



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE ECOLOGICHE E BIOLOGICHE

Corso di Dottorato di Ricerca in

ECOLOGIA E GESTIONE SOSTENIBILE DELLE RISORSE AMBIENTALI - XXVIII Ciclo

***"Studio della risposta fotosintetica del fitoplancton in differenti condizioni
dinamiche mediante l'utilizzo di un mesocosmo"***

s.s.d. BIO/07

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Marta Albani

Tutore:

Prof. Marco Marcelli

Anno Accademico 2016/2017

INDICE

1-PREMESSA	01-02
2-OGGETTO E SCOPO	03
3-INTRODUZIONE	04-17
-3.1 Fotosintesi, efficienza fotosintetica e produzione primaria fitoplanctonica	04-11
3.1.1 _Luce e fotosintesi	04-07
3.1.2 _Efficienza fotosintetica e misure di fluorescenza variabile	07-10
3.1.3 _Distribuzione della biomassa fitoplanctonica	11
-3.2 Fotoacclimatazione	12-13
-3.3 Mesocosomi stato dell'arte	13-16
-3.4 Modelli previsionali di PP e modello Phyto VFP (Phyto-Variable-Fluorescence-Production-model)	16-17
4-MATERIALI E METODI	18-38
-4.1 Area di studio	18-20
4.1.1 _Inquadramento territoriale	19
4.1.2 _Stazione di campionamento “Zero”	20
-4.2 PeMaM (Pelagic Marin Mesocosm)	21-26
4.2.1 _Descrizione della struttura	21-25
4.2.2 _Scheda tecnica e Scheda costi	25-26
-4.3 Test in laboratorio sulla struttura	26-30
-4.4 Campagne di campionamento	31
-4.5 Utilizzo del profilatore <i>Conducibility, Temperature, Depth</i> (CTD)	31-34
-4.6 Il fluorimetro water PAM (Pulse Amplitude Modulation)	34-36
-4.7 Analisi spettrofotometriche: “Metodo spettrofotometrico per i pigmenti liposolubili”	36-37
-4.8 Analisi statistiche	37
-4.9 Applicazione del Modello Phyto VFP	38

5-RISULTATI	39-79
-5.1 Campagne di campionamento	39-67
5.1.1_Meso_40 A (29.08.2016)	40-49
5.1.2_Meso_40 B (11.10.2016)	50-58
5.1.3_Meso_40 C (23.12.2016)	59-67
-5.2_Tabelle riassuntive (massimi, minimi, medie e deviazioni standard)	68-71
-5.3 Matrici di correlazione di Paerson	71-76
-5.4 Applicazione modello Phyto VFP	77-78
6-DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	79-82
8-BIBLIOGRAFIA	83-91
RINGRAZIAMENTI	92

1-PREMESSA

Lo sviluppo delle attività antropiche a partire dalla rivoluzione industriale ha portato ad un netto aumento della concentrazione di molti gas (vapor acqueo, clorofluorocarburi, metano e ossido di azoto) nell'atmosfera, e soprattutto all'aumento dell'anidride carbonica, che sembra determinare a lungo termine un cambiamento sul clima. Negli ultimi decenni la scienza ha approfondito mediante numerose ricerche lo studio del ciclo del carbonio al fine di comprendere maggiormente i fenomeni che modificano i processi di interscambio di CO² tra atmosfera ed oceano.

Durante la terza Conferenza delle Parti (COP3) tenutasi il 11 dicembre 1997 è stato sottoscritto il Protocollo di Kyoto, un accordo internazionale per contrastare il riscaldamento climatico. Il Protocollo di Kyoto impegnava i Paesi sottoscrittori (*le Parti*) ad una riduzione quantitativa delle proprie emissioni di gas ad effetto serra rispetto ai propri livelli di emissione del 1990 (*baseline*). Tali Paesi avrebbero dovuto realizzare un sistema nazionale di monitoraggio annuale delle emissioni ed assorbimento dei gas, definire le misure per la riduzione delle emissioni e presentare eventuali proposte per un sistema di compensazione climatica attraverso organismi capaci di catturare e stoccare la CO². Da questo punto di vista gli oceani svolgono un ruolo fondamentale, di fatto rappresentano il principale sito di scambio e stoccaggio della CO² atmosferica. Il sequestro di anidride carbonica da parte del sistema oceano avviene attraverso due processi distinti: attraverso la diffusione aria/acqua in dipendenza della temperatura superficiale dell'oceano, e attraverso il processo di fotosintesi dove la CO² viene stoccata all'interno della materia organica. Il sequestro e lo stoccaggio tramite organizzazione conferiscono ai mari e agli oceani il ruolo fondamentale di pompa biologica (Antoine e Morel, 1996). La produzione primaria (PP), ovvero il tasso di carbonio assimilato attraverso i processi fotoautotrofi, operata dal fitoplancton svolge un ruolo chiave nel ciclo del carbonio, ne controlla di fatto la ripartizione tra le grosse riserve presenti nell'oceano e le riserve atmosferiche relativamente più basse.

I gas serra, trattenendo la radiazione infrarossa riemessa dalla terra, permettono al pianeta di non dissipare totalmente il calore ricevuto dalla radiazione solare, in quanto tutti i processi vitali presenti sul nostro pianeta sono strettamente collegati alla temperatura e alla sua varianza all'interno di un *range* specifico, sia giornaliero che stagionale.

Lo stretto legame tra ciclo del carbonio, clima e vita sulla terra è il motivo per il quale negli ultimi anni gli sforzi della comunità scientifica internazionale sono indirizzati verso una migliore comprensione dei meccanismi di sequestro e rilascio della CO² da parte dei diversi comparti del pianeta (Charlson et al., 1987; Falkowski et al. 1998; Gregg et al. 2003; Beaugrand, 2014).

Eventuali cambiamenti nell'equilibrio dei processi relativi alla produttività portano di conseguenza a

cambiamenti nei meccanismi di controllo del contenuto di CO² nell'oceano (Broecker 1982; Broecker and Peng, 1982) ed hanno un importante feedback sui cambiamenti climatici (Berger et al., 1989), quindi di conseguenza sulla vita e sulle capacità evolutive degli esseri viventi tutti.

Nel Rapporto "Italian Greenhouse Gas Inventory" ISPRA 2014 si evidenzia che la media di riduzione delle emissioni nel periodo di impegno (2008-2012) rispetto all'anno base (1990) è stata del -4,6%, a fronte di un impegno nazionale di riduzione del -6,5%.

Le successive COP, rivolte alla definizione degli obiettivi per il periodo "post-Kyoto", (COP 15-16-17-18-19-20), non hanno portato al raggiungimento di accordi adeguati all'urgenza climatica; durante la COP 21 di Parigi (dicembre 2015) è stato finalmente redatto un accordo climatico da attuarsi entro il 2020.

Come descritto nel report "Warnings of climate science -again- written in Doha sand" (realizzato dal Climate Action Tracker, presso il Potsdam Institute for Climate Impact Research, da Ecofys e da Climate Analytics), gli impegni di riduzione emissiva sono ampiamente inferiori a quelli che sarebbero necessari per garantire un trend di riduzione idoneo a limitare l'aumento delle temperature medie globali al di sotto dei + 2°C (rispetto ai livelli pre-industriali).

Dal rapporto IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) di Bangkok sono emerse nuove proposte per ridurre la CO². Tra di esse è importante sottolineare l'importanza della fertilizzazione degli oceani, ovvero la possibilità di sfruttare la capacità di cattura della CO² atmosferica da parte delle microalghe fitoplanctoniche. Il contributo del fitoplancton all'interno di tale processo risulta ancora più rilevante se si considera che il fitoplancton contribuisce per oltre il 40% alla produzione primaria globale (Falkowski et al., 2003). Nel 1993 sono stati condotti esperimenti di fertilizzazione nell'oceano Pacifico ed è stato osservato come, in cambio di kg di composto ferroso, fioriva il fitoplancton.

Gli stessi esperimenti sono stati condotti anche nel Mediterraneo tra Israele e Cipro, con la partecipazione della Professoressa Nadia Pinardi, responsabile del laboratorio di oceanografia marina dell'Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INGV). Tuttavia, la fertilizzazione degli oceani non è un processo semplice, poiché sia l'ecosistema marino costiero che le profondità oceaniche non sono ancora completamente conosciute. Inoltre, è opportuno considerare che ogni studio scientifico e l'insieme di dati che ne derivano, soprattutto quelli che si acquisiscono in natura (*sea truth*), porta alla luce nuove scoperte e nuove questioni devono essere tenute in considerazione prima di arrivare ad una possibile risoluzione del problema.

2-OGGETTO E SCOPO

Sebbene il fitoplancton ammonti al 1-2% della biomassa globale, esso è capace di fissare annualmente circa 45 gigatonnellate di carbonio (Falkowski, 1994).

Lo studio del flusso di carbonio ed il calcolo della produzione primaria a scala globale si basa sull'utilizzo dei dati satellitari (Platt and Satheyendranath, 1988; Morel et al., 1991; Falkowski et al., 1997). Tuttavia, il corretto uso del dato satellitare richiede informazioni su scala regionale delle caratteristiche fotosintetiche del fitoplancton che variano secondo la zona indagata. Questa area di ricerca sembra essere ancora poco esplorata.

I modelli matematici che prendono in considerazione parametri *input* quali la luce, i nutrienti, la temperatura e la concentrazione di clorofilla a, supportano i dati satellitari al fine di realizzare una sintesi globale del flusso del carbonio. Di fatto, l'informazione importante che si vuole ottenere non è il valore netto di carbonio fissato, bensì la relazione matematica che intercorre tra le variabili sopracitate e il flusso di carbonio stesso, quindi la risposta fotofisiologica del fitoplancton alle variazioni del regime di luce, della temperatura e dell'apporto nutritivo. Ad oggi, lo studio di questa relazione è ancora oggetto di grande attrazione per la comunità scientifica interessata alla costruzione di modelli previsionali. Attualmente, la strategia migliore per lo sviluppo di tali modelli è quella di applicare i risultati ottenuti a misure empiriche.

Lo scopo di questa tesi è quello di studiare *in situ* gli effetti della dinamica su microscala della colonna d'acqua sull'attività fotosintetica del fitoplancton, al fine di ampliare le conoscenze e il dataset utile alla parametrizzazione del dato usato all'interno di modelli previsionali di produzione primaria. Nello specifico è stato indagato l'effetto del mescolamento e della stratificazione della colonna d'acqua sull'efficienza del processo fotosintetico e sulla fotoacclimatazione delle cellule fitoplanctoniche.

L'attività di ricerca si è articolata in più tappe:

- 1- Costruzione e ottimizzazione di una struttura prototipo in grado di rappresentare un "mesocosmo", capace di contenere almeno parzialmente la colonna d'acqua senza alterare le condizioni chimiche, fisiche e biologiche reali, al fine di studiare i processi fitoplanctonici direttamente in mare. Tale prototipo è stato costruito secondo criteri che tenessero in considerazione la praticità e il basso costo.
- 2- Conduzione di campagne mirate allo studio del processo di fotoacclimatazione e della sua variazione circadiana in relazione alle condizioni dinamiche della colonna d'acqua.
- 3- Integrazione delle misure effettuate in situ nel modello bio-ottico PhytoVFP per la stima della produzione primaria fitoplanctonica.

3-INTRODUZIONE

3.1_Fotosintesi, efficienza fotosintetica e produzione primaria fitoplanctonica

3.1.1_Luce e fotosintesi

La luce utilizzata dagli organismi fotoautotrofi o *Photosynthetically Available Radiation* (PAR), rappresenta il principale fattore limitante per la fotosintesi acquatica.

L'oceano mostra un'elevata capacità di attenuazione dell'irradianza solare. Il coefficiente di attenuazione esponenziale medio K per la radiazione fotosinteticamente attiva varia da 0.30 a 0.025 m⁻¹

$$K = \ln E(z+1)/E(z) \quad (1)$$

dove con E indichiamo l'irradianza e con z la profondità.

La profondità media dell'oceano è di circa 4000 m e la profondità alla quale si ha l'1% del valore di PAR presente in superficie è definita profondità eufotica (Z_e). Quest'ultima raramente supera i 100 m.

La fotosintesi netta avviene esclusivamente negli strati superficiali della colonna d'acqua e il carbonio fissato in questa zona, che rappresenta solo il 2% dell'intero oceano, rifornisce tutti i processi respiratori nell'oceano.

La luce che attraversa la massa d'acqua non è attenuata in modo uniforme a causa dell'assorbimento e dello scattering delle molecole dell'acqua stessa; le prime lunghezze d'onda che vengono assorbite, nei primi centimetri, sono quelle del rosso lontano, continuando a scendere in profondità vengono assorbite di seguito quelle del rosso e del verde e per ultime quelle del blu (Kirk, 1983).

Le regole fisiche legate all'irradianza e alle masse d'acqua differiscono a seconda del tipo di acqua. In acque d'oceano aperto, l'irradianza down-welling alla base della profondità eufotica è rappresentata dalle lunghezze d'onda che vanno da 450 a 500nm (blu), mentre in acque costiere, lo spettro è shiftato verso lunghezze d'onda maggiori ed è centrato su ~540nm (verde), data l'elevata concentrazione di biomassa fitoplanctonica e di solido sospeso.

Tutti i modelli di stima della produzione primaria prendono in considerazione la distribuzione della biomassa fotosintetica e dell'irradianza lungo la colonna d'acqua. In particolare la relazione esistente tra la fotosintesi (P) e l'irradianza (E) è fondamentale per la stima della produzione primaria, anche perché permette il calcolo dei parametri fotosintetici che descrivono la così detta curva P/E. Tali parametri consentono di caratterizzare le risposte del fitoplancton ai diversi parametri ambientali e dipendono sia dallo stato fisiologico del fitoplancton che dai meccanismi di controllo e di feedback della fotosintesi (Lewis et al. 1984; Geider et al., 1996; Sakshaug et al., 1997).

Per poter descrivere l'andamento del tasso fotosintetico in funzione dell'intensità luminosa, è

indispensabile determinare la curva fotosintesi-irradianza (Smith, 1936; Jassby e Platt, 1976; Dubinsky et al. 1986). Nella sua descrizione comunemente accettata può essere suddivisa in tre zone (Figura 1): (1) zona di fotolimitazione, (2) zona di fotosaturazione e (3) zona di fotoinibizione.

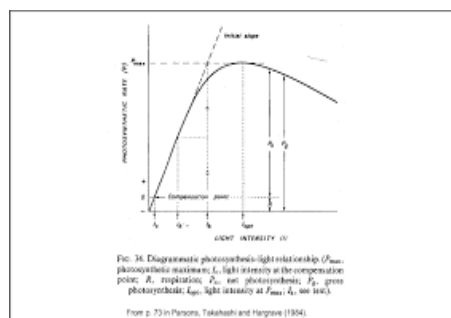


Figura 1: Curva P/E, Platt et al 1980

La prima zona (1) descrive la relazione tra irradianza e tasso fotosintetico quando la luce rappresenta il fattore limitante. In questa regione di fotolimitazione all'aumentare dell'intensità di luce corrisponde un aumento del tasso fotosintetico. Questa relazione è lineare ed il tasso fotosintetico continua ad aumentare fino a quando il sistema non viene completamente saturato. Al raggiungimento del punto di saturazione, inizia la seconda zona (2) dove all'aumento dell'irradianza non corrisponde più un aumento del tasso fotosintetico, ma il suo valore resta sostanzialmente costante. Superato un certo valore di irradianza, strettamente legato alla fisiologia del popolamento fitoplanctonico (3), per l'instaurarsi di meccanismi di fotoprotezione il tasso fotosintetico può diminuire. L'algoritmo più utilizzato nel campo dell'oceanografia per la descrizione di questa relazione e che è stato anche implementato nel modello PhytoVFP è quello proposto da Platt et al. (1980).

$$P^B = P_{max}^B [(1 - \exp(-\alpha^B E / P_{max}^B)) \exp(-\beta E / P_{max}^B)] \quad (2)$$

Dove P^B rappresenta il tasso di produzione specifica normalizzato per la biomassa (B) intesa come clorofilla-a [mgC(mgChla)-1h-1]; P_{max}^B rappresenta il tasso fotosintetico massimo teorico in assenza di fotoinibizione; α^B è il coefficiente angolare della zona di foto-limitazione della curva [mgC(mgChla)-1h-1]/ μ mol foton m⁻² s⁻¹, entrambi normalizzati per la biomassa; β è l'indice di fotoinibizione, ovvero il coefficiente angolare negativo della retta ad alta irradianza [mgC(mgChla)-1h-1W-1m²].

Il parametro α rappresenta la pendenza della curva in condizioni di luce limitante.; è un parametro relativo definito in termini di luce ambientale (irradianza); P_{max} è il tasso fotosintetico nella zona di fotosaturazione e β è la pendenza della curva nella regione di fotoinibizione. E_k è detto indice di luce-saturazione ed è il valore di PAR al quale si passa dalla condizione di foto-limitazione a quella

di foto-saturazione.

