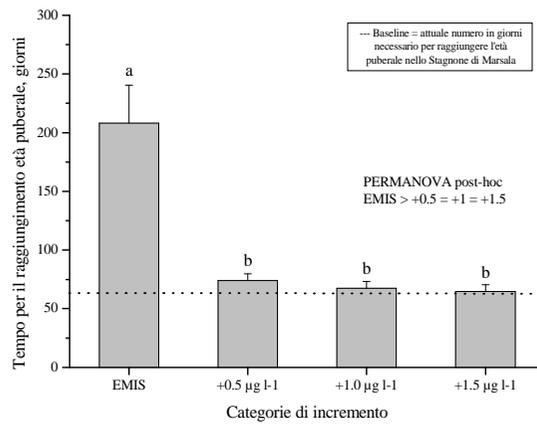
Gruppi	t	P(perm)	n
0-lev vs 0.5-lev	5.05	0.0001	9945
0-lev vs 1-lev	7.32	0.0001	9938
0-lev vs 1.5-lev	8.58	0.0001	9925
0.5-lev vs 1-lev	3.42	0.0003	9948
0.5-lev vs 1.5-lev	5.56	0.0001	9937
1-lev vs 1.5-lev	2.35	0.0062	9955



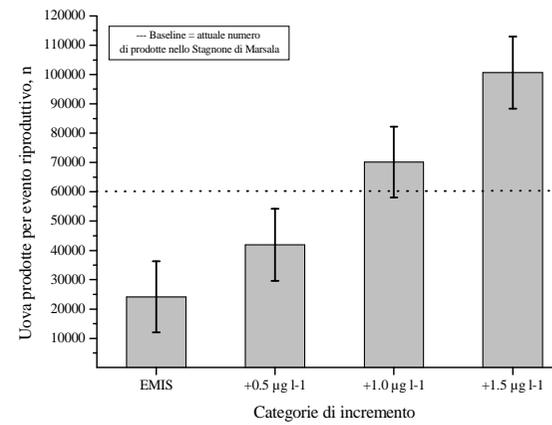
a)



b)



c)



d)

Fig. 5.25. Confronto tra i tratti e la *fitness* di *Brachidontes* al crescere delle concentrazioni di cibo disponibile nelle 27 località del Mediterraneo centro-occidentale (a) lunghezza totale media ( $\pm$  SE), (b) peso totale medio ( $\pm$  SE), (c) tempo necessario al raggiungimento della maturazione gonadica ( $\pm$  SE) e (d) numero medio totale ( $\pm$  SE).

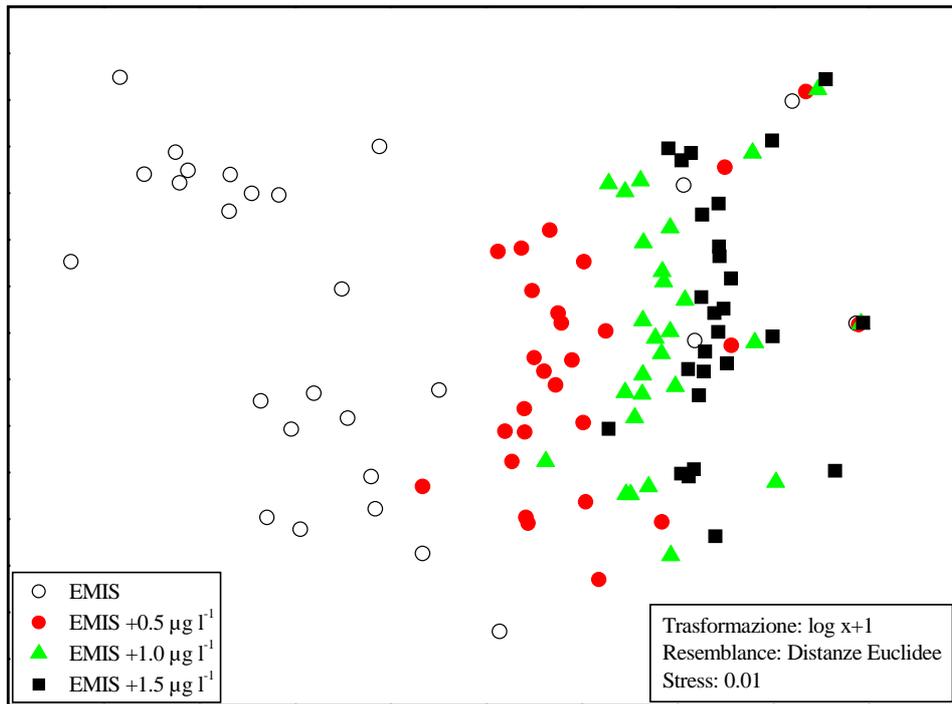


Fig. 5.26. MDS effettuato sulla matrice dei tratti (dimensioni somatiche massime raggiungibili in ogni località espresse dalla lunghezza delle valve all'umbone) e delle variabili di *fitness* (numero di uova per evento riproduttivo e tempo di maturazione) di *Brachidontes pharaonis* nel confronto tra i quattro scenari EMIS per simulare l'incremento eutrofizzazione.

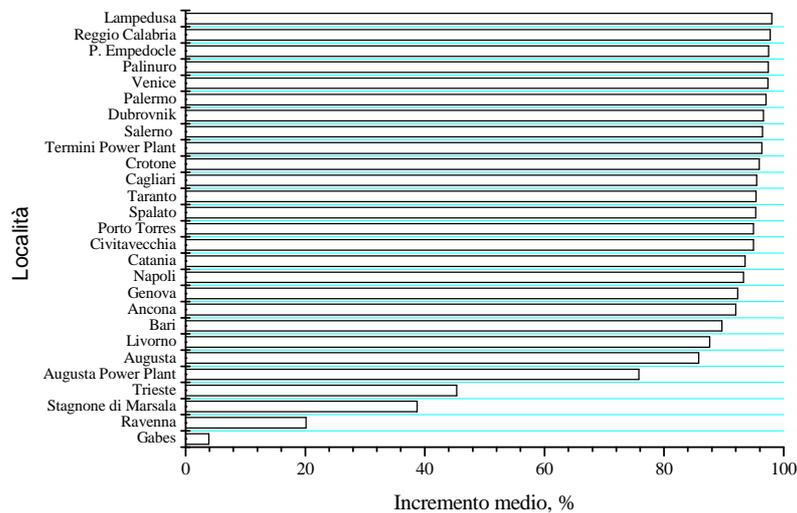


Fig. 5.27. Incremento medio in percentuale delle uova prodotte per evento in ogni località rispetto allo scenario attuale simulato con EMIS standard.