L'inclinazione iniziale della curva P/E, α , può essere definito come il prodotto della sezione trasversale di assorbimento (a^*) ed l'efficienza quantica di fotosintesi (Φ):

$$\alpha = a^* \Phi \quad (3)$$

La sezione trasversale può essere esplicitata come il prodotto tra il numero di fotosistemi (n) (PSU) presenti sia nei centri di reazione del fotosistema II (PS II) che del fotosistema I (PSI) e la sezione trasversale della singola unità fotosintetica σ_{PSU} (Mauzerall and Greenbaum, 1989):

$$a^* = n \sigma_{PSU} \quad (4)$$

In questo senso l'efficienza quantica di fotosintesi può essere espressa come il rapporto tra le sezioni trasversali di assorbimento del PSII ($\sigma_{PSU II}$) e dell'intera unità fotosintetica

$$\Phi = \sigma_{PSU II} / \sigma_{PSU} \quad (5)$$

Il valore di α quindi può essere considerato relativamente costante se si suppone che la clorofilla-a sia il pigmento principale di cattura della luce e che il rapporto tra il numero di fotosistemi PSII e PSI sia costante. In condizioni di luce saturante, il tasso fotosintetico di trasporto elettronico, diventa indipendente dall'assorbimento della luce ma viene limitato dal tasso massimo di trasporto della catena degli elettroni. $P_{B \max}$ è invece legato alle componenti di trasporto degli elettroni e dei componenti del ciclo di Calvin, ossia il contenuto di carbonio (Mac Intyre et al. 2002), e la concentrazione e/o attività dell'enzima rubisco (Behrenfeld et al. 2004).

Il tasso fotosintetico a luce saturante ($P_{\max}$) può essere quindi descritto come il prodotto tra il numero (n) delle unità fotosintetiche ed il tasso massimo al quale un elettrone viene trasferito dall'acqua all'accettore finale ($1/\tau$).

$$P_{\max} = n / \tau \quad (6)$$

Tuttavia questo valore non è ricavabile da misure dirette ma è piuttosto un'indicazione della capacità massima ricavabile da relazioni empiriche.

Il punto al quale la luce diventa saturante per il processo fotosintetico, E_k , è definito come:

$$E_k = P_{\max} / \alpha \quad (\text{Kirk, 1994}) \quad (7)$$

Come riportato da Sakshaug et al. (1997) e ricavabile dalle formule precedenti, α è direttamente proporzionale alla sezione di assorbimento del PSII ($\sigma_{PSU II}$) ed al numero di unità fotosintetiche (n)

$$\alpha = n \sigma_{PSU II} \quad (8)$$

da cui:

$$E_k = 1 / \tau \sigma_{PSU II} \quad (9)$$

Quando il valore dell' irradianza supera E_k , il rendimento quantico diminuisce con il reciproco dell'irradianza incidente. L' irradianza incidente supera sempre il valore di E_k tranne che nei giorni

di nuvolosità sulla superficie dell'oceano mentre più in profondità la luce è sempre limitante ($< E_k$).

3.1.2 Efficienza fotosintetica e misure di fluorescenza variabile

Come processo biochimico, la fotosintesi è di per sé notevolmente efficiente: se si calcola il rapporto tra l'incremento di energia che ricevono gli elettroni nella fotosintesi e la quantità di energia portata dai fotoni necessari per attivare il processo e produrre carboidrati, si ottiene una cifra pari a circa il 35%. L'efficienza fotosintetica "ecologica" è di gran lunga minore di quella teorica biochimica: buona parte dei fotoni cadono sul suolo nudo o su tessuti non contenenti clorofilla e inoltre solo il 45% della radiazione incidente totale appartiene a lunghezze d'onda utili per la fotosintesi (PAR).

L'efficienza fotosintetica data dal rapporto tra produzione primaria lorda (PPL) ed energia della radiazione solare è in media molto bassa, circa il 2%, perché la luce che arriva al suolo è in eccesso rispetto alle capacità fotosintetiche e si può addirittura avere un fenomeno di inibizione dove la troppa luce ostacola il processo fotosintetico. D'altra parte, l'efficienza di produzione netta, varia dal 40 al 60%.

Il prodotto delle due efficienze, fotosintetica e di produzione netta, fornisce il rapporto tra PPN ed energia della radiazione solare e non supera di solito l'1%, dove 0.4% è attribuito alla terraferma e 0.2% agli oceani (Valentyne, 2011).

I parametri della curva PE descrivono la risposta della cellula fitoplanctonica al livello di radiazione elettromagnetica, ma esistono metodi che permettono di misurare l'efficienza fotosintetica in modo diretto. Tutti gli organismi che compiono fotosintesi presentano due centri di reazione: il fotosistema II (PSII) e il fotosistema I (PSI). Nel PSII l' H_2O viene fotossidata con il conseguente rilascio di O_2 , elettroni e protoni, mentre all'interno del PSI l'energia luminosa viene utilizzata per trasferire gli elettroni all'accettore finale, ovvero CO_2 o nitrati. Il processo fotosintetico può essere definito come l'ossidazione fotochimica dell' H_2O con formazione di ossigeno molecolare ed agenti riducenti, fotosintesi lorda.

Il centro di reazione PSII consiste in una molecola speciale di Chl-a P680 e in un accettore primario di elettroni, un chinone chiamato Qa. Al buio il P680 è ridotto e il Qa è ossidato e in questa situazione il centro di reazione si dice aperto.

Con la luce i fotoni possono essere assorbiti dai pigmenti fotosintetici e l'energia di eccitazione viene trasferita al centro di reazione determinando una separazione di cariche. Durante la separazione di carica il P680 è ossidato a $P680^+$ e Qa è ridotto a Qa^- . In queste condizioni però i centri di reazione non possono usare l'energia derivante dalla separazione di carica e sono quindi detti chiusi. Solo quando il $P680^+$ è stato nuovamente ridotto e il Qa^- riossidato l'energia di un altro

fotone può essere usata per promuovere un successivo trasferimento di elettroni. La ri-riduzione del P680⁺ avviene molto rapidamente (<1μs). Qa⁻ è ri-ossidato da un accettore secondario, Qb (un plastoquinone PQ) il quale una volta ridotto si dissocia dal complesso proteico del centro di reazione per diventare una parte del pool di plastoquinoni. Il posto lasciato vuoto viene quindi ad essere occupato da un altro PQ permettendo il successivo trasferimento elettronico dal Qa. Normalmente, la concentrazione di PQ supera 5-30 volte quella di Qa (Sukenik et al. 1987), quindi il pool di PQ rappresenta una sorta di deposito temporaneo per gli elettroni nel loro passaggio dal PSII al PSI. Ogni molecola di Qb accetta due elettroni (e due protoni) per formare il Plastochinolo, PQH₂. Poiché il Qa può accettare solo un elettrone alla volta (Crofts e Wraight 1983), il tempo necessario per l'ossidazione di PQH₂, τ_P, è controllato nel sito dell'accettore PSI dalle reazioni oscure della fotosintesi (2-15ms), mentre il tempo necessario all'ossidazione di Qa⁻, τ_q, è più veloce di un ordine di grandezza (~0.6ms) (Crofts e Wraight 1983; Sukenik et al. 1987). Per un basso flusso fotonico, il tasso di assorbimento dei fotoni da parte del centro di reazione del PSII è minore rispetto al tasso di ri-ossidazione del PQH₂, e gli elettroni sono trasferiti efficientemente dal Qa⁻ al PQ (Falkowski et al., 1986b; Kolber et al., 1988). All'aumentare dell'irradianza, comunque, il pool di PQ si riduce progressivamente, la ri-ossidazione di Qa⁻ rallenta.

A temperature fisiologiche, la fluorescenza viene emanata quasi esclusivamente dal PSII. Le basi teoriche per la correlazione tra la fluorescenza e la fotosintesi postulano che, l'energia di eccitazione che arriva al PSII, può essere convertita fotosinteticamente in energia chimica attraverso la separazione di carica, essere ri-emessa come fluorescenza, o essere dissipata non radiattivamente tramite processi di de-attivazione termica. Se il centro di reazione è aperto la probabilità che l'energia di eccitazione venga ri-emessa come fluorescenza è di circa 0.02 (Duysens e Swers, 1963). Se invece i centri di reazione sono chiusi la probabilità che l'energia di eccitazione sia riemessa come fluorescenza aumenta fino a circa 0.05. Al buio, quando Qa è completamente ossidato, la fluorescenza è al livello minimo, F₀. Alla luce ambiente la fluorescenza, F, aumenta fin quando Qa si riduce, raggiungendo il massimo valore, F_{max}, quando tutti i centri di reazione sono chiusi (Van Kooten e Snel, 1990). La fluorescenza variabile può essere quindi definita come la differenza tra questi due valori:

$$F_v = (F_{max} - F_0) \quad (10)$$

I cambiamenti relativi nell'efficienza quantica di fluorescenza riflettono il livello di riduzione di Qa (Duysens e Sweers 1963; Kitajima e Butler 1975), e la relazione tra fotosintesi e fluorescenza è inversa e controllata da singoli processi, a seconda dello stato redox di Qa. In realtà raramente la fluorescenza mostra una semplice relazione inversa con la fotosintesi. La fluorescenza è controllata da due fenomeni di quenching. Questi sono il quenching fotochimico, q_p, che è associato con lo

stato redox di Q_a , ed il quenching non fotochimico, q_N (Schreiber et al. 1986; Weis e Berry 1987; Owens 1991), che può essere dovuto ad una serie di cause, tra cui il potenziale elettrochimico trans-membrana ed il gradiente di pH nei cloroplasti, la conversione della fluorescenza in calore dai carotenoidi nel ciclo delle xantofille, il flusso ciclico degli elettroni intorno al PSII, e la fotodegradazione dei centri di reazione PSII (Horton e Haugue 1988; Owens 1991).

La tecnica della fluorescenza passiva è basata sull'assunzione che il rapporto tra la fluorescenza e la fotosintesi è costante (Kiefer et al. 1989). Se ciò è vero allora le misure di fluorescenza possono essere correlate quantitativamente alla fissazione del carbonio se il tasso di assorbimento della luce è conosciuto.

Vi sono comunque dei problemi associati ai modelli di fluorescenza passiva. Innanzitutto, sia la curva fotosintesi/irradianza (P/E) che la curva fluorescenza/irradianza (F/E) sono note, e mentre la curva P/E satura, la curva teorica F/E no, piuttosto aumenta rapidamente all'aumentare dell'irradianza. Nei casi più semplici il rapporto P:F diminuisce con una funzione esponenziale dell'irradianza ed è quindi difficile generare una curva quantitativa P/E a partire da una curva F/E costruita in condizioni ideali di laboratorio. Per correlare l'efficienza quantica di fluorescenza alla fissazione del carbonio per la fotosintesi, l'efficienza quantica è assunta massima e costante. In realtà assumere costante questo valore non è realistico nell'oceano, ed è noto che la massima efficienza quantica è variabile nelle comunità fitoplanctoniche (Kolber et al. 1990; Falkowski 1992). Il quenching non fotochimico può alterare significativamente la curva teorica F/E, infatti q_N può dare l'illusione che le curve F/E e P/E si comportino in modo simile (Stegmann et al. 1992). Il quenching non fotochimico di fluorescenza può essere correlato con una curva P/E anche se la scala di tempo del processo di quenching è molto più lenta. Quindi, per identiche condizioni di irradianza, cellule che si trovano nella parte superiore dell'oceano ad elevata turbolenza mostrano bassi valori di q_N oppure assenti, mentre cellule quiescenti nello strato mescolato mostrano alti valori di q_N . Il valore per il quale q_N determina una riduzione nell'efficienza fotochimica è impossibile da quantificare solo attraverso la fluorescenza passiva.

E' stato proposto che la fluorescenza può essere usata per stimare contemporaneamente biomassa clorofilliana e tasso fotosintetico (Kiefer et al., 1989) ma per poter misurare la fotosintesi è stato assunto che il prodotto tra a^* e l'efficienza quantica debba essere costante (Falkowski e Kiefer, 1985).

La tecnica pump-and-probe non parte dall'assunzione che la fluorescenza si comporti come una funzione dell'irradianza; i cambiamenti nell'efficienza sono misurati quantitativamente (quenching non fotochimico), l'effetto di questo processo sul tasso fotosintetico può essere determinato direttamente e quindi inserito come input nei modelli fotosintetici, questa tecnica permette di

investigare sia sull'efficienza fotosintetica che sulla sezione trasversale ed il tempo di turn-over.

Le tecniche pump-and-probe e di fluorescenza indotta dalla luce solare possono dare una stima simile dei tassi fotosintetici nella porzione iniziale della curva P/E, soprattutto se l'efficienza quantica di fotosintesi si avvicina alla massima teorizzata (Kiefer e Reynolds 1992). Tuttavia, se la fotosintesi del fitoplancton è limitata dai nutrienti o si avvicina a saturazione, l'incertezza nella stima del tasso di fotosintesi fatta con la tecnica della fluorescenza indotta dalla luce solare diventa alta. La più grande incertezza nell'uso del pump-and-probe per la misura del tasso fotosintetico Chl-a specifico (PB) è che il calcolo di nPS2 (rapporto tra i centri di reazione PSII e la Chl-a) richiede di conoscere la concentrazione media dei centri di reazione in PSII, e l'assunzione che nPS2 sia relativamente costante. Un'altra incertezza deriva dal fatto che se le misure vengono effettuate su campioni prelevati a profondità discrete e successivamente adattamenti al buio, il qN può subire delle modifiche.

La dissipazione di qN può aumentare il valore della sezione trasversale di circa il 15 % in una scala di tempo di 10-15 minuti. Ciò potrebbe portare ad un aumento del valore della sezione trasversale di assorbimento di circa il 15% per il fitoplancton vicino alla superficie. Questo artefatto sperimentale può essere superato misurando rapidamente la sezione trasversale con le condizioni di irradianza sperimentale o dopo un'esposizione al buio. Dato che qN sembra essere significativo ad irradianze alle quali la fotosintesi è saturata e non troppo controllata dalla sezione trasversale, quest'errore è relativamente inferiore per il calcolo del tasso fotosintetico nella porzione superiore della colonna d'acqua. Tuttavia esistono delle sonde che permettono di applicare la tecnica pump-and-probe direttamente in situ, evitando totalmente il problema della dissipazione di qN.

3.1.3 Distribuzione della biomassa fitoplanctonica

In natura il fitoplancton è costituito da un insieme di organismi di specie e generi differenti, dove ogni specie presenta livelli diversi di adattamento a fattori quali la luce, la temperatura e la concentrazione dei nutrienti. L'insieme di questi fattori contribuisce a determinare il posizionamento della biomassa fitoplanctonica lungo la colonna d'acqua.

Lungo la verticale, i fattori maggiormente discriminanti sono la trasparenza dell'acqua e la disponibilità dei nutrienti. L'elevata concentrazione di nutrienti conduce a fenomeni di torbidità, riducendo di fatto la qualità e la quantità di luce utile. E' fondamentale, in ogni caso, tener presente che la distribuzione verticale del fitoplancton varia stagionalmente, in funzione dello stato dinamico delle masse d'acqua, stratificate o mescolate. Questa differenza incide sia sulla risalita dei nutrienti dal fondo e di conseguenza sulla loro disponibilità per il fitoplancton, sia sulla quantità di tempo che ogni singola cellula fitoplanctonica passa in zone ottimali di luce e temperatura.

La distribuzione orizzontale della biomassa fitoplanctonica dipende da diverse forzanti fisiche come l'azione dei venti dominanti, il movimento di deriva delle acque provocato dai venti stessi e i fenomeni di turbolenza, ma principalmente risponde alla presenza di organismi fitoplanctofagi, i quali creano delle vere e proprie discrepanze riguardo la concentrazione di fitoplancton anche in masse d'acqua confinanti. E' stato possibile osservare in zone litorali improvvise proliferazioni relative ad una o a poche specie fitoplanctoniche (*blooms*), spiegabili con apporti di nutrienti derivanti da una piena di un fiume o dalla presenza nelle vicinanze di scarichi organici derivanti da attività antropiche; questi *blooms* si verificano anche in prossimità delle correnti di *upwelling*, grazie alla risalita in superficie di acque con una maggiore disponibilità di nutrienti.

3.2 Fotoacclimatazione

La fotoacclimatazione descrive la risposta fenotipica degli organismi fitoplanctonici ai cambiamenti di irraggiamento (Falkowski e LaRoche, 1991), e differisce dal fotoadattamento che invece descrive la risposta genotipica delle alghe alla luce in termini di evoluzione.

La fotoacclimatazione può essere valutata misurando variazioni sia a livello fisiologico che biochimico in un dato taxon, in risposta alla quantità di luce. Le variazioni possono interessare sia l'efficienza di cattura della luce a livello dei pigmenti che la capacità fotosintetica (fissazione del carbonio).

In linea generale, ad alti valori di irradianza la risposta sembra essere una diminuzione del contenuto di pigmenti in tutti i taxa (Mac Intyre et al. 2002), mentre a basse intensità luminose l'acclimatazione può avvenire seguendo due possibili vie che consentono un assorbimento di luce maggiormente efficiente. Alcuni taxa sono in grado di aumentare la taglia dell'antenna PSII e di conseguenza la sezione trasversale di assorbimento, in altri invece si verifica un aumento del numero di antenne PSII e la sezione rimane costante (Falkowski e Owens 1980; Perry et al. 1981; Dubinsky et al. 1986).

I cambiamenti nel numero dei pigmenti o della sezione trasversale dell'area di assorbimento del fotosistema II (PSII), σ PSII, sono rapidamente reversibili e permettono aggiustamenti dell'efficienza quantica della cellula in risposta a cambiamenti repentini di irradianza, grazie all'estrema plasticità dell'apparato fotosintetico, l'alterazione del numero di unità fotosintetiche e della loro sezione trasversale avviene in piccole scale temporali, ovvero in poche ore o giorni (Sukenik et al., 1989; Dubinsky et al., 1986; Falkowski e Owens, 1980).