## CONCLUSIONI

Diversi autori, hanno studiato e continuano a studiare l'eco-fisiologia delle specie che popolano un habitat, al fine di capire come questi organismi possano vivere, evolvere ed adattarsi alla variabilità ambientale. Anche attraverso questo lavoro di tesi è stato possibile confermare che tra i principali fattori che influenzano le dinamiche energetiche di un organismo, vi sono la temperatura ed il cibo, variabili che, come abbiamo visto, influenzano in modo specifico il metabolismo e la *fitness* di una specie.

Il primo obiettivo raggiunto in questo lavoro è stato quello di riuscire, attraverso l'approccio bioenergetico, a stimare esattamente i parametri DEB delle specie *target*. In questo modo, è stato possibile identificare con certezza l'ammontare di energia che ogni organismo utilizza per le proprie funzioni vitali, elemento fondamentale per lo studio delle prestazioni ecologiche delle specie oggetto di studio. Inoltre, dal momento che il modello DEB può essere utilizzato per la simulazione dei tassi di crescita e di riproduzione di una specie (Kooijman et al. 2010), è stato possibile combinare i dati sperimentali delle specie oggetto di studio, con dati reali di concentrazione di cibo e temperatura, al fine di valutare la *fitness* dei tre bivalvi lungo le coste italiane. Le *performance* degli organismi sono state valutate sulla base di alcune variabili di *output* delle simulazioni. Queste variabili, comprendono i tratti distintivi principali di una specie e, rappresentano una chiave di lettura adeguata per la comprensione di come gli organismi possano rispondere ed evolvere nel tempo. Temperatura e cibo sono state scelte come variabili per le simulazioni perché esse incidono in maniera diretta sul metabolismo dell'organismo (Brown et al. 2004) e, conseguentemente, sono entrambe fondamentali nel determinare la *life history* degli organismi ectotermi.

**Considerazioni sulla temperatura.** Gli invertebrati bentonici marini generalmente possono colonizzare habitat caratterizzati da differenti condizioni biologiche e fisiche (Sebens, 2002). Nel caso delle aree intertidali mediterranee e di tutto il mondo, i costi energetici a cui sono sottoposte queste specie aumentano con la temperatura e l'esposizione (Sebens, 2002). Secondo le regole del *trade-off* energetico, gli organismi di queste popolazioni sostengono l'incremento dei costi energetici a scapito di altri processi (e.g., l'accrescimento), con una conseguente dominanza, in certe aree, solo di

alcune specie. Per tale ragione, la maggiore o minore affinità termica evidenziata durante le simulazioni per ciascuna delle specie oggetto di studio, è stata utile per spiegare la probabilità di presenza di una specie in una determinata area. In questo contesto, un altro fattore importante nel determinare la distribuzione delle specie è il *range* termico che definisce la nicchia ecologica all'interno della quale una specie mostra il corretto funzionamento dei propri tassi fisiologici (Kearney et al. 2010). I limiti inferiore e superiore della finestra termica, calcolati sotto forma di temperature di Arrhenius, hanno permesso, in combinazione agli esercizi di modellizzazione, di analizzare le eventuali sovrapposizioni delle tre specie. Infatti, la modellizzazione DEB, ha permesso di valutare il comportamento delle tre specie in funzione delle diverse temperature e conseguentemente, definirne l'areale di distribuzione possibile. Il risultato evidente è che, le specie fisiologicamente più plastiche, quindi quelle con un *range* termico più ampio come *Brachidontes pharaonis* e *Mytilus galloprovincialis*, mostrano un successo riproduttivo in un numero più ampio di aree, e potrebbero essere in grado di mettere in atto i normali processi metabolici anche in un contesto di innalzamento delle temperature ambientali. Sebbene le simulazioni effettuate hanno mostrato risultati validi, la difficoltà di valutare esattamente l'effetto reale della temperatura sul metabolismo degli ectotermi, rimane un elemento intrinseco ad ogni esercizio di simulazione (Sarà et al. 2012).

**Potenziale riproduttivo.** Un aspetto importante nell'utilizzo del modello DEB è che esso consente di stimare il potenziale riproduttivo degli organismi per i quali sono noti i parametri energetici essenziali (*sensu* Sarà et al. 2012). Per gli organismi a crescita indeterminata (cioè quelli che maturano le gonadi nonostante non abbiano raggiunto la taglia massima; *sensu* Charnov, 1993), come molti invertebrati marini, è noto che maggiore è l'energia disponibile dall'ambiente, maggiore sarà quella utilizzata per la crescita ed il mantenimento delle gonadi. Un'elevata qualità e quantità delle gonadi, all'interno di una specie, è la *condicio sine qua non* che porta alla formazione di popolazioni stabili nel tempo (Sebens, 2002). Anche in questo caso, le simulazioni effettuate per le tre specie hanno mostrato l'efficacia di questo approccio per lo studio della *fitness* di un organismo. Infatti, comparando il numero di uova su base quadriennale che un organismo può produrre in una data area (in funzione di quella

determinata temperatura e della densità di cibo), è possibile comprendere quale sarà il potenziale riproduttivo dell'intera specie in quell'area. Ad esempio nel caso della specie *Brachidontes pharaonis* trova condizioni idonee al raggiungimento di una *fitness* elevata ovunque nelle località studiate, a parte Lampedusa e Venezia. Inoltre, attraverso le simulazioni effettuate, è stato possibile comprendere che in alcuni casi, a determinare la capacità riproduttiva di una specie non contribuiscono solo temperatura, cibo e caratteristiche energetiche, ma vi sono anche fattori pratici che possono influire sulla dispersione larvale (e.g., barriere fisiche), che non permettono il raggiungimento dell'ammontare di larve sufficiente all'instaurarsi di una popolazione.