Esistono comunque dei limiti alla fotoacclimatazione che sono imposti geneticamente sia dal tasso con cui l'apparato fotosintetico risponde ai cambiamenti di irradianza sia dalla velocità con cui questo avviene.

La fotoacclimatazione include anche meccanismi di fotoprotezione e fotoinibizione. Quest'ultima è stata definita come l'inibizione luce-dipendente delle reazioni della fotosintesi (Ewart, 1895-1897) o come la riduzione luce-dipendente dell'efficienza di fotosintesi (Kok, 1956).

Lo scopo dell'attivazione di processi fotoinibitori è quello di ridurre l'efficienza di assorbimento e di conseguenza l'energia trasferita ai centri di reazione, ciò avviene mediante: il ciclo delle xantofille, il sistema dei carotenoidi e la deviazione degli elettroni dal ciclo di Calvin verso alternative fonti di energia. Di conseguenza si attivano tutta un'altra serie di meccanismi quali: il trasporto pseudo ciclico degli elettroni, il trasporto ciclico tra PSII e PSI, la riduzione dei nitrati, la cloro-respirazione e la fotorespirazione.

La fotoacclimatazione ha quindi un effetto diretto sui parametri della curva P/E, in particolar modo

α Pmax e β ; in genere è possibile infatti ottenere curve PE diverse per una stessa specie, quando sottoposta a luce continua, a seconda se questa si sia acclimatata ad una bassa o ad un'alta irradianza. Queste risposte, tutte dipendenti dalla luce, nella colonna d'acqua sono da considerarsi inoltre limitate dalle condizioni dinamiche esterne.

Il legame tra meccanismi fisiologici e cambiamento dei parametri della curva PE è fondamentale per permettere la predizione dell'andamento della produzione primaria fitoplanctonica (Richardson et al., 1983; Cullen e Mac Intyre, 1998; Mac Intyre et al., 2002).

3.3 I Mesocosmi: stato dell'arte

La necessità di basi sperimentali per la valutazione dello stato di salute dell'ambiente in oggetto di studio, ha imposto lo sviluppo di modelli di laboratorio che simulano il più possibile le condizioni naturali. Questi modelli, utilizzati in ecologia applicata, sono detti *ecosistemi modello*, *microecosistemi* o *mesocosmi*.

Gli ecosistemi modello sono porzioni più o meno grandi dell'ecosistema che si vuole indagare, delimitate sperimentalmente e parzialmente racchiuse, in cui è più facile effettuare determinazioni fisiche, chimiche, biologiche ed idrodinamiche che diano indicazioni dello stato del sistema. Possono essere derivati direttamente dalla natura o possono essere costruiti tenendo fede a tutte le condizioni fisiche, chimiche, idrodinamiche e biologiche necessarie ad ottenere la "combinazione" desiderata. Tale sistema deve almeno prevedere la presenza di due livelli trofici (o reti) e confini stabiliti secondo il fine della ricerca.

L'utilizzo di un mesocosmo permette di manipolare determinati fattori ambientali restando comunque all'interno delle condizioni naturali prese in esame, inoltre è possibile mantenere la struttura della comunità presente nell'habitat in condizioni naturali di autosufficienza. L'approccio scientifico basato sull'utilizzo di un mesocosmo permette di osservare fenomeni naturali quanto più vicini alla realtà, senza perdere il vantaggio di lavorare in condizioni di riferimento affidabili e senza perderne la replicabilità (Riebesell et al., 2010).

Il primo esperimento in cui è stato utilizzato un mesocosmo risale al 1939 (Pettersen et al.). Dagli anni '80 fino ad oggi, il mesocosmo viene usato come strumento multidisciplinare utile ad indagare, parametri e ambienti differenti. I mesocosmi vengono utilizzati per lo studio delle interazioni trofiche (Cardinale & Palmer, 2002), in esperimenti di ecotossicologia (Muller et al., 1980), per studiare i cicli biogeochimici (Wiegner et al., 2005), gli ecosistemi acquatici (Sanders et al., 1985; Garden et al., 2001), i laghi (Lalli et al., 1990; Oviatt et al., 1994), i mari, il rischio ecologico (Boyle & Fairchild, 1997; Schindler et al., 1985-1988; De Lille et al., 2005; Engel et al., 2005; Kim

et al., 2006; Riebesel et al., 2008), i processi biologici in ambiente pelagico (Kviper et al., 1983; Stephenson et al., 1984; Beyers & Odum, 1993; Berget et al., 1999), ed infine in microbiologia (Kroer et al., 1992; Marrase et al., 1992).

Nonostante la poliedricità nell'utilizzo di questo strumento, l'approccio di base è unico, semplice e chiaro. Si tratta di rinchiudere un corpo d'acqua e studiarne all'interno i processi d'interesse, scegliendo il materiale, il design e la posizione opportuni per soddisfare la domanda scientifica. Come sintetizza Parson (1982), la dimensione dell'infrastruttura e il tempo dell'esperimento dipendono da vari fattori quali la tipologia di comunità che si decide di racchiudere, la complessità della rete trofica, i tempi di rigenerazione delle specie presenti, i processi biogeochimici ed ecologici che avvengono all'interno del mesocosmo e il tasso di bio-fouling sulle pareti del mesocosmo.

Studi precedenti hanno dimostrato che l'evoluzione del fitoplancton osservata dai 3 ai 40 metri di profondità è perfettamente comparabile con quella studiata all'interno di mesocosmi dai 1.5 ai 30 m³ di volume. Invece sia la frazione batterica che lo zooplancton rispondono in maniera non naturale nei mesocosmi di piccole dimensioni, i primi accelerando esponenzialmente la loro crescita, probabilmente a causa del contatto con il substrato, e i secondi riportando un alto tasso di mortalità (Kviper, 1983); più piccola è la dimensione delle unità sperimentali, maggiori sono le deviazioni dalle reali risposte ecosistemiche (Beyers & Odum, 1993).

Nel 1999 Petersen revisiona l'intera letteratura relativa alla scelta della progettazione e dimensione di queste infrastrutture deducendo che la capacità media di un mesocosmo deve essere maggiore di 1.7 m³ e il numero di repliche decresce all'aumentare delle dimensioni dell'infrastruttura.

Secondo Riebesell, Lee e Nejstgaard (*mesocosm guide*, 2010), si possono riassumere le funzionalità e i limiti di questi strumenti determinandone le forze e le debolezze. Le forze sono rappresentate sia dalla possibilità di racchiudere fino a 3 livelli trofici in proporzioni uguali a quelle in natura (autosostegno) per lunghi periodi, sia la possibilità di campionare più volte la stessa popolazione controllata. Inoltre le repliche possono essere "manipolate". Le debolezze le troviamo nel livello di turbolenza e regime di "mixaggio" non naturali, nell'effetto muro dato dal contenitore stesso (Hesslen & Quay, 1973) e dal biofouling che si accumula su di esso, è necessario inoltre considerare che, più grande è la struttura maggiore è il costo, e che a causa dell'elevato sforzo logistico l'uso del mesocosmo non si presta ai tradizionali metodi di disegno sperimentale e di statistica inferenziale (Gamble & Davies, 1982).

Generare in un ambiente chiuso la turbolenza necessaria a prevenire il ristagno localizzato, producendo un'energia trasversale sufficiente ad imitare il *range* naturale del rateo di dissipazione dell'energia turbolenta, è una sfida accettata da molti e affrontata con approcci differenti, come ad esempio gli stantuffi verticali (Nixon, 1980; Donaghay & Klos, 1985), le pagaie rotanti (Donaghay

& Klos, 1985; Prins et al., 1994), i rotatori elettrici (Peterson et al., 1985; Sommer et al., 2006), le griglie oscillanti (Howarth et al., 2001), i pompaggi (Peterson et al., 1998) e il *bubbling* (Eppley et al., 1978, Sonntag & Parsons, 1979; Kim et al., 2008).

La presenza o l'assenza di moto turbolento all'interno di un sistema chiuso, sembra avere un effetto significativo sull'abbondanza dello zooplancton, soprattutto per quanto riguarda i copepodi, alterando temporalmente il picco di densità massima, mentre la dinamica e la composizione del fitoplancton sembrano non subire molte differenze secondo il tipo di approccio utilizzato (Oviatt, 1981). Nonostante approcci come il *bubbling* sembrano essere sufficienti a ristabilire la comunità fitoplanctonica, l'intensità e il tempo del mescolamento rimangono comunque non naturali (Eppley et al., 1978), solo la combinazione di più approcci utilizzati simultaneamente creano all'interno di mesocosmi con pareti flessibili una turbolenza che rientra nei *range* dei valori naturali (Svensen et al., 2001; Nerheim et al., 2002).

Da diversi anni ormai, si assiste ad un crescente interesse riguardo gli effetti che l'acidificazione degli oceani potrebbe avere sulle comunità planctoniche, poiché esse rivestono un ruolo fondamentale sul sequestro e consumo della CO₂ atmosferica (*biological pump*) e di conseguenza sul ciclo globale del Carbonio (Gazeau et al., 2016).

Molti sono gli studi condotti negli ultimi anni, e molti di questi utilizzano come strumento il mesocosmo, in quanto permette di modificare una variabile, in questo caso il pH, monitorando gli effetti di questo cambiamento sul biota e anche sulle altre variabili abiotiche.

E' stato calcolato che dal 2003 si registra un aumento medio annuo di circa il 26.3% di emissioni antropogeniche (Le Quere et al., 2014). Gli oceani riescono a sequestrare grandi quantità di CO₂ presente in atmosfera rallentando di fatto gli effetti del *Global Warming*, inducendo così un cambiamento nella chimica delle acque chiamata *ocean acidification*. Si calcola che dall'inizio dell'era industriale ad oggi il pH sia diminuito dello 0.1% che equivale ad un incremento di acidità del 26% (Ciais et al., 2013).



L'equilibrio chimico tra anidride carbonica, acido carbonico, bicarbonato e carbonato di calcio dipendono dal valore di pH presente in acqua.

Il Mar Mediterraneo è da sempre considerato un' area oligotrofica, dove tuttavia esiste un gradiente che va dal meso-oligotrofico (bacino Ovest) all'ultra-oligotrofico (bacino Est) (The Mermex group, 2011). Nonostante sia considerato un oceano a microscala (Bethoux et al., 1999), il Mar Mediterraneo presenta un alta salinità e un alto livello alcalino totale rispetto all'oceano aperto, con una conseguente più alta sensibilità nell'assorbimento di CO₂ antropogenica (CIESM, 2008).

Gli esperimenti all'interno dei mesocosmi rivestono in questi casi un ruolo predittivo molto

importante, in quanto permettono di determinare la modalità con la quale la parte biotica del sistema considerato risponde ad un repentino cambiamento di uno o più aspetti abiotici.

Molti studi condotti in laboratorio hanno permesso di verificare come una singola specie risponde ad un singolo stressore (Harley et al. 2006; Walther 2010; Wernberg et al., 2012). Questa modalità risulta essere restrittiva e innaturale nonostante sia abbinata spesso ad osservazioni e campionamenti eseguiti direttamente in natura. I mesocosmi rappresentano il *gap* tra questi due approcci poiché permettono di condurre esperimenti su larga scala e multi-specie, abbinando più stressori tra loro, senza allontanarsi dal contesto naturale, al fine di rendere maggiormente affidabile la previsione (Pansch et al., 2016).

3.4 Modelli previsionali di PP e modello Phyto VFP (Phyto Variable Fluorescence Production model)

Quantificare la produzione primaria fitoplanctonica è da sempre una sfida cruciale dell'ecologia. La misura di questo parametro è oggetto di controversie riguardo la metodologia con la quale si distingue la produzione primaria lorda dalla produzione primaria al netto della respirazione delle cellule fitoplanctoniche stesse. La stima classica viene effettuata attraverso metodi analitici che misurano l'assimilazione del ^{14}C (Steemann e Nielsen, 1952) o della concentrazione di ossigeno solubile (Williams e Jenkinson, 1982; Langdon, 1984), e che restituiscono risultati in massa di carbonio assimilato per unità di tempo e di volume riferito alla clorofilla_a (Chl_a). I limiti di tali metodologie riguardano soprattutto l'inadeguata copertura spaziale connessa alla necessità di effettuare campionamenti *in situ*.

Per sopperire a questa mancanza sono stati sviluppati modelli matematici in grado di stimare la produzione primaria fitoplanctonica su larga scala a partire da dati di Chl_a superficiale, acquisiti con sensori remoti.

Alcuni di questi modelli (Es_ Morel, 1991) hanno permesso di acquisire numerose informazioni riguardo lo studio di questa problematica e sono correntemente utilizzati per l'interpretazione di dati satellitari. Tuttavia, è stato ampiamente dimostrato come questi modelli forniscano delle stime spesso lontane dalle misure effettuate *in situ* (Siegel et al., 2002; Campbell et al., 2002; Carr et al., 2006). La sfida che resta quindi ancora aperta è quella di ottenere delle stime di PP fitoplanctonica su scala spaziale e temporale tali da risultare utili alla comprensione della problematica di base, e che allo stesso tempo tengano conto di tutti gli aspetti fisici e biologici che concorrono al processo fotosintetico e che possono essere compresi adeguatamente solo attraverso le misure dirette (sea truth).

Il modello Phyto VFP (Phytoplankton Fluorescence Production model) si basa su un modello messo

a punto da Stefani et al. (2015) nel Laboratorio di Oceanologia Sperimentale ed Ecologia Marina coordinato dal Prof. Marcelli.

Il modello stima la produzione primaria fitoplanctonica puntuale ed integrata sia nello spazio, lungo la colonna d'acqua, che nel tempo. A tale scopo utilizza i principali fattori che regolano il processo fotosintetico, la disponibilità di luce superficiale e lungo la colonna d'acqua, la concentrazione e la distribuzione della biomassa fitoplanctonica, l'efficienza del processo chimico e i processi di fotoacclimatazione che coinvolgono i popolamenti fitoplanctonici.

4-MATERIALI E METODI

4.1 Area di studio

La fascia costiera del comune di Civitavecchia può essere considerata rappresentativa della realtà italiana in materia di gestione della costa, in quanto è una città che rispecchia la situazione su larga scala in Italia, per quel che concerne l'intenso uso e sfruttamento delle risorse marine. Questa città, infatti, che affaccia e vive direttamente sul mare, presenta molteplici attività antropiche, coesistenti e/o in conflitto tra loro sul litorale: in evidenza ci sono il porto, con un notevole traffico marittimo e la centrale a carbone Enel, che produce energia elettrica.

Insieme a questi significativi interessi economici di natura commerciale piuttosto che industriale, si devono considerare anche la dimensione urbana con i suoi inevitabili impatti sull'ambiente costiero. La popolazione costiera italiana ammonta a circa 17 milioni di abitanti (su un totale nazionale di quasi 58 milioni) e, aggregando i 642 comuni costieri a livello provinciale, Roma, con 3 milioni di abitanti, risulta la provincia costiera più popolata. Viene inteso “costiero” un comune direttamente confinante con il mare. In particolare, il comune di Civitavecchia è uno dei più popolosi della provincia romana, contando oltre 52.200 abitanti e una popolazione in crescita negli ultimi anni, con una densità abitativa pari a 752,6 ab/km².

Il livello di pressione sul territorio è determinato da alcune caratteristiche quantitative (numero di unità locali e loro entità, qui rilevata in termini di numero di addetti) e qualitative (tipologia di settori, presenza di industrie ad alto impatto oppure a rischio di incidente rilevante, ecc.) del settore economico.

Da un'analisi delle unità locali distinte tra imprese, istituzioni pubbliche e no-profit emerge con evidenza come la distribuzione delle attività economiche nell'area, soprattutto per il contributo preponderante di Civitavecchia, è fortemente sbilanciata a favore delle imprese, una voce che da sola copre più del 90% delle unità locali e quasi il 70% degli addetti totali. Di gran lunga inferiore il dato relativo alle istituzioni pubbliche che risultano in numero inferiore anche alle istituzioni no-profit.

Infine è importante considerare l'insieme dei valori ecologici dell'ecosistema marino, dai quali anche i cittadini possono trarne enormi benefici. Tali valori sono rappresentati dalla presenza lungo il litorale dei Siti d'Interesse Comunitario (SIC) a prateria di Posidonia oceanica, che si estendono in varie porzioni da Capo Linaro ai fiumi a Nord di Civitavecchia, Mignone, Marta e Fiora.

I problemi riguardanti l'inquinamento ambientale in generale derivano spesso dalla superficialità con cui l'uomo considera il valore degli ecosistemi naturali, in quanto non posseggono una “visibilità economica” definita. È interessante lo studio di Robert Costanza del 1997 dove viene quantificato il valore economico associabile a ciascun ecosistema del pianeta. Costanza sottolinea

l'enorme valore che gli oceani rivestono con la loro ricchezza ecologica e varietà di habitat, come le distese di alghe unicellulari, pluricellulari e piante intese come le risorse più prolifiche in rapporto alla loro superficie.

4.1.1 Inquadramento territoriale

Ai fini dell'inquadramento territoriale è stata considerata la vasta area rappresentata dalla Piattaforma costiera Laziale i cui caratteristici lineamenti morfologici sono di seguito descritti. Nell'area oggetto di studio la piattaforma continentale, una delle più sviluppate lungo il margine tirrenico, è caratterizzata da un aspetto stretto e acclive rispetto alla media delle piattaforme italiane. La sua ampiezza è variabile: è più limitata nel settore centrale, tra Capo Linaro e Capo Circeo (20Km), mentre è maggiormente estesa nei settori settentrionale (tra l'Argentario e Capo Linaro) e meridionale (tra Capo Circeo e Gaeta) (30-40km). La sua pendenza media è di poco inferiore a 0.5°. Il margine verso mare, in corrispondenza del quale ha inizio la scarpata continentale, è ben definito e si trova ad una profondità variabile tra i 120 e i 150 metri.

Vari studi condotti circa l'influenza degli apporti solidi fluviali sulle caratteristiche delle spiagge laziali indicano che solo i fiumi Tevere e Garigliano influenzano la fascia batimetrica compresa tra 0 e 10 metri, mentre i corsi d'acqua minori incidono al più sulla composizione mineralogica.

Proprio tale composizione mineralogica delle sabbie delle spiagge del litorale laziale è stata associata al disfacimento dei vulcani quaternari ed è caratterizzata, ad eccezione delle aree più prossime alla foce del Tevere, da vistose concentrazioni di minerali pesanti.

4.1.2 Stazione di campionamento “Zero”

E' stata scelta la stazione di campionamento Zero per installare il prototipo del mesocosmo. Questa stazione fa parte della rete di osservazione ambientale C-CEMS. Il C-CEMS è un sistema di osservazione multi-piattaforma che opera nel settore marino costiero composto da osservazioni *in situ*, modelli di previsione e dati di telerilevamento per il monitoraggio e la valutazione dello stato ambientale delle ecosistema marino, come proposto dalla direttiva quadro sulla strategia marina (MSFD 2008/56 / CE). Esso fornisce informazioni integrate da utilizzare in diversi campi della ricerca ambientale (Figura 2).

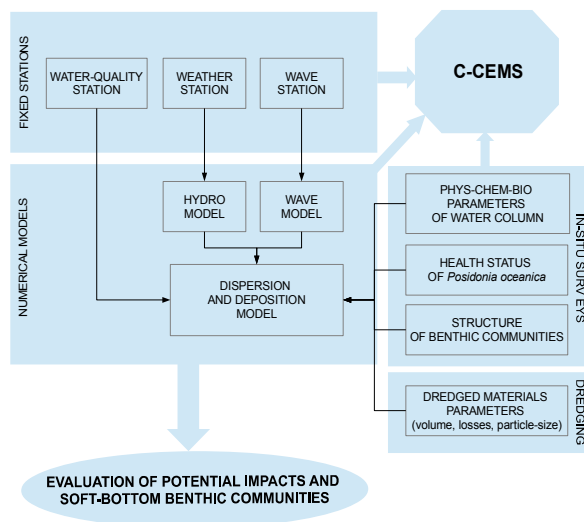


Figura 2: Schema del sistema C-CEMS

La stazione scelta (42.083 N; 11.7781 E) si trova a sud del porto di Civitavecchia, e viene utilizzata come stazione di riferimento (bianco). I dati fisici chimici e biologici relativi a questa stazione fanno riferimento agli anni 2013, 2014 e 2015.

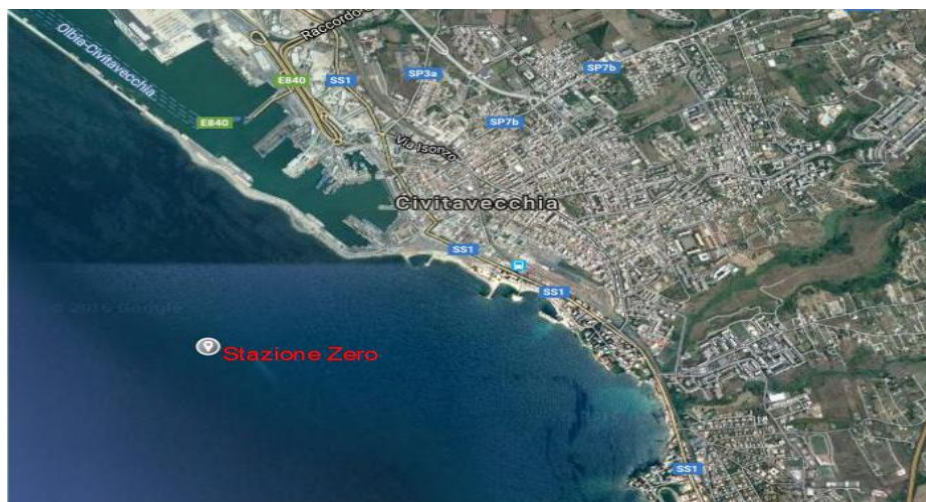


Figura 3: Stazione Zero 42.083 N; 11.7781 E

4.2_PeMaM (Pelagic Marin Mesocosm)

Il PE.MA.M. è stato pensato e creato affinché possa essere funzionale allo studio della fisiologia del comparto fitoplanctonico e allo stesso tempo possa provare a superare alcune problematiche insite alle strutture denominate mesocosmi.

4.2.1_Descrizione della struttura

Al fine di limitare i costi eccessivi della costruzione e messa a mare di tali strutture, il mesocosmo è stato realizzato in moduli di 10 metri ciascuno. La facilità di aggancio tra un modulo e l'altro permette di poter decidere a seconda della profondità della stazione di campionamento il numero di moduli da utilizzare.

Ogni modulo è composto da una rete in polietilene ad alta densità PEHD stabilizzato agli U.V., cucita a formare un tubo di 10 metri di lunghezza e 4 metri di circonferenza (diametro di 1.28). La rete che costituisce il mesocosmo presenta una maglia di 0.23 mm, che permette di mantenere le condizioni fisiche, chimiche, idrodinamiche e biologiche più vicino possibile a quelle reali.

La rete tubolare, è provvista di uno scheletro esterno composto da anelli cavi in pvc di 4 cm di diametro, ognuno dei quali è stato riempito di circa 3 kg di piombi posti sotto forma di listarelle lungo tutto il perimetro dell'anello. Ogni modulo presenta 5 tubi esterni, ogni 2.5 metri, che garantiscono alla struttura una rigidità e un peso tale da assicurarne la stabilità lungo la colonna d'acqua. Inoltre lo scheletro esterno mantiene il lume del mesocosmo aperto lungo tutta la sua lunghezza

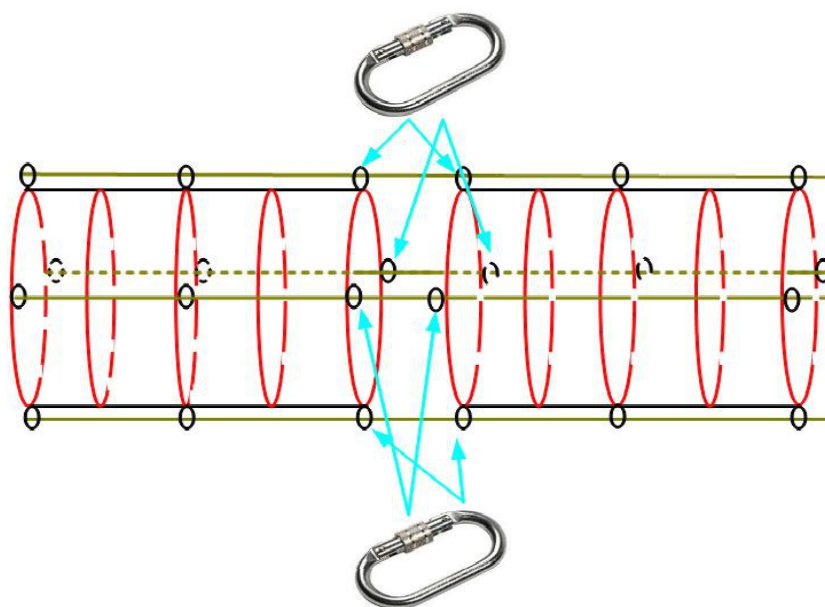


Figura 4: schema della struttura di moduli PE.MA.M. e esempio di assemblaggio tra due moduli



Figura 5: Costruzione del prototipo: primo modulo del PE.MA.M.

Il mesocosmo termina nella sua parte inferiore con un anello in pvc più grande rispetto agli altri (5 cm di diametro esterno) che contiene all'interno 10 kg di piombi distribuiti lungo la circonferenza, creando così la principale zavorra che permette all'intera struttura di scendere lungo la colonna in modo agile e veloce. Quattro cime, agganciate allo scheletro esterno ogni 5 metri, seguono l'intera struttura nella sua lunghezza e bloccate all'altezza dell'ultimo anello in acciaio, permettono una facile manovra di recupero, costringendo la struttura alla risalita mediante metodo a soffietto (Figura 5) .

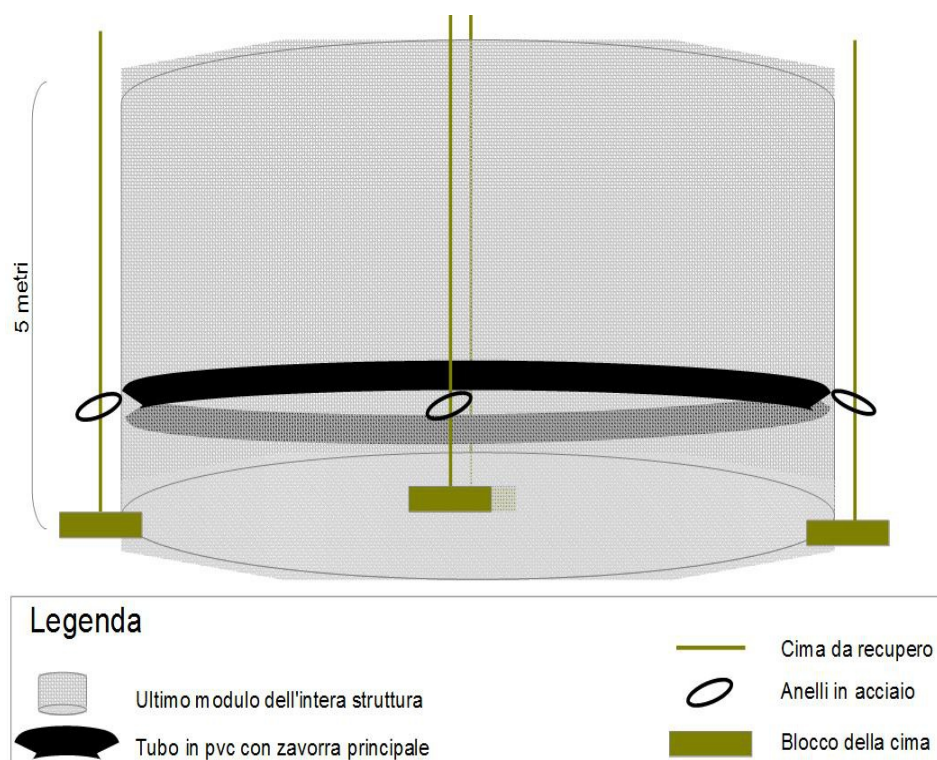


Figura 6: schema struttura della parte terminale del PE.MA.M., modalità di zavorramento

Nella parte superiore, a controbilanciare il peso dei piombi utilizzati, è stata costruita una struttura quadrata in plastica alla quale sono state attaccate delle boe galleggianti predisposte a sostenere 5 volte il peso di un singolo modulo, circa 18 kg per 1 moduli (Figura 7 e 8).

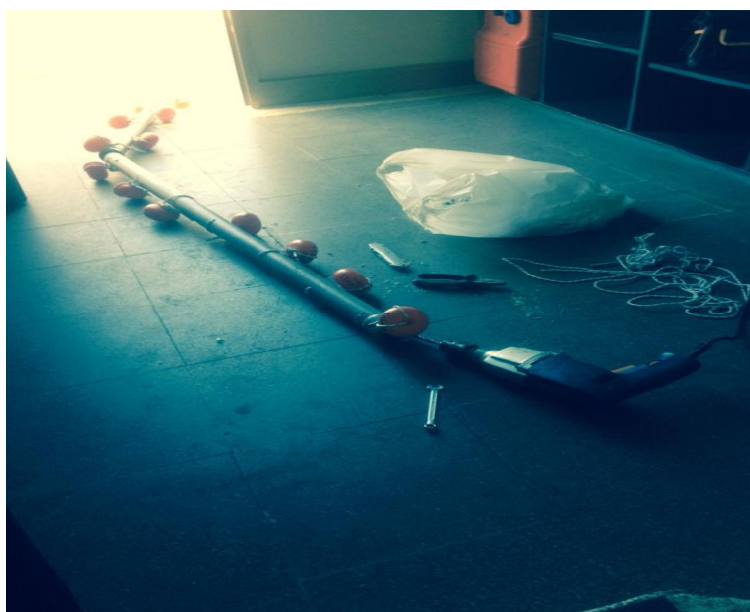


Figura 7: Costruzione apparato galleggiante del PE.MA.M.

La rete tubolare è stata assicurata al quadrato galleggiante in 8 punti di attacco, così da renderla sicura e bilanciata (Figura 8).

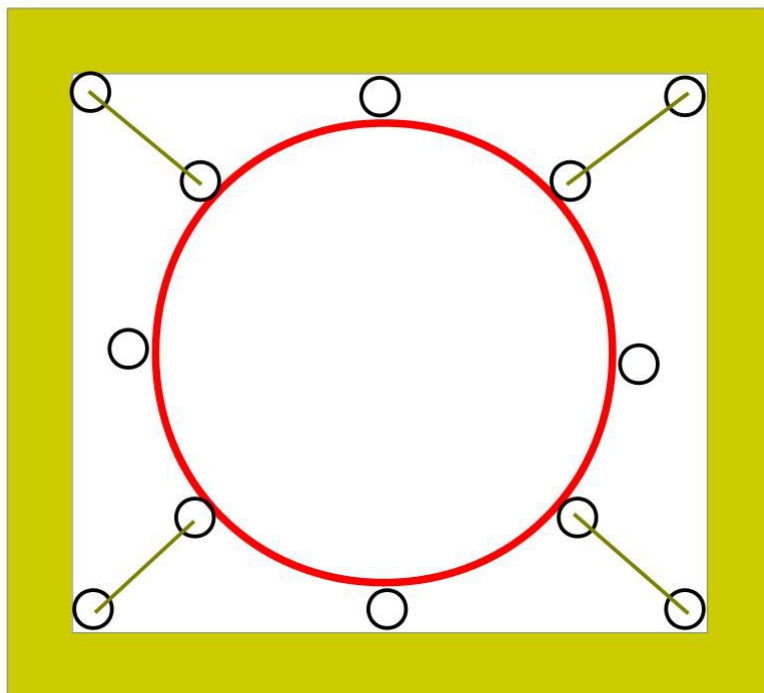


Figura 8: schema struttura galleggiante



Figura 9: Prima prova funzionale (galleggiamento e apertura) di un modulo (10 metri)

Il PeMaM è stato progettato e realizzato con l'idea di superare alcune debolezze tipiche di queste strutture. In particolare, l'apertura sia nella parte superiore che inferiore permette di mantenere il più possibile vicino alla realtà il regime di mixaggio naturale, mentre la maglia di 0,23 mm insieme alla facilità di messa a mare e recupero della struttura limitano sia l'effetto “muro” che la formazione del *biofouling*. Inoltre, la scelta di costruirlo in moduli distinti ma facilmente accorpabili ha ridotto nettamente i costi di realizzazione e di messa a mare.

4.2.2_Scheda tecnica e scheda costi

SCHEDA TECNICA RELATIVA AD 1 MODULO

Materiale rete tubolare	Polietilene ad alta densità PEHD stabilizzato U.V.
Materiale scheletro esterno	3 tubi in PVC (diametro esterno 3 cm)
Materiale apparato galleggianti	Quadrato in PVC 1.2 m lato
Galleggianti	28 galleggianti di segnalazione + 8 boe (10 kg c.a)
Lunghezza rete (m)	10
Circonferenza rete (m)	4
Diametro rete (m)	1.28
Raggio rete (m)	0.64
Volume acqua contenuta (m ³ ;L)	12.84, 12840
Peso totale struttura	15 (12 piombi; 3 rete)
Resistenza rete (kg a monofilo)	1.75
Maglia rete (mm; um)	0.23; 230
Meccanismo di risalita	A soffietto

COSTI RELATIVI AD 1 MODULO (EURO)

Rete (10 metri) + cucitura a cilindro	31
Trasporto rete	24.5
Tubo in PVC (12 metri)	15
Tubi in PVC rigido (4)	10
Boe piccole	40
Boe grandi	40
Pesi di piombo	85
Anelli d'acciaio	10
Cime di risalita	80

tot	335.5
Costo per ogni modulo aggiunto	91

4.3_Test in laboratorio sulla struttura

Sono stati condotti esperimenti preliminari in laboratorio al fine di testare la capacità di isolamento della rete utilizzata, sia per quanto riguarda la comunità fitoplanctonica, sia per quanto riguarda le variabili idrodinamiche, determinando così il rateo di attenuazione che la presenza della rete esercita sulla corrente orizzontale, e stimando così il possibile comportamento in mare dell'intera struttura.

Esperimenti di diffusione delle cellule fitoplanctoniche:

L'esterno e l'interno del PE.MA.M. sono stati simulati utilizzando una vasca 20x50x15 cm di plexiglass, divisa in due semi-vasche (Aout – Bin) da un setto costituito da una rete identica a quella del PE.MA.M. All'interno della vasca sono stati inseriti 10 litri di acqua, e solamente nella vasca Aout sono stati aggiunti 100 ml di coltura fitoplanctonica (*Clorella* sp.). In seguito sono state misurate le concentrazioni di clorofilla-a sia nella vasca Aout che nella Bin, prelevando 500 ml da ognuna ogni due ore per 8 ore, e nuovamente dopo 22 e 24 ore. I campioni sono poi stati analizzati allo spettrofotometro (UV-mini 1240, Shimadzu s.r.l.) in accordo con il manuale di riferimento “Metodologie di studio del plancton marino” (ISPRA 56/2010).