**Affidabilità del modello.** Una delle conclusioni più evidenti, da quanto detto sinora, è che l'utilizzo combinato della stima sperimentale dei parametri DEB e delle simulazioni, è un modello di studio della *fitness* dei bivalvi altamente affidabile. Infatti, confrontando i dati di *output* ottenuti dalla simulazione, con quelli reali delle stesse specie derivanti da osservazioni nelle aree utilizzate nel modello (come nel caso di *Mytilaster minimus*) e da dati di letteratura (come nel caso di *Brachidontes pharaonis* e *Mytilus galloprovincialis*), risulta un'elevata similarità dei valori, soprattutto per quanto concerne i valori della lunghezza massima raggiungibile dagli organismi. Attraverso l'utilizzo di questo modello è stato possibile rispondere alle domande ecologiche poste come obiettivi dell'esercizio di modellizzazione.

i) Le *performance* del modello permettono di distinguere alcune aree del Mediterraneo centro-occidentale in funzione della *fitness* potenzialmente raggiungibile dai molluschi bivalvi analizzati. Tuttavia, in alcuni casi la simulazione DEB ammette la presenza di *M. galloprovincialis* e *M. minimus* in aree dove non è stata riscontrata, caratterizzate da condizioni chimico-fisiche diverse da quelle predilette dalle due specie.

ii) Sicuramente, come evidenziato sia dalla simulazione che dalla stima dei parametri DEB, la specie invasiva *B. pharaonis* possiede delle strategie e delle caratteristiche energetiche tali che la rendono dominante anche se sottoposta a particolari condizioni di temperatura e cibo.

iii) Come evidenziato più volte in questo lavoro di tesi, è possibile confermare che temperatura e cibo sono le due variabili principali ad influenzare la *fitness* delle specie oggetto di studio (soprattutto per quanto riguarda *B. pharaonis*), in particolare in quanto

esse gestiscono in maniera diretta i processi metabolici che le specie mettono in atto, e quindi ne stabiliscono le caratteristiche energetiche che sono alla base delle *life history* di ogni organismo.

iv) Infine, il vantaggio maggiore dell'utilizzo del modello è che attraverso questo è possibile predire l'espansione di queste specie sulle coste italiane al variare delle condizioni trofiche.

Sebbene ancora sia necessario approfondire le conoscenze sul funzionamento eco-fisiologico di una specie, attraverso l'utilizzo delle simulazioni è possibile anticipare il comportamento di una specie di cui sono noti i principali parametri energetici DEB. In questo modo, sarà altrettanto possibile prevedere la distribuzione geografica di un organismo in funzione della temperatura ambientale ed avanzare ipotesi future in un contesto di cambiamento climatico.

Un obiettivo per il futuro sarà quello di associare allo studio meccanicistico e bioenergetico delle risposte eco-fisiologiche degli organismi alla variabilità ambientale, un'analisi più a larga scala dell'effetto potenziale che la perdita di determinate specie genera sui beni e i servizi collegati agli ecosistemi ad elevata biodiversità. Ciò, al fine di poter attuare, in futuro, una gestione degli ecosistemi marini naturali che coinvolga, oltre agli aspetti ecologici, anche quelli delle sfere economica e politica.

## **Ringraziamenti**

Questo lavoro di tesi è il risultato degli insegnamenti, dei consigli e dei suggerimenti di alcune persone che vorrei ringraziare:

il Prof. Bas Kooijman per avermi introdotta e seguita nel complesso mondo DEB; i colleghi (ed amici) del Laboratorio di Ecologia Sperimentale e del Comportamento (Università degli Studi di Palermo) Alessandro Rinaldi e Valeria Montalto, perché con la loro preparazione e competenza mi hanno aiutata in ogni fase di questo progetto; Natalia Niceta, Serena Savarino, Claudia Grillo e Roberto Firmamento per la collaborazione in campo ed in laboratorio; la Dott. ssa Gaetana Gambino per la revisione dei contenuti matematici; il Dott. Filippo Carlo Luzzu per la consulenza sulle immagini GIS; Gianluca Savalli per il supporto nell'utilizzo di Matlab; Mario Caruso per il sostegno morale.

## Bibliografia

- Allen, A.P., Brown, J.H., Gillooly, J.F., 2002. Global biodiversity, biochemical kinetics, and the energetic-equivalence rule. *Science* 297: 1545-1548.
- Alunno-Bruscia, M.A., Henk, W., van der Veer, H.W., Kooijman, S.A.L.M., 2009. The AquaDEB project (phase I): analysing the physiological flexibility of aquatic species and connecting physiological diversity to ecological and evolutionary processes by using Dynamic Energy Budgets. *J. Sea Res.* 62: 43-48.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 26: 32-46.
- Angilletta, J.R., Steury, T.D., Seares, M.W., 2004. Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integr. Comp. Biol.* 44: 498-509.
- Arrhenius, S., 1889. *Z. Phys. Chem.* 4: 226-248.
- Bacher, C., Gangnery, A., 2006. Use of dynamic energy budget and individual based models to simulate the dynamics of cultivated oyster populations. *J. Sea Res.* 56: 140-155.
- Badano, E.I., Marquet, P.A., 2008. Ecosystem engineering affects ecosystem functioning in high-Andean landscapes. *Oecologia* 155: 821-829.
- Badano, E.I., Cavieres, L.A., 2006a. Ecosystem engineering across ecosystems: do engineer species sharing common features have generalized or idiosyncratic effects on species diversity? *J Biogeogr* 33: 304-313.
- Barnes, R.D., 1980. *Invertebrate Zoology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Bayne, B.L., Bayne, C.J., Carefoot, T.C., Thompson, R.J., 1976. The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad. *Oecologia* 22: 211-228.
- Bayne, R.A.L., Broccoli, D., Taggart, M.H., Thomson, E.J., Farr, C.J., Cooke, H.J., 1994. Sandwiching of a gene within 12 kb of a functional telomere and  $\alpha$ -satellite does not result in silencing. *Hum. Mol. Genet.* 3: 539-546.
- Bayne, B.L., Newell, R.I.E., 1983. Physiological energetics of marine molluscs, the Mollusca. *Physiology*, part I, vol. 4. Acad. Press, New York.
- Bayne, B.L., Thompson, R.J. Widdows, J., 1976b. *Physiology: I*, p.121-206. *In* B.L. Bayne [eds]. *Marine mussels - their ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Benedetti-Cecchi, L., Bertocci, I., Vaselli, S., Maggi, E., 2006. Temporal variance reverses the ecological impact of high mean intensity of stress in climate change experiments. *Ecology* 87: 2489-2499.
- Bergquist, D.C., Fleckenstein, C., Szalai, E.B., Knisel, J., Fisher, C.R., 2004. Environment drives physiological variability in the cold seep mussel *Bathymodiolus childressi*. *Limnol. Oceanogr.* 49: 706-715.