Nel grafico 1 sono riportate le concentrazioni misurate, in blu la vasca Aout e in rosso la vasca Bin. Nell'intervallo di tempo T0 la vasca Aout è l'unica a contenere cellule fitoplanctoniche; al tempo T1 nella vasca Bin è presente una concentrazione di clorofilla-a pari a 0.7528 mg/m³. Dopo 4 ore (T2) le concentrazioni hanno quasi lo stesso valore (2.70322 mg/m³ Aout e 2.37245 mg/m³ Bin). Negli intervalli di tempo T3 e T4 si nota un aumento di concentrazione in ambedue le vasche, secondo il trend naturale di crescita delle cellule fitoplanctoniche; negli intervalli T5 e T6 (dopo 22 e 24 ore rispettivamente) si nota un forte abbassamento dei valori dato dalla naturale mortalità delle cellule stesse. Nel grafico 2 si nota come i due profili, in blu la vasca Aout e in rosso la vasca Bin, dopo le prime 4 ore di “acclimatazione” abbiano andamenti simili. Dopo 4 ore l'ambiente Aout e Bin sono in equilibrio tra loro, e che la comunità fitoplanctonica interna scambia con l'esterno solo nell'interfaccia tra rete e acqua.

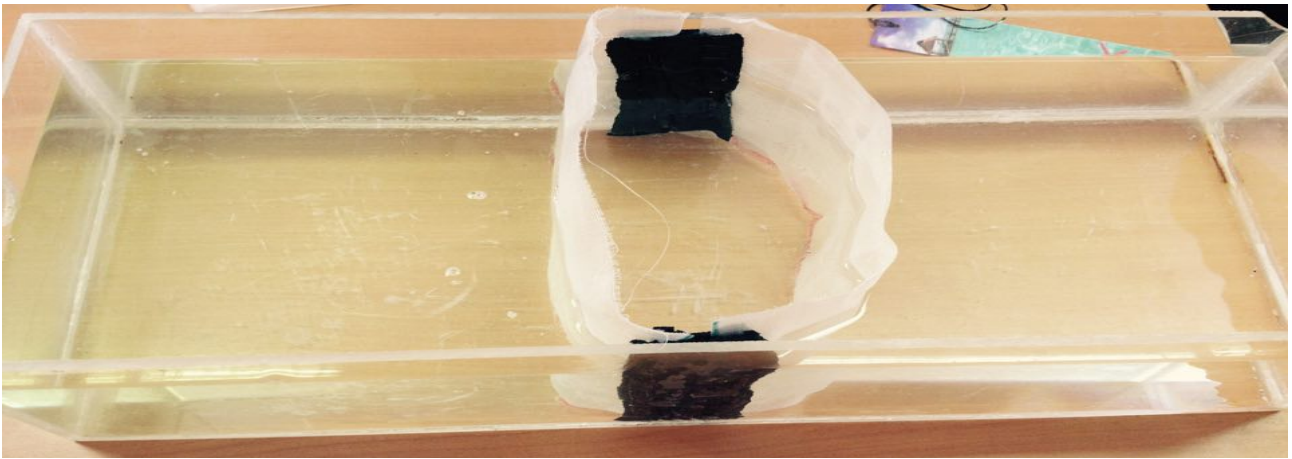


Figura 10: Vaschetta per esperimento di diffusione cellulare

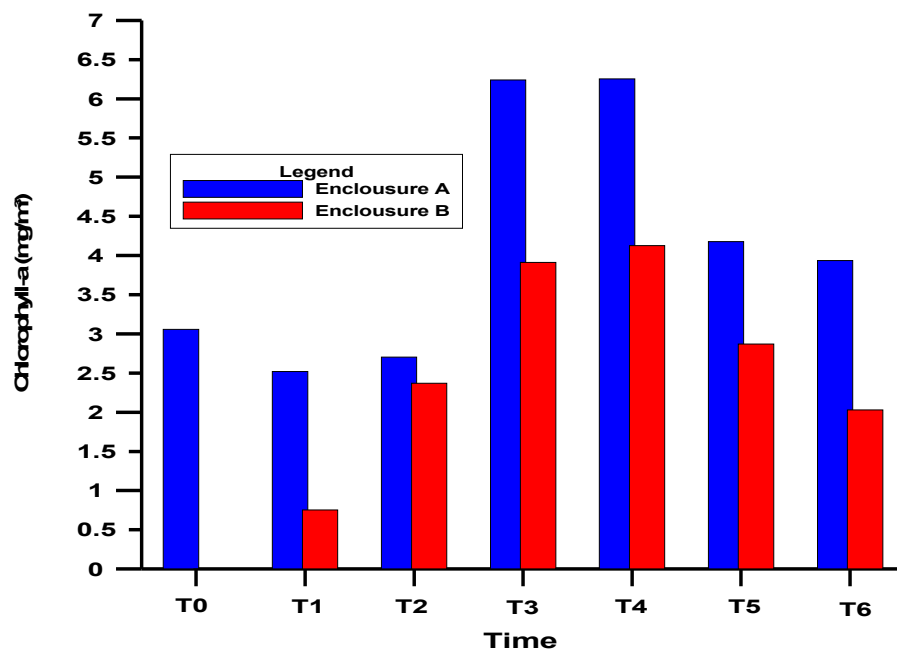


Grafico 1: Concentrazioni [mg/m³] di Clorofilla-a misurate mediante spettrofotometro. In blu i valori relativi alla vasca Aout ed in rosso Bin.

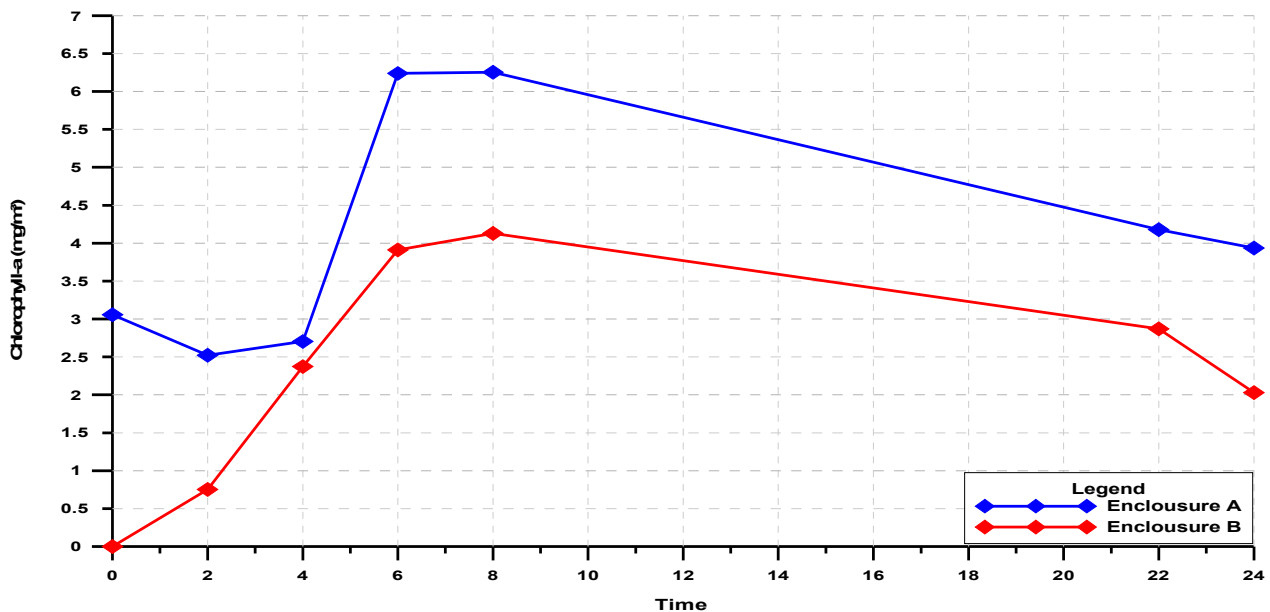


Grafico 2: Andamento delle concentrazioni di Clorofilla-a all'interno dei due recipienti in un lasso di tempo di 24 h, Aout in blu ed Bin in rosso.

Esperimenti di dissoluzione di componenti in solfato di calcio, clod cards (Doty, 1971; Thompson & Glenn, 1994):

Per questo esperimento sono stati utilizzati: una vasca 100x80x50 cm di plastica dura (figura 11), 6 *clod cards* componenti in solfato di calcio emiidrato, con un peso che varia tra i 22 e i 24 grammi costruite secondo il protocollo scritto da Doty (1971) e una pompa ad immersione con velocità di flusso pari a 100 L/h. Sono stati condotti 2 esperimenti seguendo sempre la stessa procedura, uno in assenza di rete e l'altro ponendo tra il flusso d'acqua e le *clod cards* la stessa rete utilizzata per costruire il PE.MA.M.. Le 3 *clod cards* utilizzate per ogni esperimento sono state disposte alla stessa profondità alla quale è stata posizionata la pompa ad immersione (25 cm) ma a 10 cm di distanza dal flusso, 2 *clod cards* posizionate hai lati e una nel mezzo, a formare un triangolo isoscele. E' stato calcolato il peso delle *clod cards* prima di inserirle in acqua (peso secco W_i) e, dopo sono state sottoposte al flusso d'acqua per 6 ore, messe in stufa per 3 giorni a 55°C e poi pesate nuovamente (peso secco W_f).

Utilizzando la formula $1-(W_f/W_i)^{1/3}=aV^m$ (Thompson & Glenn, 1994), dove “ W_f ” e “ W_i ” sono i pesi delle *clod cards*, rispettivamente finale ed iniziale; “ a ” e “ m ” sono due coefficienti stimati

sperimentalmente attraverso una regressione lineare (intercetta e pendenza rispettivamente) e “V” è la velocità del flusso, è stato possibile calcolare la capacità di attenuazione del flusso da parte della rete del PEMAM stimandola a circa il 30%. Le *clod cards* nei due esperimenti (con o senza rete) sono state pesate dopo 6 ore, sia quelle poste ai lati della vasca (Cc1, Cc2, Cc4 e Cc5) sia quelle centrali rispetto al flusso (Cc3 e Cc6). In entrambi gli esperimenti le *clod cards* centrali sono quelle maggiormente consumate dopo 6 ore come è possibile vedere nella tabella 1, ma solo nell'esperimento condotto senza la presenza della rete PE.MA.M è stato possibile misurare una differenza tra peso iniziale (W_i) e peso finale (W_f) di più di 10 grammi (grafici 3 e 4).



Figura 11: Esperimento di dissoluzione di componenti in solfato di calcio, presenza rete PE.MA.M

Tabella 1: Confronto pesi iniziali e finali delle *clod cards* durante gli esperimenti con o senza rete

	Net				NO-Net	
	Cc1	Cc2	Cc3	Cc4	Cc5	Cc6
W_i (g)	22.5	22.86	22.76	23.55	23.32	22.67
W_f (g)	21.67	22.04	20.18	22.44	22.21	12.22

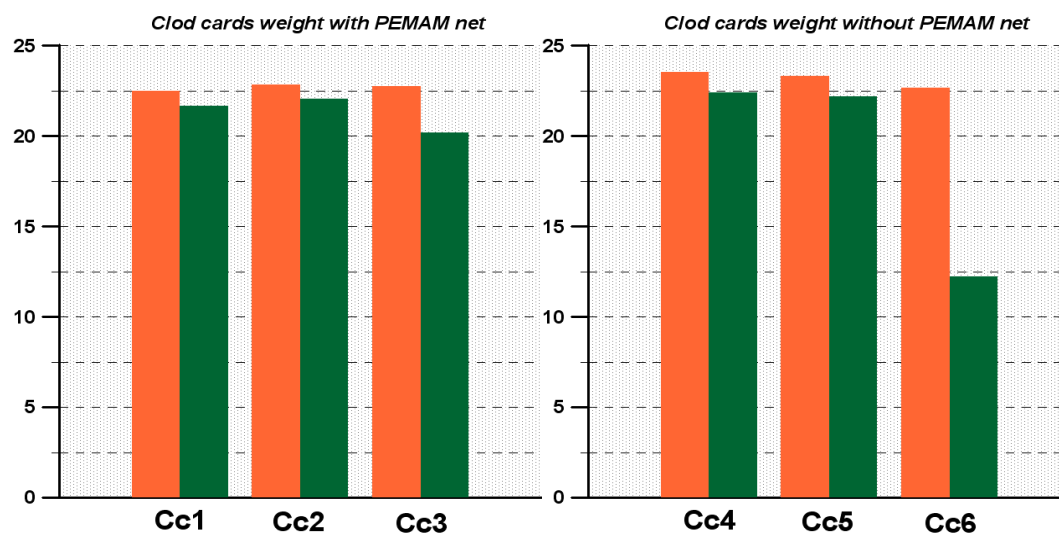


Grafico 3e 4 : I due grafici rappresentano i dati all'interno della Tabella 1, Cc1-2-3 riguardano .le differenze di peso delle *clod-cards* in presenza della rete del PE.MA.M, Cc4-5-6 in assenza della rete.

4.4_Campagne di campionamento

Sono state effettuate in totale 3 campagne di campionamento denominate “Meso_40”, in riferimento all'utilizzo della struttura PeMaM e al numero dei moduli usati, 4 (10 metri ciascuno). La prima campagna (A) è stata condotta in condizioni di stratificazione (29 Agosto 2016) e le altre due (B, C) in condizioni di mescolamento (11 Ottobre 2016 e 23 Dicembre 2016). I periodi sono stati individuati sulla base dell'analisi dei dati fisici (temperatura e densità) del dataset storico relativo alla stazione “ZERO”.

La campagna Meso_40 A è iniziata alle 08:30 e si è conclusa alle 18:30; la campagna Meso_40 B ha avuto inizio alle 09:00 ed è terminata alle 12:30 mentre la Meso_40 C è stata eseguita dalle 09:00 alle 17:00.

Per ogni campagna è stato installato il mesocosmo nei dintorni della stazione “ZERO”, ed ogni campionamento d'acqua è stato effettuato sia all'interno che all'esterno della struttura.

In tutte le campagne sono state prese ogni ora le seguenti misure lungo la colonna d'acqua (circa 0-40 metri):

- Pressione
- Temperatura
- Salinità
- Densità
- Fluorescenza

Ogni ora sono stati campionati 1 L d'acqua di mare a 5 metri e 1 L ad una profondità di circa 25 metri, conservati in bottiglie scure in PE e immediatamente filtrati attraverso un retino di 20 mm, escludendo così la componente zooplanctonica nel campione, questi campioni sono infine stati utilizzati per le misure di fluorescenza variabile (Water Pam, Waltz).

All' inizio di ogni campagna (T0) e poi ad intervalli di 4 ore sono stati campionati 2 L d'acqua di mare a 5 metri di profondità e 2 L d'acqua a 25 metri, anch'essi conservati in bottiglie scure in PE e pre-filtrati al fine di escludere lo zooplancton. Questi campioni sono stati invece successivamente utilizzati per le analisi spettrofotometriche (VIS-Shimadzu UVPC 2501).

4.5 Utilizzo del profilatore *Conducibility, Temperature, Depth* (CTD)

Per le misura in continuo lungo la profondità è stato utilizzato il profilatore CTD (Conducibility, Temperature, Depth) Ocean Seven 316 plus, prodotto dalla ditta Idronaut.

La sonda multiparametrica non richiede l'uso di pompe o qualsiasi altro dispositivo esterno che serve ad irrigare i sensori, minimizzando così il consumo energetico. I dati acquisiti vengono emessi tramite l'interfaccia RS232C standard che determina una velocità di campionamento a 20 Hz con il

software REDAS-5 come interfaccia (Figura 12).



Figura 12: Sonda multiparametrica Ocean Seven 316, Idronaut, CTD + Fluorimetro (sensore esterno), Ph, Ossigeno disciolto,

Il profilatore Ocean Seven 316 è provvisto di sensori di vario genere. Esso consta di: un trasduttore di pressione FS ad alta precisione 0,01% che è costituito da un ponte di piezoresistori immersi nell'olio. La dipendenza e la non linearità con la temperatura sono matematicamente compensate dall' interfaccia elettronico; un sensore di temperatura composto da una resistenza in platino molto efficiente (tempo costante: 50 ms) e con un effetto di auto-riscaldamento trascurabile; un sensore di conducibilità a flusso caratterizzato da una cella di quarzo con sette anelli, che non richiedono la presenza del platino per la misura del “bianco” e che possono essere puliti senza ri-calibrazione; un sensore d'ossigeno che opera fino a 7000 metri e dispone di un sensore polarografico innovativo a pressione compensata (Figura 11).

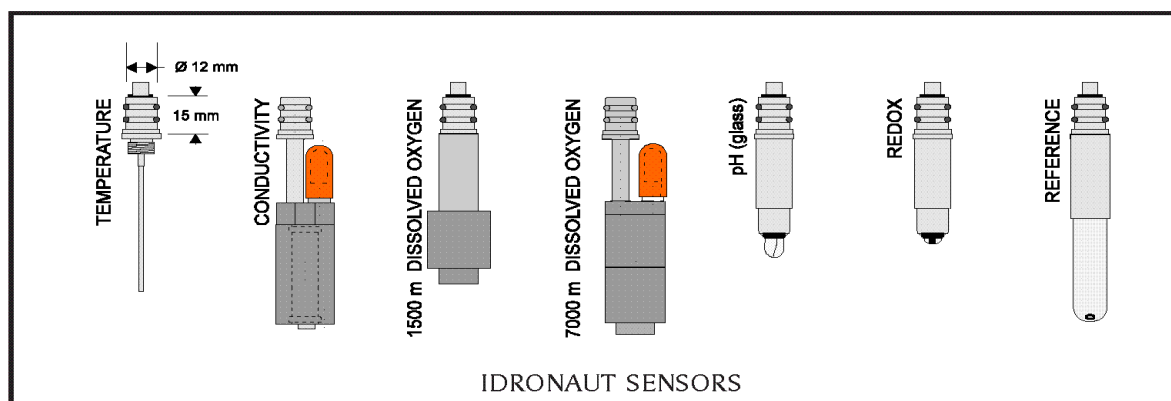


Figura 13: Particolari dei sensori dell'Idronaut Ocean seven 316

Le proprietà fondamentali dell'acqua di mare, come la salinità, la densità dell'acqua e i ppm di ossigeno si ottengono utilizzando gli algoritmi descritti dall'UNESCO nei documenti tecnici riguardanti le scienze marine (no. 44 "Algoritmi per il calcolo delle proprietà fondamentali dell'acqua di mare").

Il sensore di clorofilla-a Seapoint Fluorometer, sensore esterno al CTD ma direttamente collegato ad esso, è uno strumento ad alto rendimento e bassa potenza capace di misurare la clorofilla-a direttamente in situ fino a 6000 metri di profondità, con o senza l'utilizzo di pompe ad acqua; esso è provvisto di lampade e rilevatori di lunga durata ed alta affidabilità (Figura 14).

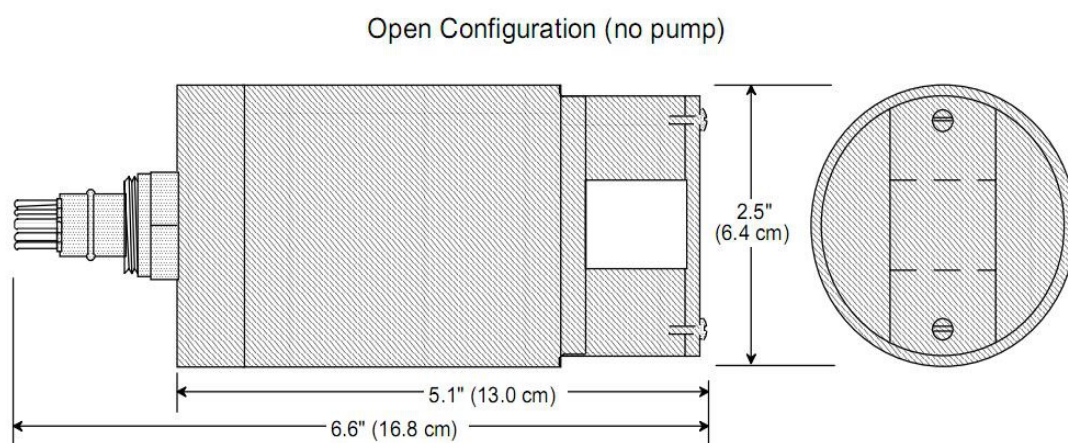


Figura 14: Particolare del fluorimetro seapoint.

La lampada LED blu a luce diretta, passa attraverso il filtro ed illumina il volume d'acqua all'interno della cella. La clorofilla-a presente nel volume d'acqua viene eccitata dalla luce blu ed essa riemette nel rosso. La fluorescenza riemessa viene indirizzata verso la finestra del rilevatore da un sistema di lenti e filtri. La piastra finale dello strumento impedisce alla luce ambientale di interferire in questo processo, in questo senso agisce anche l'alta capacità selettiva del filtro del rilevatore (Figura 15). Il volume che lo strumento riesce a indagare è pari a 340 mm³.

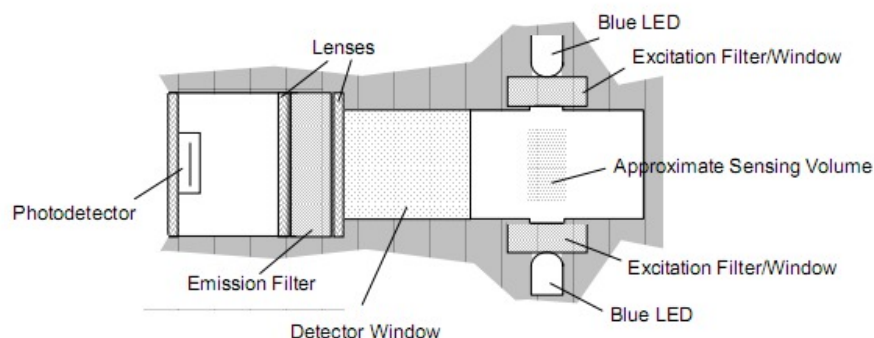


Figura 15: Funzionamento del fluorimetro seapoint

4.5 Il fluorimetro water PAM (Pulse Amplitude Modulation)

Le misure di fluorescenza variabile sono state eseguite attraverso l'utilizzo del Water PAM, fluorimetro ad impulsi modulabili, costruito e distribuito dall'azienda Walz S.p.a..

Per la descrizione dello strumento facciamo riferimento ai manuali (Walz, 1999; 2000a; 2000b).

Il Water PAM è tra i primi fluorimetri realizzati per l'analisi dell'attività fotosintetica del fitoplancton in ambiente naturale ed è molto sensibile rispetto agli strumenti precedenti. È specializzato per lo studio di sospensioni molto diluite di alghe unicellulari, cianobatteri o isolati cloroplasti e protoplasti, e per questo è molto adatto anche per misurare l'attività fotosintetica del fitoplancton nelle acque superficiali naturali.

Utilizzato insieme al software WinControl ci permette di compiere analisi molto specifiche della performance fotosintetica del fitoplancton, includendo anche la determinazione dello *yield* (Y) quantico, relativo alla quantità di elettroni trasportati, e della light-response-curve. In questo studio è stato utilizzato per le misurazioni in laboratorio.

In generale la fluorescenza della clorofilla è eccitata nel tempo da impulsi provenienti da luce led e viene misurato lo *yield* della fluorescenza relativo ad ogni impulso.

La luce attinica è applicata per regolare la fotosintesi prima di raggiungere uno stato stazionario. Vengono misurate le variazioni delle caratteristiche come lo *yield* della conversione di energia fotochimica e la fluorescenza della clorofilla.

Le curve d'induzione buio/notte vengono registrate sotto condizioni definite in maniera da ottenere informazioni dettagliate sulle varie parti della reazione di fotosintesi.

Gli impulsi di luce saturante sono applicati per indurre un blocco transitorio della conversione di

energia fotochimica e una resa massima di fluorescenza di clorofilla; in questo modo è possibile determinare lo *yield* della conversione di energia quantica, il quenching fotochimico (qP) e il quenching non fotochimico (qN). Lo *yield* quantico è misurato in step d'intensità di luce crescente, al fine di valutare le proprietà di saturazione della luce del campione.

Lo strumento è costituito da quattro componenti. La prima, la componente PAM Control Universal Unit, genera programmi definiti di *pulse* per l'eccitazione della fluorescenza, l'illuminazione attinica, e processa selettivamente i segnali di fluorescenza.

Il parametro di *yield* più rilevante è calcolato nel modo seguente:

$$YIELD = Y/1000 = (M-F)/M = \Delta F/M = \Delta F/F_m' \text{ (Genty-parameter)}$$

con un campione adattato al buio $\Delta F/F_m = F_v/F_m$, corrisponde al valore massimo di *yield* della conversione dell'energia fotochimica, mentre la stima relativa al flusso del trasporto di elettroni (ETR) viene calcolata tramite la seguente formula:

$$ETR = E = YIELD \times PAR \times 0.5 \times ETR\text{-factor}$$

La seconda componente, il software Win Control (versione per Windows), permette di operare via pc con il Water PAM. I dati vengono automaticamente scritti sia su di un Report_File (.txt) e si nella memoria del Water PAM.

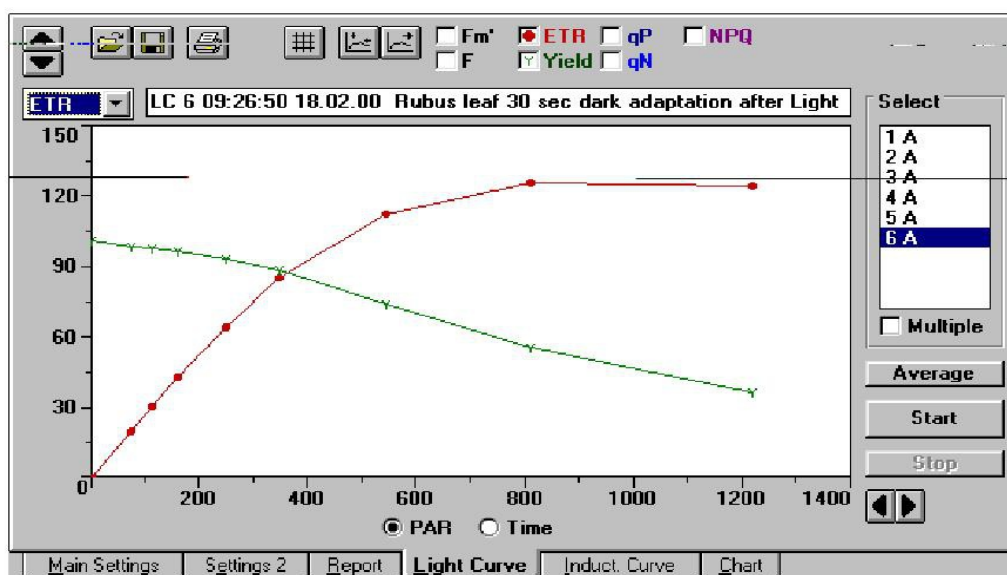


Figura 16: esempio di schermata del software Win-control

La terza componente, la Water-FT Emitter Detector Unit, strumento ultra-sensibili, riesce a misurare concentrazioni di fluorescenza della clorofilla_a molto basse. E' uno strumento sia da campo che da laboratorio.

È composto da: un contenitore molto resistente dove mettere il campione, con due cavi PM-in e

AUX-out da connettere al PAM Control; una componente *Measuring Head* con porta cuvetta; un coperchio in plexiglass che protegge le componenti ottico-elettroniche dall'acqua; una cuvetta (15 mm di diametro e 46 mm altezza di); un LED-Array circolare con 3 luci led con picco a 650 nm, 11 led per luci-attiniche con picco a 660 nm, luce rosso lontano con picco a 730 nm; un fotomoltiplicatore detector basato sul sensore Module H6779-01 con collimazioni ottiche e filtri ottici che fanno passare lunghezze d'onda di 710 nm, ottimizzate per un basso sfondo; un LED-array drivers e amplificatori di pulse.

l'ultimo componente è il sensore sferico di PAR necessario per le misurazioni di densità di flusso quantico della radiazione fotosinteticamente attiva del campione, provvisto di una sferetta di plastica bianca di 3 mm di diametro connessa tramite una fibra di plastica di 1 mm di diametro a un fotodiodo protetto da una serie di filtri per la selezione della radianza fotosintetica attiva (380 – 710 nm).

Il segnale di luce viene pre-amplificato prima che entri nel PAM-Control.

Il Water-PAM permette oltre che misurare il contenuto di clorofilla attraverso lo *yield* di fluorescenza, di osservare le proprietà fotosintetiche e lo stato fisiologico del campione misurando i cambiamenti di fluorescenza indotti dalla variazione della luce.

4.6 Analisi spettrofotometriche: “Metodo spettrofotometrico per i pigmenti liposolubili”

I campioni d'acqua presi ogni 4 ore sono stati filtrati su filtri di fibra in vetro Whatman GF/F di diametro 25 mm con porosità nominale 0.7 μm con una pressione di circa 30 KPa per evitare la rottura delle cellule e quindi la perdita dei pigmenti.

Successivamente sono stati conservati a -20°C dentro una provetta da 10 ml, dopo l'aggiunta di 5 ml di acetone puro al 100% . Dopo 24 ore, i filtri con sopra il campione sono stati triturati e omogeneizzati e sono stati aggiunti altri 5 ml di acetone all' 80% così da ottenere, una soluzione finale di 10 ml di acetone al 90%.

I campioni omogeneizzati sono stati conservati al buio in frigo a 4°C per 24h e successivamente centrifugati per 15 min a 4000 giri/minuto al fine di separare l'estratto con i pigmenti liposolubili dai residui solidi del filtro.

Sull'estratto è stata eseguita un'analisi spettrofotometrica (Shimadzu UVPC 2501) per ottenere la concentrazione dei pigmenti liposolubili. Una determinazione preliminare è stata effettuata utilizzando l'equazione monocromatica che utilizza il coefficiente di assorbimento specifico per la clorofilla a di Jeffrey e Humphrey (1975). Questo metodo che si basa sulla singola lettura di densità ottica nel massimo assorbimento della clorofilla, e quindi a 664 nm di lunghezza d'onda corretta con quella a 750 nm della torbidità dell'estratto acetone (Lazzara et al. 2010),

consente una stima più robusta e attendibile della concentrazione dei pigmenti clorofilliani (cloro-feopigmenti), specialmente alle basse concentrazioni. Inoltre, sono state calcolate le concentrazioni di clorofilla a, b e c come riportato in Lazzara et al., (2010) usando l'equazione tricromatica dei carotenoidi totali e della clorofilla a e feopigmenti (Jeffrey and Humphrey, 1975).

-4.8 Analisi statistiche

Per questo studio sono state calcolate, in modo diretto o attraverso formulazione, più di 14 tipi di variabili, queste sono state raggruppate in 4 grandi gruppi:

- Variabili fisiche (Temperatura, Densità, Luce)
- Variabili chimiche (Azoto totale, Silicio, Fosfati)
- Variabili biologiche (Biomassa di Chl_a, Efficienza fotosintetica, Feofitina totale)
- Variabili Fotofisiologiche (Alfa, Beta, Ek, Ed, ETR max)

Ognuna di queste variabili è stata messa in relazione con tutte le altre calcolando quindi per ogni coppia il coefficiente di *Pearson* (R). Il coefficiente R, calcolato come la covarianza delle due variabili divisa per il prodotto delle deviazioni standard delle variabili stesse, permette di determinare se esse sono correlate o non correlate tra loro; il segno più o meno determina la direzione della correlazione (+ = correlazione positiva o diretta; - = correlazione negativa o inversa). L'indice di *Pearson* può indicare una correlazione debole ($0 < R < 0.3$), una correlazione moderata ($0.3 < R < 0.7$), una forte correlazione (> 0.7), una correlazione perfetta ($R = 1$) e una non correlazione ($R = 0$). Questi estremi sono da considerare come valore assoluto e quindi utilizzabili sia per correlazioni dirette che indirette.

In caso di n variabili, gli indici di correlazione possono essere presentati all'interno di una matrice quadrata $n \times n$, che presenta sia sulle righe che sulle colonne le variabili oggetto di confronto. La matrice risulta essere simmetrica, quindi sulla diagonale viene confrontata la variabile con se stessa, con un ovvio risultato di $R = 1$. In questo lavoro, sono state costruite 4 matrici di correlazione, dividendo i dati ottenuti secondo profondità (5 m e 25 m) e secondo le condizioni dinamiche presenti durante la campagna di campionamento (stratificazione o mescolamento). A questo scopo i dati delle campagne Meso_40 B e Meso_40 C sono stati accorpati in quanto le suddette campagne sono state effettuate entrambe in condizioni di mescolamento.

-4.9 Stima della produzione primaria fitoplanctonica durante le campagne Meso_40, Phyto VFP model

Un approccio moderno per lo studio dell'ecosistema pelagico richiede sia un'appropriata risoluzione spazio-temporale sia un'osservazione sinottica. La distribuzione della popolazione fitoplanctonica in natura è eterogenea sia nella meso che nella micro scala. L'importanza dei processi a mesoscala sulle dinamiche delle comunità fitoplanctoniche è largamente riconosciuta (Piermattei et al., 2006).

Le caratteristiche idrologiche della colonna d'acqua come turbolenza, trasporto laterale e livello di irradianza determinano la discontinuità del fitoplancton in mare; queste forzanti fisiche influenzano la disponibilità di nutrienti e la distribuzione delle cellule stesse lungo la colonna d'acqua. L'interazione tra le condizioni fisiche e la disponibilità delle risorse determinano lo stato fisiologico e l'attività delle cellule fitoplanctoniche.

Lo sviluppo dei dati satellitari permette di ottenere una visione sinottica su larga scala ma, questa metodologia soffre della totale assenza della terza dimensione, la profondità.