- Bertness, M.D., 1984. Ribbed mussels and *Spartina alterniflora* production in a New England salt marsh. *Ecology* 65: 1794-1807.
- Bianchi, T.S. Levinton, J.S. 1981. Nutrition and food limitation of deposit-feeders. II: Differential effects of *Hydrobia totteni* and *Ilyanassa obsoleta* on the microbial community. *J. Mar. Res.* 39: 547-556.
- Bownes, S.J., McQuaid, C.D., 2006. Will the invasive mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck replace the indigenous *Perna perna* L. on the south coast of South Africa? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 338: 140-151.
- Braby, C.E., Somero, G.N., 2006. Ecological gradients and relative abundance of native (*Mytilus trossulus*) and invasive (*Mytilus galloprovincialis*) blue mussels in the California hybrid zone. *Mar. Biol.* 148: 1249-1262.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., 2003. Ecological food webs: high-quality data facilitate theoretical unification. *P. Natil. Acad. Sci. USA* 100: 1467-1468.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B., 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85: 1771-1789.
- Cadotte, M.W., McMahon, S.M., Fukami, T., 2006. Conceptual ecology and invasion biology: reciprocal approaches to nature. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Calvo, S., Ciraolo, G., La Loggia, G., Malthus, T.J., Savona, E., Tomasello, A., 1996. Monitoring *Posidonia oceanica* meadows in the Mediterranean Sea by means of airborne remote sensing techniques. Proceedings Second International Airborne Remote Sensing Conference and Exhibition, San Francisco, California.
- Calvo, S., Genchi, G., Lugaro, A., Di Bernardo, F., 1982. Misure comparative di Eh nei sedimenti delle saline di Marsala. *Naturalista siciliano*, 2: 219-230.
- Calvo, S., Tomasello, A., Di Maida, G., Pirrotta, M., Cristina Buia, M.C., Cinelli, F., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G., Luzzu, F., Mazzola, A., Orestano, C., Procaccini, G., Sarà, G., Scannavino, A., Vizzini, S. 2010. Regional pattern of seagrass features in the central Mediterranean: a synthesis from Sicilian coasts. *Chem. Ecol.* 26: 249-266.
- Cannon, W.B., 1932. The wisdom of the body. New York, Norton.
- Cardoso, J.F.M.F., Langlet, D., Loff, J.F., Martins, A.R., Witte, J.I.J., Santos, P.T., van der Veer, H.W., 2007. Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) along the west European coast. *J. Sea Res.* 57: 303-315.
- Cardoso, J.F.M.F., Witte, J.I.J., van der Veer, H.W., 2006. Intra-and interspecies comparison of energy flow in bivalve species in Dutch coastal waters by means of the Dynamic Energy Budget (DEB) theory. *J. Sea Res.* 56: 182-197.
- Carmichael, R.H., Shriver, A.C., Valiela, I., 2004. Change in shell and soft tissue growth, tissue composition, and survival of quahogs, *Mercenaria mercenaria*, and softshell clams, *Mya arenaria*, in response to eutrophic-driven changes in food supply and habitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 313: 75-104.

- Cerrato, R.M., 2000. What fish biologists should know about shells. *Fish. Res.* 46: 39-49.
- Charnov, E.L., 1993. *Life history invariants: some explorations of symmetry in evolutionary ecology.* Oxford Univ. Press, Oxford.
- Chase, J.M., Leibold, M.A., 2003. *Ecological niches.* Chicago University Press, Chicago.
- Cicciari, A., Badalamenti, F., Chemello, R., Gianguzza, P. Raggio, S., 1996. Struttura bionomica del popolamento a policheti della vasca di fredda di una Salina marsalese. *Atti del 17° Congresso Nazionale S.I.t.E., Napoli*, 423-426.
- Clarke, A. 2004. Is there a Universal Temperature Dependence of metabolism? *Funct. Ecol.* 18: 252-256.
- Clarke, A., Fraser, K.P.P., 2004. Why does metabolism scale with temperature? *Funct. Ecol.* 18: 243-251.
- Conover, R.J., 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11: 338-354.
- Corsolini S., Sarà G., Borghesi N., Focardi S., 2007. HCB, p,p'-DDE and PCB ontogenetic transfer and magnification in bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea. *Environ. Sci. Technol.* 41: 4227-4233.
- Coughlan, J., 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Mar. Biol.* 2: 356-358.
- Courchamp, F.L.B., Gascoigne, J., 2008. *Allee Effects in Ecology and Conservation.* Oxford University Press, Oxford.
- Dame, R., 1996. Ecology of marine bivalves: an ecosystem approach. *Mar. Science Ser.* 272 p.
- Dance, S.P., Ward, M., 2002. *Shells: the photographic recognition guide to Seashells of the World (Smithsonian Handbooks).* DK Publishing, New York.
- De Groot, R.S., 1992. *Functions of Nature: Evaluation of Nature in Environmental Planning, Management and Decision Making.* Wolters-Noordhoff, Groningen.
- De Groot, R.S., Wilson, M.A., Boumans, R.M.J., 2002. A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecol. Econ.* 41: 393-408.
- Dodson, S.I., Allen, T.F.H., Carpenter, S.R., Ives, A.R., Jeanne, R.L., Kitchell, J.F., et al., 2000. *Ecologia.* Zanichelli, Bologna.
- Duarte, C., 2007. Marine ecology warms up to theory. *Trends Ecol. Evol.* 22: 331-333.
- Edwards, M., Richardson, A.J., 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430: 881-884.
- Ezgeta-Balic, D., Rinaldi, A., Peharda, M., Prusina, I., Montalto, V., Niceta, N., Sarà, G., 2011. An energy budget of the subtidal bivalve, *Modiolus barbatus* (Mollusca) at different temperatures. *Mar. Environ. Res.* 71: 79-85.