I modelli matematici e la loro parametrizzazione attraverso campionamenti *in situ*, vengono utilizzati proprio per sopperire a questa mancanza (Marcelli et al., 2006)

Durante questo progetto, i valori di efficienza fotosintetica, i parametri ad essa associati (alfa, beta, etr_{max} e E_k), la biomassa fitoplanctonica e i valori di PAR, sono stati inseriti all'interno del modello phytoVFP al fine di calcolare la produzione primaria fitoplanctonica puntuale (mgC/m^3) ed integrata nel tempo in situazione di fotolimitazione (11), fotosaturazione (12) e fotoinibizione (13).

$$PP(z) = \text{tasso trasporto elettronico} * PAR(z) * F_v/F_m(z) * Chl_a(z) \quad (11)$$

$$PP(z) = \text{tasso trasporto elettronico} * E_k(z) * F_v/F_m(z) * Chl_a(z) \quad (12)$$

$$PP(z) = \text{tasso trasporto elettronico} * E_d(z) * F_v/F_m(z) * Chl_a(z) / PAR(z) \quad (13)$$

5. Risultati

-5.1 Campagne di campionamento

Nelle pagine che seguono, verranno riportati i dati ottenuti durante le campagne di campionamento, divisi per ogni campagna; inizialmente i dati fisici e chimici (temperatura, salinità e densità) e successivamente quelli biologici (clorofilla_a). Il sensore Seapoint Fluorometer fornisce in uscita dati di fluorescenza, questi dati sono stati successivamente calibrati con i dati di concentrazione di biomassa analizzati allo spettrofotometro, in modo da ottenere il valore di concentrazione di clorofilla_a lungo tutta la colonna d'acqua.

Successivamente verranno mostrate le curve P/I (fotosintesi/intensità luminosa) ottenute grazie all'analisi con il fluorimetro ad impulsi variabili Water Pam, i grafici relativi ai parametri fotosintetici correlati alle curve P/I insieme all'efficienza fotosintetica. Nell'ultima parte del capitolo i dati delle 3 campagne vengono riassunti mediante tabelle e matrici di correlazione ed infine vengono presentati i grafici relativi alla Produzione primaria calcolata dal modello.

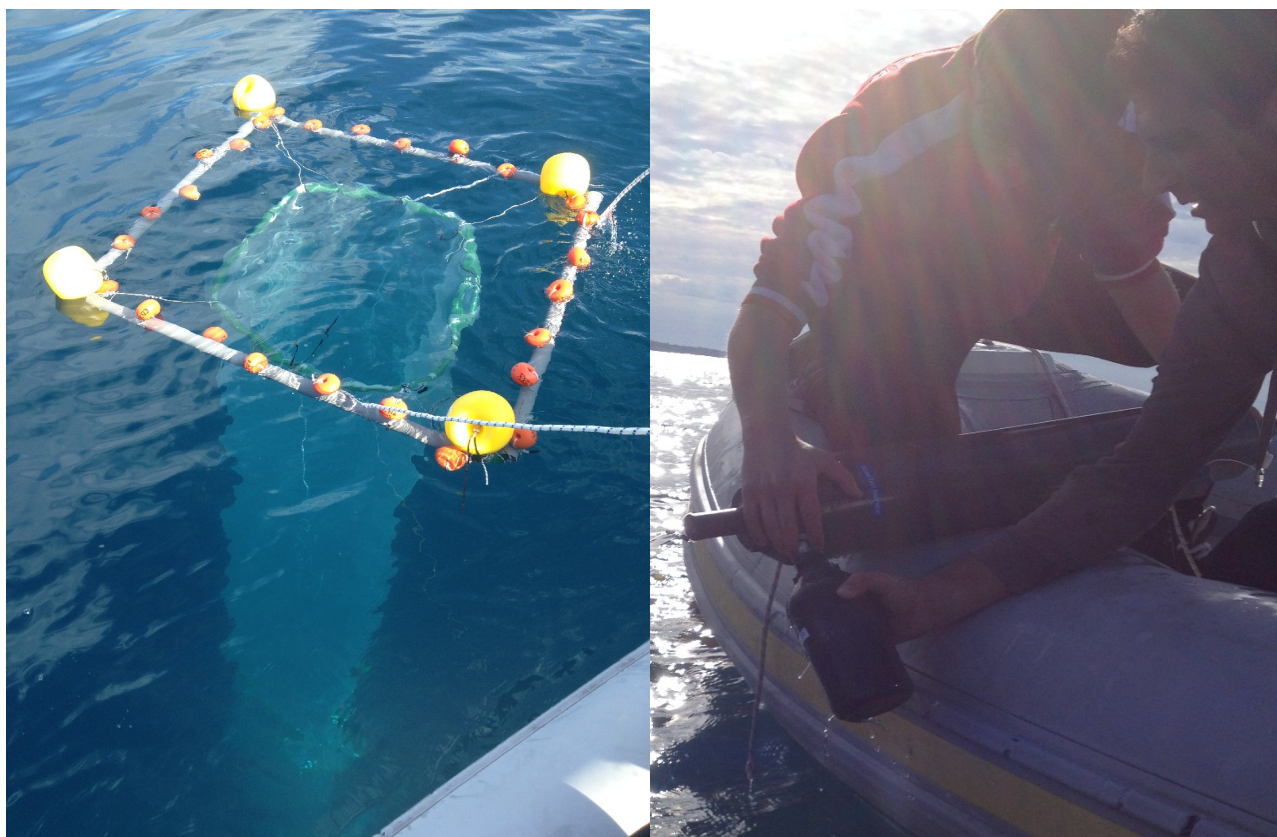


Figura 14: Campagna di campionamento, Agosto 2016 (a sinistra), Dicembre 2016 (a destra)

5.1.1_Meso_40 A (29.08.2016)

-Dati Fisici chimici e biologici

I dati ottenuti durante questa campagna, si riferiscono ad un periodo di tempo che va dalle 08:30 alle 18:30, ed interessano una porzione della colonna d'acqua di circa 30 metri di profondità. L'intera giornata è stata caratterizzata da una totale assenza di nuvole e onde, la velocità del vento non ha mai superato i 5 m/s mentre la variazione di temperatura dell'aria è stata tra un minimo di 23.9°C ad un massimo di 27.5°C. Come già accennato precedentemente ogni misura o campionamento d'acqua è stato eseguito con le stesse modalità sia all'interno che all'esterno della struttura, facendo passare il minor tempo possibile tra le due misure in modo da renderle maggiormente confrontabili.

Temperatura [°C]

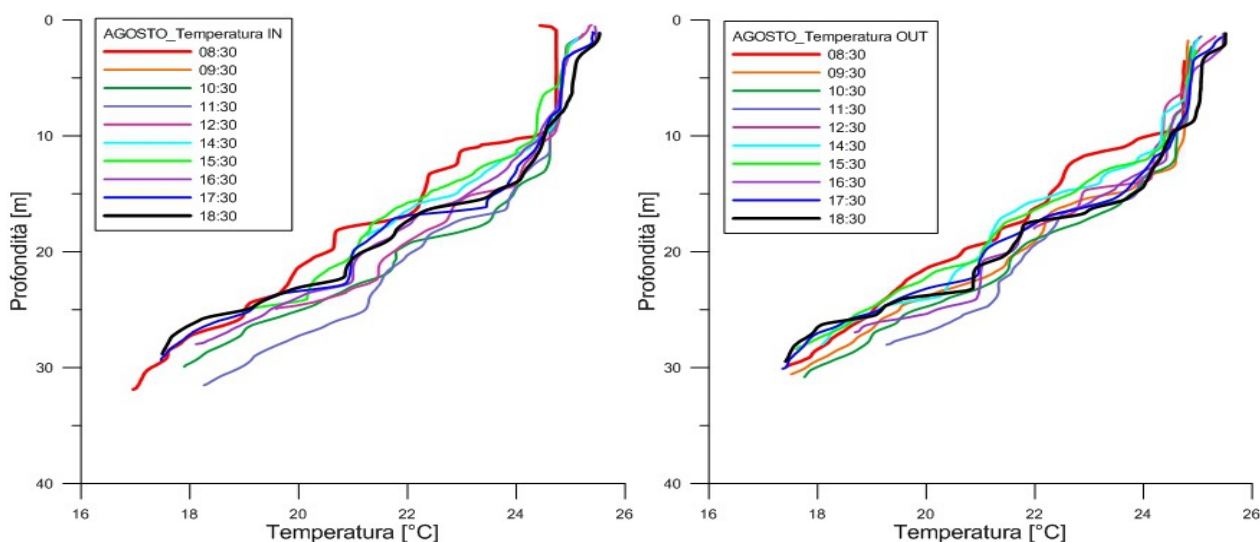


Grafico 5: Il grafico mostra una differenza di temperatura tra la superficie e il fondo di quasi 10 °C (17-25), si nota come la temperatura decresce con la profondità, dopo i primi 10 metri. Questa tipica conformazione estiva è riscontrabile sia nelle misure interne che esterne al PE.MA.M e durante tutta la durata della campagna di misure.

Salinità [psu]

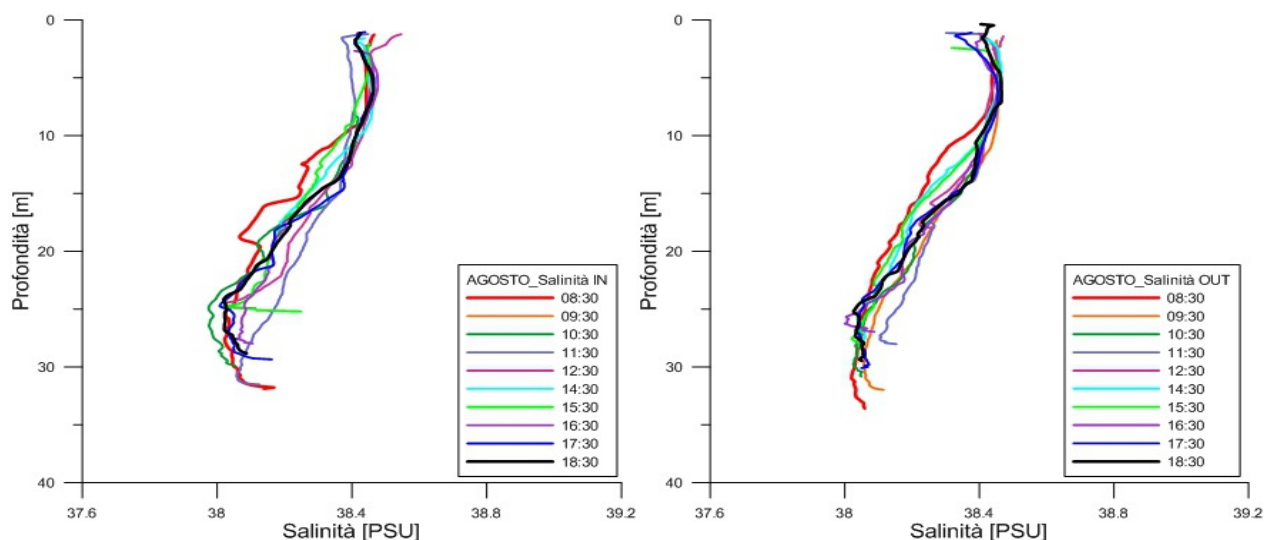


Grafico 6: In questo grafico sono riportate le misure di salinità della massa d'acqua presa in esame, si osserva un range di salinità molto stretto, da un minimo di 38 ad un massimo di 38.5 psu. Come per la temperatura si nota un decremento del valore all'aumentare della profondità. Non si notano sostanziali differenze nelle misure effettuate fuori o dentro la struttura.

Densità [g/m³]

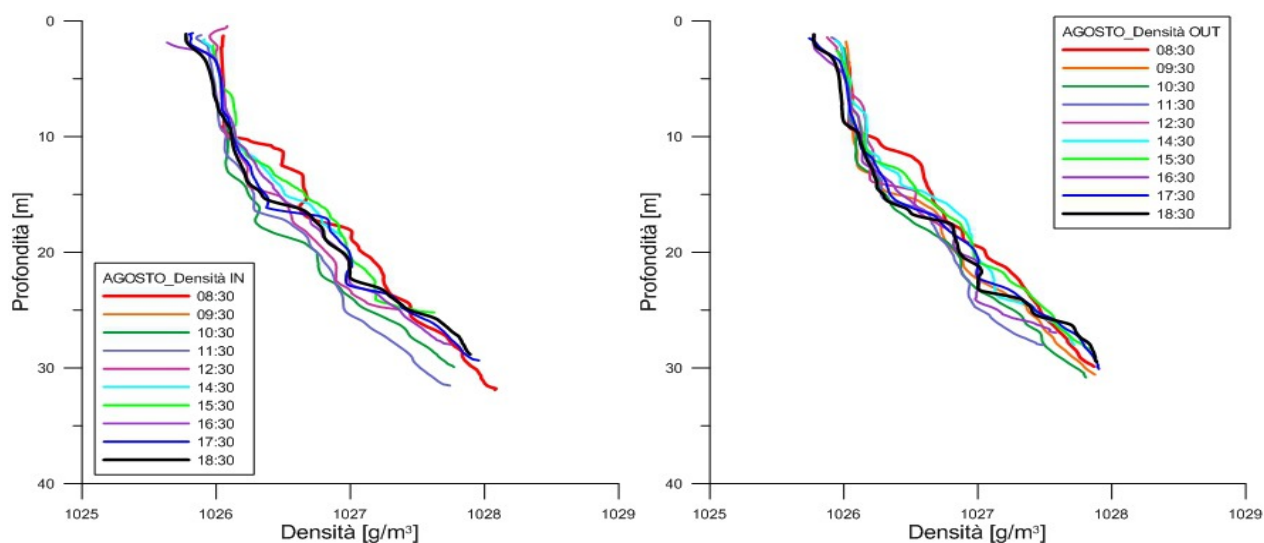


Grafico 7: I dati indicano un range di densità tra 1026 e 1028 g/m³, anche in questo caso come per la temperatura e la salinità, si osserva che il valore rimane pressoché costante fino a 10 metri di profondità. Lo stesso andamento si riscontra sia internamente che esternamente alla struttura.

Clorofilla_a [mg/m³]

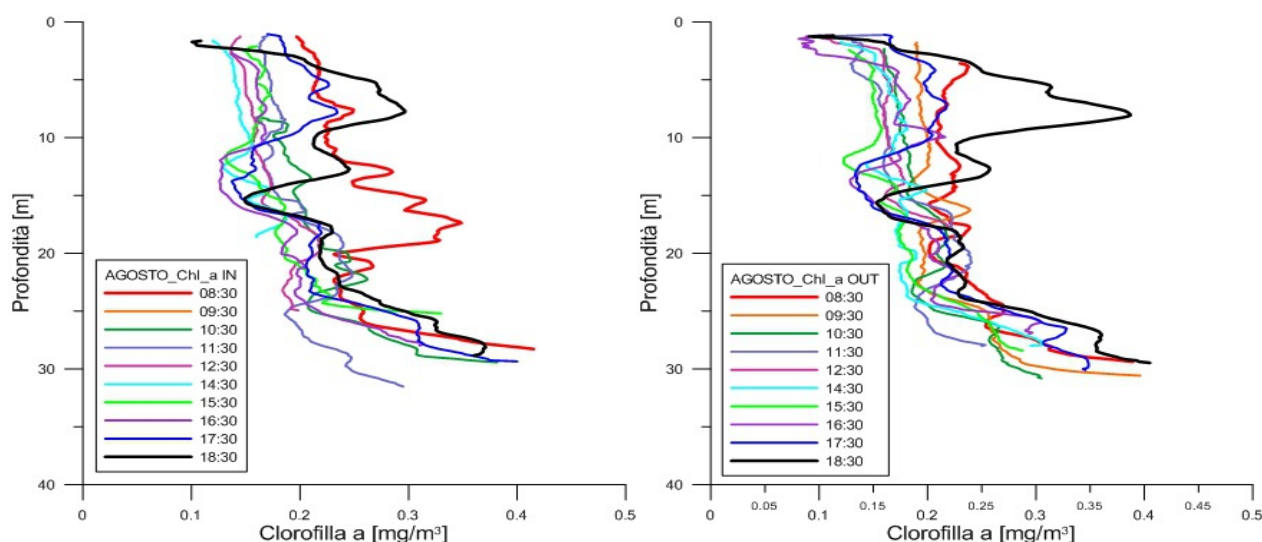


Grafico 8: Nel grafico è rappresentata la concentrazione di Clorofilla_a lungo la profondità e nel tempo, non si osservano sostanziali variazioni della concentrazione che rimane mediamente intorno ai 0.25 mg/m³. Internamente alle 08:30 (linea rossa) verso i 15/20 metri e alle 18:30 (linea nera) tra i 5 e i 10 metri, la concentrazione di clorofilla a arriva quasi a 0.4 mg/m³. Esternamente si osserva lo stesso picco alle 18:30 ma non alle 08:30. Non si riscontrano ulteriori differenze sostanziali nei dati presi internamente ed esternamente alla struttura.

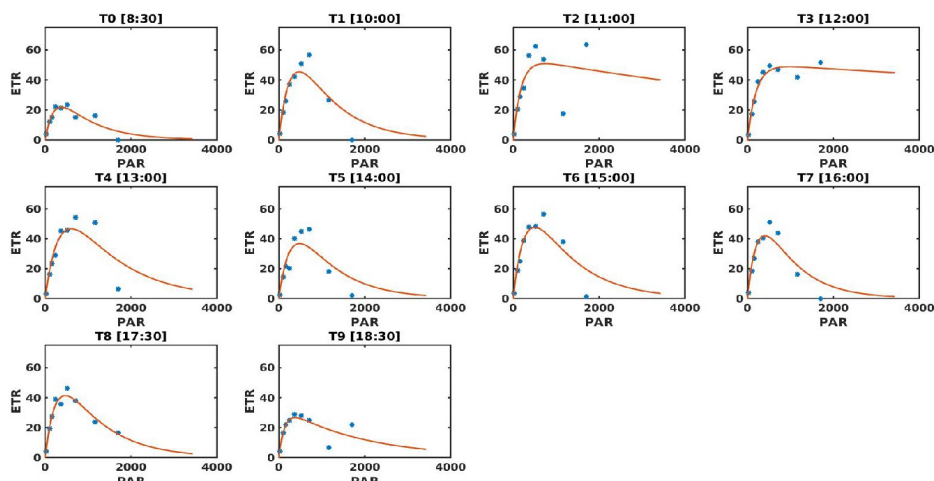
-Curve P/I (Fotosintesi/Intensità)

Il tasso fotosintetico è strettamente relazionato con l'irradianza tramite una funzione non lineare; per parametrizzare questa funzione è necessario determinare i valori di P (fotosintesi) secondo diversi valori di I (intensità luminosa, irradianza).