- Feder, M.E., Blair, N., Figueras, H., 1997. Natural thermal stress and heat-shock protein expression in *Drosophila* larvae and pupae. *Funct. Ecol.* 11: 90-100.
- Fenchel, T. Kofoed, L.H., 1976. Evidence for exploitative interspecific competition in mud snails (Hydrobiidae). *Oikos* 27: 367-376.
- Filgueira, R., Rosland, R., Grant, J., 2011. A comparison of scope for growth (SFG) and dynamic energy budget (DEB) models applied to the blue mussel (*Mytilus edulis*). *J. Sea Res.* doi:10.1016.
- Fishelson, L., 2000. Comparative morphology and cytology of siphons and siphonal sensory organs in selected bivalve molluscs. *Mar. Biol.* 137: 497-509.
- Flach, E.C., 1996. The influence of the cockle, *Cerastoderma edule*, on the macrozoobenthic communities of tidal flats of the Wadden sea. *PSZN Mar. Ecol.* 17: 87-98.
- Freitas, V., Cardoso, J.F.M.F., Lika, K., Peck, M.A., Campos, J., Kooijman, S.A.L.M., van der Veer, H.W., 2011. Temperature tolerance and energetics: a dynamic energy budget-based comparison of North Atlantic marine species. *Phil. Trans. Royal Soc. B* 365: 3553-3565.
- Galil, B.S., 2000. A sea under siege – alien species in the Mediterranean. *Biol. Invasions* 2: 77–186.
- Galil, B.S., 2007. Seeing Reed: Alien species along the Mediterranean coast of Israel. *Aquat. Invasions* 2: 281-312.
- Garali, A.B., Ouakad, M., Gueddari, M., 2010. Geochemistry and ionic interaction in the Bizerte Lagoon waters (Northern Tunisia). *J. Ocean. Mar. Scien.* 2: 1-9.
- Genchi, G., Calvo, S., Lugaro, A., 1982. Le saline di Marsala: caratteristiche chimico-fisiche. *Naturalista siciliano* 2: 209-219.
- Gilbert, M.A., 1973. Growth rate, longevity and maximum size of *Macoma balthica* (L.). *Biol. Bull.* 145: 119-126.
- Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M., Charnov, E.L., 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science* 293, 2248-2251.
- Gnaiger, E., 1983. Heat dissipation and energetic efficiency in animal anoxibiosis: economy contra power. *J. Exp. Zool.* 228: 471-490.
- Gosling, E.M., 2003. Bivalve molluscs: Biology, ecology and culture. p. 443, Blackwell Publishing.
- Gosling, E.G., 1992. The Mussel *Mytilus* : ecology, physiology, genetics, and culture. Elsevier, Amsterdam; New York.
- Graf, G., Bengtsson, W., Diesner, U., Schulz, R., Theede, H., 1982. Benthic responses to sedimentation of a spring phytoplankton bloom - process and budget. *Mar. Biol.* 67: 201-208.
- Gray, A.P., Seed, R., Richardson, C.A., 1997. Reproduction and growth of *Mytilus edulis chilensis* from the Falkland Islands. *Sci. Mar.* 61: 39-48.

- Griffiths, R.J., 1980. Natural food availability and assimilation in the bivalve *Choromytilus meridionalis*. *Mar. Ecol.* 3: 151-156.
- Gross, L., 2009. Metabolism Predicts Ecological Response to Warming. *PLoS Biol.* 7: e1000180.
- Gutierrez, J.L., Jones, C.L., Stayer, D.L., Iribarne, O.O., 2003. Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* 101: 79-90.
- Hall-Spencer J.M., Rodolfo-Matalpa R., Martin S., Ransome E., Fine M., Turner S. M., et al., 2009. Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature* 454: 96-99.
- Halldórsson, H.P., De Pirro, M., Romano, C., Svavarsson, J., Sarà, G., 2007. Immediate biomarker responses to benzo[a]pyrene in polluted and unpolluted populations of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) at high-latitudes. *Environ. Int.* 34: 483-489.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., et al., 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319: 948-952.
- Harley, C.D.G., Hughes, A.R., Hultgren, K.M., Miner B.G., Sorte, C.J.B., Thornber, C.S., et al., 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecol. Lett.* 9: 228-241.
- Hawkins, A.J.S, Bayne, B.L., 1992. Physiological interrelation and the regulation of production. *In* E.M. Gosling [eds]. *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and Culture*, p. 171-222. Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam.
- Helmuth, B.S.T., 1998. Intertidal mussel microclimates: predicting the body temperature of a sessile invertebrate. *Ecol. Monogr.* 68, 51-74.
- Helmuth, B., 1999. Thermal biology of rocky intertidal mussels: quantifying body temperatures using climatological data. *Ecology*, 80: 15-34.
- Hill, W.R., Boston, H.L. Steinman, A.D., 2000. Grazers and nutrients simultaneously limit lotic primary productivity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 504-512.
- Hofmann, G.E., Somero, G.N., 1995. Evidence for protein damage at environmental temperatures: seasonal changes in levels of ubiquitin conjugates and HSP70 in the intertidal mussel *Mytilus trossulus*. *J. Exp. Biol.* 198: 1509-1518.
- Holling, C.S., 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Can. Entomol.* 91: 385-398.
- Hutchinson, G.E., 1965. *The ecological theater and the evolutionary play*. Yale University Press, New Haven.
- IPCC, 2007. *Climate Change 2007: Mitigation of Climate Change*. Contribution of working group III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, eds. Metz B, Davidson OR, Bosch PR, Dave R, Meyer LA (Cambridge Univ Press, Cambridge, UK).
- Jones P.D., Osborn T.J., Briffa K.R., 1997. Estimating sampling errors in large-scale temperature average. *J Clim.* 10: 2548-2568.

- Kautsky, N., 1982a. Quantitative studies on gonad cycle, fecundity, reproductive output and recruitment in a Baltic *Mytilus edulis* population. *Mar. Biol.* 68: 143-160.
- Kearney, M., Porter, W., 2009. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species ranges. *Ecol. Lett.* 12: 334-350.
- Kearney, M., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Helmuth, B., 2010. Modelling the ecological niche from functional traits. *P. Roy. Soc. B-Biol. Sci.* 365: 3469-3483.
- Kleiber, M., 1961. *The fire of life*. Wiley, New York.
- Kooijman, S.A.L.M., 1986a. Population dynamics on the basis of energy budgets, p 266-297. *In* J.A.J. Metz e O. Diekmann [eds]. *The dynamics of physiologically structured populations*. Lecture Notes in Biomathematics. Springer Verlag, Berlin.
- Kooijman, S.A.L.M., 1993. *Dynamic energy budgets in biological systems. Theory and applications in ecotoxicology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kooijman, S.A.L.M., 1998. The Synthesizing Unit as model for the stoichiometric fusion and branching of metabolic fluxes. *Biophys. Chem.* 73: 179-188.
- Kooijman, S.A.L.M., 2000. *Dynamic energy and mass budgets in biological systems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kooijman, S.A.L.M., 2001. Quantitative aspects of metabolic organization: a discussion of concepts. *Phil. Trans. Royal Soc. B* 356: 331-349.
- Kooijman, S.A.L.M., 2009. *Dynamic energy budget theory for metabolic organization*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kooijman, S.A.L.M. 2010. *Dynamic Energy Budget theory for metabolic organisation*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kubaneck, J., Hicks, M.K., 2005. Does the red tide dinoflagellate *Karenia brevis* use allelopathy to outcompete other phytoplankton? *Limnol. Oceanogr.* 50: 883-895.
- Le Gal, Y., 1988. *Biochim. Marin.*, Masson Paris.
- Lee, S.Y., Morton, B., 1985. the Hong Kong Mytilidae. *In* B., Morton, D., Dudgeon [eds]. *Proceedings of the second international workshop of the malacofauna of Hong Kong and southern China*, Hong Kong, 1983. Hong Kong universitu Press, Hong Kong.
- Levin, S.A., 2009. *The Princeton guide to ecology*. Princeton University Press, Princeton.
- Losos, J.B., 2009. *Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of anoles*. University of California Press, Berkeley.
- Mac Donalds, B.A., Thomas, M.L.H., 1980. Age Determination of the Soft-Shell Clam *Mya arenaria* Using Shell Internal Growth Lines. *Mar. Biol.* 58: 105-109.
- Manganaro A., Pulicanò G., Reale A., Sanfilippo M., Sarà G., 2009. Filtration pressure by bivalves affects the trophic conditions in Mediterranean shallow ecosystems. *Chem. Ecol.* 25:467-478.

- Mayzaud, P., Chanut, J.P., Ackman, R.G., 1989. Seasonal-changes of the biochemical-composition of marine particulate matter with special reference to fatty-acids and sterols. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 56: 189-204.
- Mazzola, A., Bergamasco, A., Calvo, S., Caruso, G., Chemello, R., Colombo, F., et al., 2010. Sicilian transitional areas: state of the art and future development. *Chem. Ecol.* 26: 267-283.
- Mazzola, A., Sarà, G., 1995. Caratteristiche idrologiche di una laguna costiera mediterranea (Stagnone di Marsala - Sicilia Occidentale): ipotesi di un modello qualitativo di circolazione lagunare. *Naturalista Siciliano* 19: 229-277.
- McQuaid, C.D., Phillips, T.E., 2000. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 201: 211-220.
- Michaelis, L., Menten, M.L., 1913. Die kinetik der invertinwirkung. *Biochim. Z.* 49: 333-369.
- Menge, B.A., Chan, F., Lubchenco, J. 2008. Response of a rocky intertidal ecosystem engineer and community dominant to climate change. *Ecol. Lett.* 11: 151-162.
- Navarro, J.M., Thompson, R.L., 1995. Seasonal fluctuations in the size spectra, biochemical composition and nutritive value of the seston available to a suspension-feeding bivalve in a subarctic environment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 125: 95-106.
- Newell, R.I.E., Hilbish, T.J., Koehn, R.K., Newell, C.J., 1982. Temporal variation in the reproductive cycles of *Mytilus edulis* L. (Bivalvia, Mytilidae) from localities on the east coast of the United States. *Biol. Bull.* 162: 299-310.
- Newell, R.I.E., Ott, J.A., 1999. Macrobenthic Communities and Eutrophication. *In* T.C., Malone, Smadlaka, N.A., Malej, A., Harding, L.W. [eds]. Ecology and ecosystem function of benthic communities in Chesapeake Bay and the Northern Adriatic Sea. *In*. Land-Use Water quality and fisheries: a comparative ecosystem analysis of the northern Adriatic Sea and the Chesapeake Bay. Coastal and Estuarine comparisons series, American Geophysical Union.
- Newcombe, C.L., 1935. Growth of *Mya arenaria* in the Bay of Fundy region. *Can. J. Res.* 13: 97-137.
- Nisbet, R.M., McCauley, E., Johnson, L.R., 2011. Dynamic energy budget theory and population ecology: lessons from *Daphnia*. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365: 3541-3552.
- Nisbet, R.M., Muller, E.B., Lika, K., Kooijman, S.A.L.M., 2000. From molecules to ecosystems through dynamic energy budget models. *J. Anim. Ecol.* 69: 913-926.
- Odum, E.P., 1953. *Fundamentals of Ecology*. Philadelphia, W. B. Saunders
- Palmer, M.R., Nepf, H.M., Pettersson, T.J.R., 2004. Observations of particle capture on a cylindrical collector: Implications for particle accumulation and removal in aquatic systems. *Limnol. Oceanogr.*, 49: 76-85.
- Peck, L.S., Clark, M.S., Morley, S.A., Massey, A., Rossetti, H., 2009. Animal temperature limits and ecological relevance: effects of size, activity and rates of change. *Funct. Ecol.* 23: 248-256.

- Peck, L.S., Webb, K.E., Bailey, D.M., 2004. Blackwell Publishing, Ltd. Extreme sensitivity of biological function to temperature in Antarctic marine species. *Funct. Ecol.* 18: 625-630.
- Perrin, N., Sibly, R.M., 1993. Dynamic Models of Energy Allocation and Investment. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 379-410.
- Petchey, O.L., McPhearson, P.T., Casey T.M., Morin P.J., 1999. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature* 402: 69-72.
- Peterson, C. H., 1982. Clam predation by whelks (*Busycon* spp.): experimental tests on the importance of prey size, prey density and seagrass cover. *Mar. Biol.* 66: 159-170.
- Peterson, C.H. Black, R., 1987. Resource depletion by active suspension feeders on tidal flats: influence of local density and tidal elevation. – *Limnol. Oceanogr.* 32: 143-166.
- Peterson, C.H. Black, R., 1991. Preliminary evidence for progressive sestonic food depletion in incoming tide over a broad tidal sand flat. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 32: 405-414.
- Petes, L.E., Menge, B.A., Chan, F., Webb, M.A.H., 2008b. Gonadal tissue color is not a reliable indicator of sex in rocky intertidal mussels. *Aquat. Biol.* 3: 63-70.
- Pihl, L., Rosenberg, R., 1984. Food selection and consumption of the shrimp *Crangon crangon* in some shallow marine areas in western Sweden. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 15: 159-168.
- Pouvreau, S., Bourles, Y., Lefebvre, S., Gangnery, A., Alunno-Bruscia, M., 2006. Application of a dynamic energy budget model to the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, reared under various environmental conditions. *J. Sea Res.* 56: 156-167.
- Prosser, C.L., 1986. *Adaptation biology: molecules to organism.* Wiley J. & Sons., New York.
- Ren, J.F., Schiel, D.R., 2008. A dynamic energy budget model: parameterisation and application to the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand waters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 361: 42-48.
- Rilov, G., Benayahu, Y., Gasith, A., 2004. Prolonged lag in population outbreak of an invasive mussel: a shifting-habitat model. *Biol. Invasions* 6: 347-364.
- Rilov, G., Gasith, A., Benayahu, Y., 2002. Effect of an exotic prey on the feeding pattern of a predatory snail. *Mar. Environ. Res.* 54: 85-98.
- Riisgård, H.U., Seerup, D.F., 2003. Filtration rates in the soft clam *Mya arenaria*: effects of temperature and body size. *Sarsia* 88: 415-42.
- Rinaldi, A., 2011. La nicchia ecologica, la nicchia termica e l'integrazione tra i tratti funzionali e il modello DEB per la gestione e la conservazione delle aree marino costiere. Tesi di Dottorato XXV Ciclo, Università di Messina, pp. 51.
- Roff, D. A., 1992. *The evolution of life histories.* Chapman and Hall, New York.
- Safriel, U.N., Sasson Frosting, Z., 1988. Can colonizing mussel outcompete indigenous mussel? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 117: 211-226.

- Sarà G., Leonardi, M., Mazzola, A., 1999. Spatial and temporal changes of suspended matter in relation to wind and vegetation cover in a Mediterranean shallow coastal environment. *Chem. Ecol.* 16: 151-173.
- Sarà, G., 1994. Effetti delle condizioni trofiche ed ambientali sull'accrescimento di *Mytilus galloprovincialis* (LMK 1819) in un parco open-sea nel Golfo di Castellammare (TP - Sicilia). Tesi Dottorale, Università degli Studi Messina. pp. 101.
- Sarà, G., 2006. Hydrodynamic effect on the origin and quality of organic matter for bivalves: an integrated isotopical, biochemical and transplant study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 328: 65-73.
- Sarà, G., 2007. Sedimentary and POM: mixed sources for *Cerastoderma glaucum* in a Mediterranean shallow pond. *Aquat. Living Resour.* 20: 271-277.
- Sarà, G., 2009. Variation of suspended and sedimentary organic matter with depth in shallow coastal waters. *Wetlands* 29: 1234-1242.
- Sarà, G., De Pirro, M., 2011. Heart beat rate of invasive *Brachidontes pharaonis* with respect to the native *Mytilaster minimus* within the Mediterranean Sea at varying salinities. *Ital. J. Zool.* 78: 193-197.
- Sarà, G., Kearney, M., Helmuth, B., 2011a. Combining heat-transfer and energy budget models to predict local and geographic patterns of mortality in Mediterranean intertidal mussels. *Chem. Ecol.* 27: 135-145.
- Sarà, G., Lo Martire, M., Sanfilippo, M., Pulicanò, G., Cortese, G., Mazzola, A., Manganaro, A. and Pusceddu, A., 2011b. Impacts of marine aquaculture at large spatial scales: evidences from N and P catchment loading and phytoplankton biomass. *Mar. Env. Res.* 71: 317-324.
- Sarà, G., Manganaro, A., Cortese, G., Pusceddu, A., Mazzola, A., 1998. The relationship between food availability and growth of *Mytilus galloprovincialis* (LMK, 1819) in the open-sea (South Mediterranean). *Aquaculture* 167: 1-15.
- Sarà, G., Pusceddu, A., 2008. Scope for growth of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk., 1819) in oligotrophic coastal waters (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). *Mar. Biol.* 156: 117-126.
- Sarà, G., Reid, G.K., Rinaldi, A., Palmeri, V., Troell, M., Kooijman, S.A.L.M., 2012. Growth and reproductive simulation of candidate shellfish species at fish cages in the Southern Mediterranean: Dynamic Energy Budget (DEB) modelling for integrated multi-trophic aquaculture. *Aquaculture* 324-325: 259-266.
- Sarà, G., Romano, C., Widdows, J., Staff, F.J., 2008. Effect of salinity and temperature on feeding physiology and scope for growth of an invasive species (*Brachidontes pharaonis* - Mollusca: Bivalvia) within the Mediterranean sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 363: 130-136.
- Sarà, G., Romano, M., Mazzola, A., 2000. The new Lessepsian entry *Brachidontes pharaonis* (Fischer P, 1870) (Bivalvia, Mytilidae) in the western Mediterranean: a physiological analysis under varying natural conditions. *J. Shellfish Res.* 19: 967-977.

- Sarà, G., Romano, M., Mazzola, A., 2006. A new Lessepsian species in the western Mediterranean (*Brachidontes pharaonis* Bivalvia: Mytilidae): density, resource allocation and biomass. Mar. Fresh. Biodiv. Published on line. doi:10.1017/S175526720600087X(<http://journals.cambridge.org/action/displayJournal?jid=MBD>).
- Sarà, G., Vizzini, S., Mazzola, A., 2003. Sources of carbon and dietary habits of new Lessepsian entry *Brachidontes pharaonis* (Bivalvia, Mytilidae) in the western Mediterranean. Mar. Biol. 143: 713-722.
- Sarà, G., Zenone, A., Tomasello, A., 2009. Growth of *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) close to fish farms: a case of integrated multi-trophic aquaculture within the Tyrrhenian Sea. Hydrobiologia 636: 129-136.
- Saraiva, S., van der Meer, J., Kooijman, S.A.L.M., Sousa, T., 2011. DEB parameters estimation for *Mytilus edulis*. J. Sea Res. doi:10.1016/j.sereas.2011.06.002.
- Seed, R., Suchanek, T.H., 1992 population and community ecology of mytilus. In E.M. Gosling [eds]. The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and Culture, p. 87-169. Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam.
- Smaal, A.C., Verhagen, J.H.G., Coosen, J., Haas, H.A., 1986. Interaction between seston quantity and quality and benthic suspension feeders in the oosterschelde, The Netherlands. Ophelia 26: 385-399.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1981. Biometry, Ed. 2. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Sørensen, J.G., Kristensen, T.N., Loeschcke, V., 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. Ecol. Lett. 6: 1025-1037.
- Sousa, T. Domingos, T. Poggiale, J.C., Kooijman S.A.L.M., 2010 Dynamic energy budget theory restores coherence in biology. Phil. Trans. R. Soc. B 365: 3413-3428.
- Slobodkin, L.B., Richman, S., 1961. Calories/gram in species of animals. Nature 191: 299.
- Stearns, S.C., 1992 The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford.
- Stegen, J.C., B.J., Enquist, Ferriere, R., 2009. Advancing the metabolic theory of biodiversity. Ecol. Lett. 12: 1001-1015.
- Stevenson, J.A., Dickie, L.M., 1954. Annual growth ring's and rate of growth of the giant scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) in the Digby area of the Bay of Fundy. J. Fish. Res. Board of Canada, 11: 660-671.
- Strathmann, R.R., Strathmann, M.F., 1982. The relationship between adult size and brooding in marine invertebrates. Am. Nat. 119: 91-101.
- Underwood, A.J., 1997. Environmental decision-making and the precautionary principle: what does this principle mean in environmental sampling practice? Landscape Urban Plan. 37: 137-146.
- van der Meer, J., 2006. An introduction to Dynamic Energy Budget (DEB) models with special emphasis on parameter estimation. J. Sea Res. 56: 85-102.

- van der Veer, H.W., Cardoso, J.F.M.F., van der Meer, J. 2006. The estimation of DEB parameters for various North Atlantic bivalve species. *J. Sea Res.* 56: 107-124.
- Waite, J.H., 1992. The formation of mussel byssus: anatomy of a natural manufacturing process. *In* S.T. Case [eds]. *Results and problems in cell differentiation*. p. 27-54, Springer-Verlag, Berlin.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., et al., 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389-395.
- Warren, C.E., Davis, G.E. 1967. Laboratory studies on the feeding, bioenergetics, and growth of fish. *In*: S.D. Gerking [eds]. *The biological basis of fresh water fish production*. p 175-214, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Wells, H.W., 1957. Abundance of the hard clam *Mercenaria mercenaria* in relation to environmental factors. *Ecology*, 38: 123-130.
- Widdows, J., 1985. Physiological procedures. *In* B.L. Bayne, D.A. Brown, K. Burns, D.R. Dixon, et al. [eds]. *The effects of stress and pollution on marine animals*. p 161-178, Praeger, New York.
- Widdows, J., Donkin, P., 1992. Mussel and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. *In* E.M. Gosling [eds]. *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture*. p. 383-424, Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam.
- Widdows, J., Fieth, P., Worrall, C.M., 1979. Relationships between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 50: 195-207.
- Widdows, J., Moore, M.N., Lowe, D.M., Salkeld, P.N., 1979. Some effects of a dinoflagellate bloom *Gyrodinium aureolum* on the mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 59: 522-524.
- Widdows, J., Staff, F., 1997. *Practical Procedures for the Measurement of Scope for Growth Manual*. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK.
- Widdows, J., Staff, F., 2006. Biological effects of contaminants: measurement of scope for growth in mussels. *ICES Tech. Mar. Environ. Sci.* 40: 1-30.
- Winberg, G.G., 1960. Rate of metabolism and food requirements of fishes. *Transl. Ser. Fish. Res. Board Can.* 194: 1-202.
- Wong, W.H., Cheung, S.G., 2003. Seasonal variation in the feeding physiology and scope for growth of green mussels, *Perna viridis* in estuarine Ma Wan, Hong Kong. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 83: 543-552.
- Zangara, S., 2007. Studio della distribuzione dei molluschi bivalvi sulle coste della Sicilia occidentale. Tesi di Laurea, Università di Palermo, pp. 78.