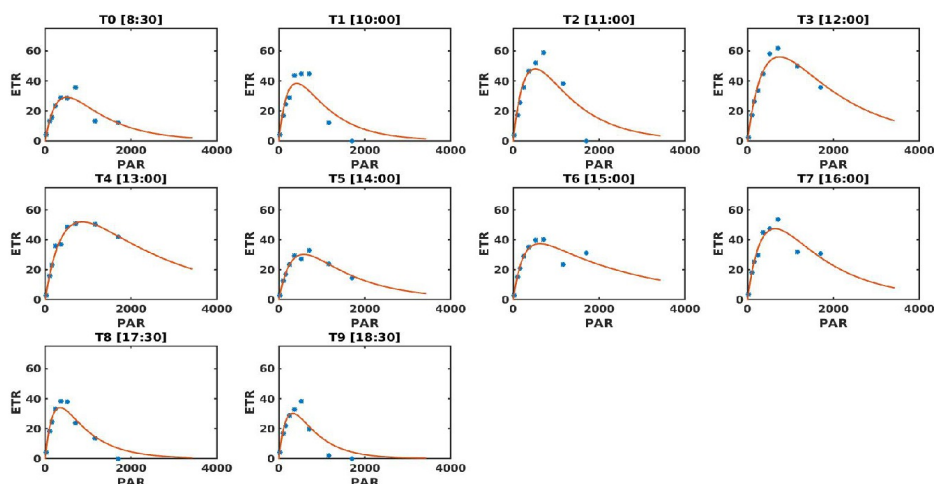
I campioni raccolti e poi analizzati tramite fluorimetro ad impulsi variabili (Water Pam), ci permettono di acquisire delle informazioni sullo stato di fotoacclimatazione presente al momento del campionamento. E' stata rivolta particolare attenzione al tempo trascorso tra il campionamento e l'analisi, se il tempo di incubazione è troppo lungo, una parte dell'acclimatazione avverrà durante l'incubazione sotto forma di fotoprotezione, se invece il tempo di incubazione è minimo (alcuni minuti), si può assumere che le misure di P secondo vari I sono valori molto vicini alla velocità di assorbimento del carbonio lordo (Sakshaug et al., 1997).

Nelle campagne Meso_40 sono stati raccolti campioni d'acqua a due profondità specifiche 5 e 25 metri. Queste profondità sono state scelte in quanto utili all'acquisizione di informazioni riguardo il comportamento fitoplanctonico in 2 diverse condizioni luminose (eliofila e sciafila rispettivamente). Riguardo la campagna Meso_40 A, i campionamenti sono stati effettuati cercando di rispettare il più possibile una cadenza oraria partendo dalle 8:30 fino alle 18:30.

Inside 5 metri

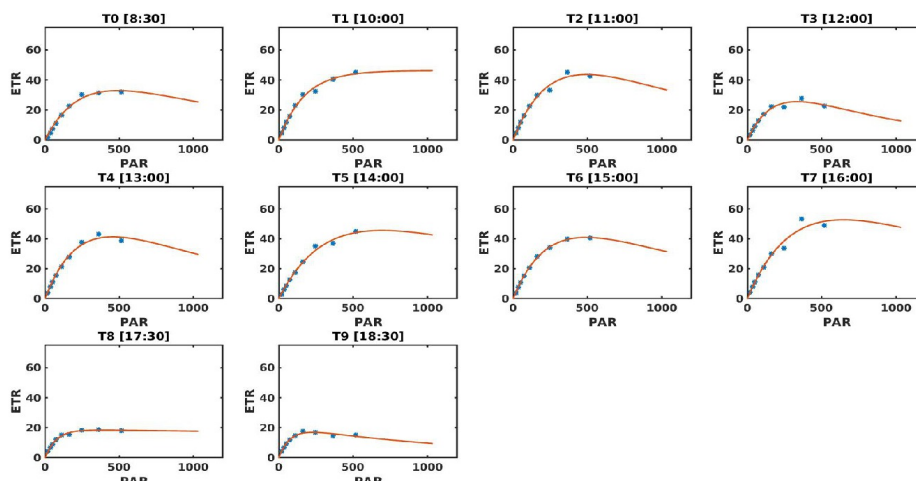


Outside 5 metri

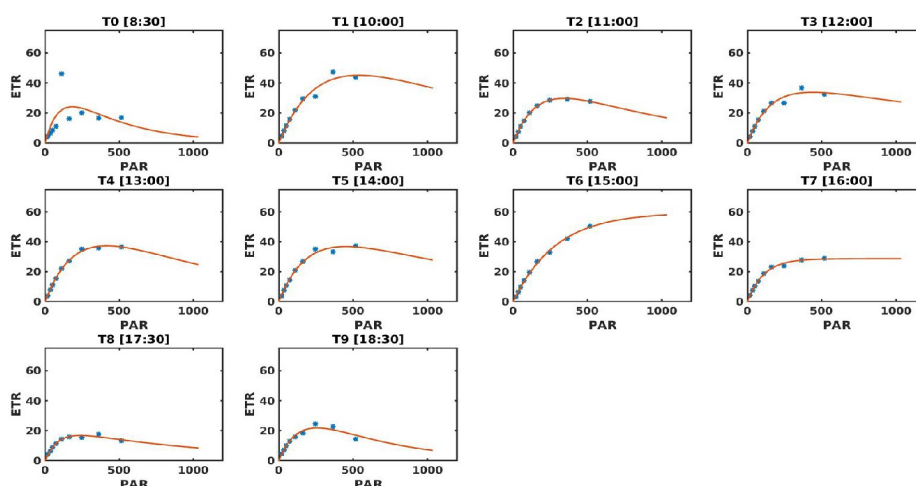


Grafici 9 e 10: Per analizzare i campioni d'acqua superficiale è stato impostato il fluorimetro in modo che modulasse gli impulsi di luce ricoprendo un range di intensità luminosa che varia dai 17 ai 1707 micronE/ms. Ogni campione (da T0 a T9) è stato indagato attraverso 9 impulsi di intensità di luce crescente. Il valore massimo di ETR raggiunto durante l'indagine svolta è riscontrabile sia internamente che esternamente alla struttura intorno alle 11:00 (T2) più di $60 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Si osserva come i grafici T2 e T3 Inside ed Outside siano differenti tra di loro, in quelli outside (sotto) si nota un andamento di fotoinibizione oltre i 900 micronE/ms non presente nei grafici inside (sopra).

Inside 25 metri



Outside 25 metri



Grafici 11 e 12: Per i campioni d'acqua presi in profondità è stato scelto un range di intensità luminose tra i 17 e i 516 micronE/ms, anche in questa analisi i 9 “pulses” del fluorimetro Water Pam sono stati emessi in modo crescente. Il massimo valore di ETR lo troviamo verso le 15:00 esternamente al mesocosmo e traslato di un ora (16.00) internamente, 49 e 51.7 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ rispettivamente.

Parametri fotosintetici (α , β , E_k , ETR max, P max):

-Alfa

Alfa è un parametro relativo, definito in termini di luce ambientale (irradianza), differisce dal maximum quantum yield che invece fa riferimento alla quantità di luce assorbita dalle cellule fitoplanctoniche. L'assorbimento di luce da parte del fitoplancton è una minima parte della luce assorbita dalla massa d'acqua quindi i due parametri differiscono molto tra di loro, per quantificare

alfa, il valore del maximum quantum yield deve essere moltiplicato al valore del coefficiente specifico di assorbimento della Chl_a.

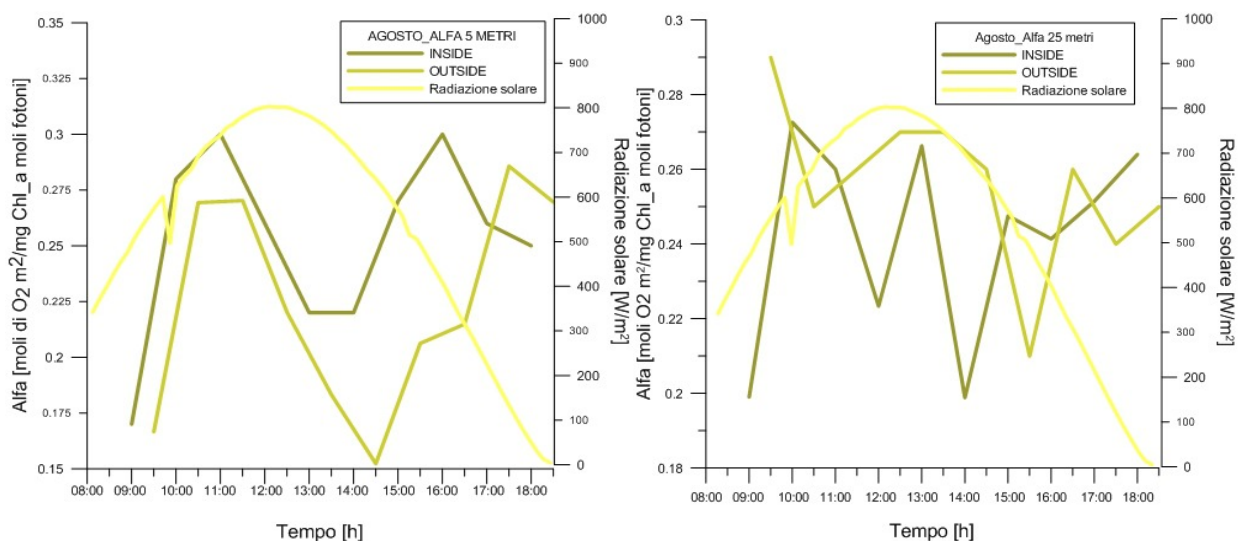


Grafico 13: Nel grafico di sinistra (valori a 5 metri) si nota inizialmente un andamento crescente al crescere della radiazione luminosa sia internamente che esternamente al PE.MA.M., questo fino poco prima del picco massimo della radiazione luminosa (intorno a 11:20). Nel periodo di tempo tra le 11:30 e le 14:30 entrambi gli andamenti decrescono. Dopo le 14:30 gli andamenti tornano a crescere.

Nel grafico a destra (valori a 25 metri) internamente si nota un oscillazione di picchi e flessi lungo tutto il periodo delle misure, si osserva un flesso dalle 10:00 fino a 12:00 in corrispondenza del momento di massima intensità luminosa. Esternamente tra le 10:30 e le 14:30 il valore appare essere molto stabile intorno ai 0.27 (moli di O₂ m² (mg Chl_a)⁻¹ (moli fotoni)⁻¹).

-Beta

Il parametro beta (β), rappresenta l'indice di foto-inibizione, ovvero il coefficiente angolare negativo della retta ad alta irradianza espresso in $[\text{mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2]$.

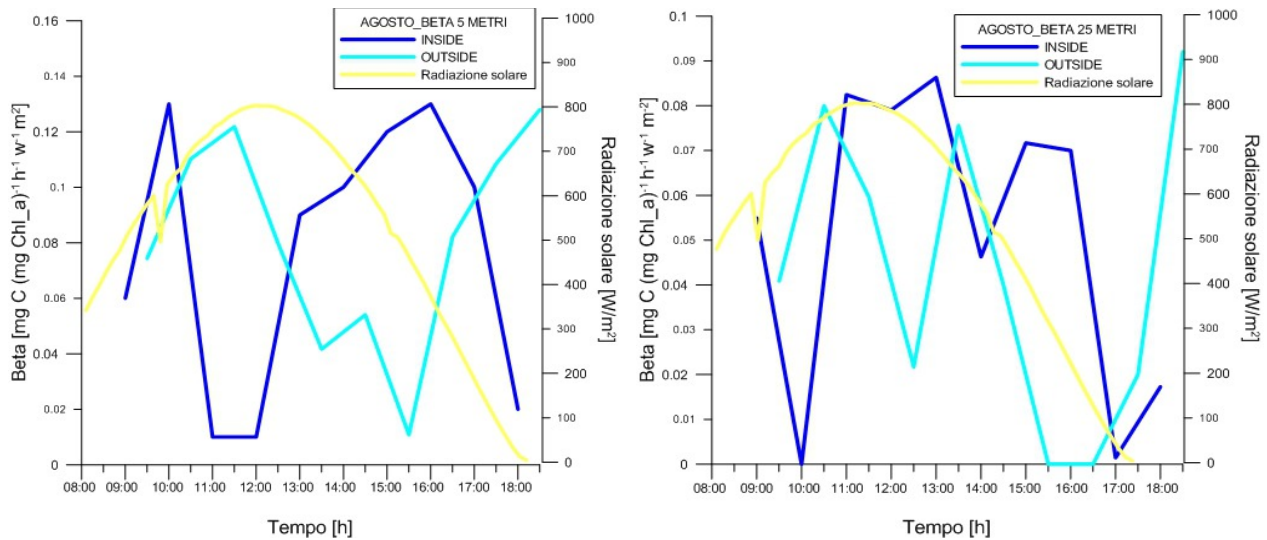


Grafico 14: A sinistra (5 metri) si osservano 2 andamenti del parametro β differenti tra loro. Esternamente si nota un iniziale andamento crescente tra le 09:30 e le 11:30, successivamente un decremento fino alle 15:30 e quando l'intensità luminosa torna a valori sotto i 600 W/m^2 l'andamento esterno torna a crescere, internamente si osserva un abbassamento dei valori dalle 10:00 fino alle 12:00, momento di maggiore intensità luminosa (800 W/m^2), dopo le 12:00 i valori crescono oltre i $0.13 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$ fino alle ore 16:00 per poi decrescere nuovamente. Nel grafico di destra (25 metri), si osservano generalmente valori di beta molto bassi tra 0 e $0.09 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$ durante l'intera giornata (tra i 800 e i 600 W/m^2)

-Ek

La variabile E_k indica l'intensità luminosa alla quale le cellule fitoplanctoniche presenti nel campione si saturano, esso è calcolato geometricamente come il punto di incontro tra la tangente della curva P/I e la retta disegnata a partire dal valore di ETR max, riportando il punto d'incontro tra le due rette sull'asse delle ascisse, si determina E_k . In questo lavoro è stato calcolato matematicamente attraverso la formula:

$$E_k = \text{ETR max} / (\alpha * \ln((\alpha + \beta) / \beta)) \quad (11)$$

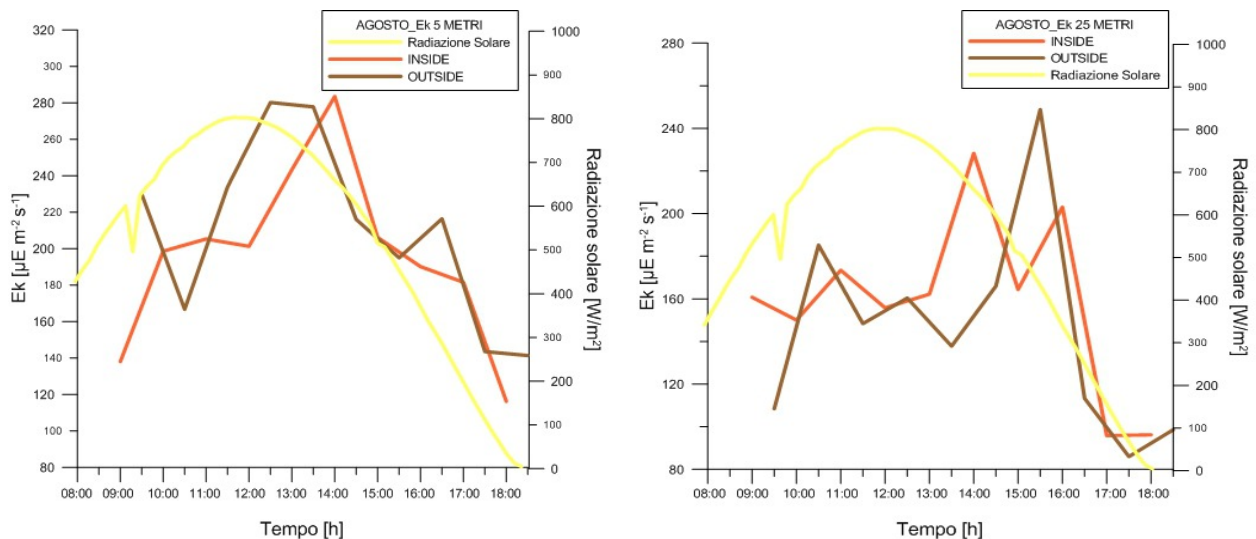


Grafico 15: Nel grafico riguardante i valori di Ek rilevati a 5 metri (sinistra), si osserva che i due andamenti sono molto simili tra loro lungo l'intera giornata di campionamento con picchi su valori vicino ai $280 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$, si osserva un piccolo ritardo temporale nel picco massimo, internamente lo troviamo alle 14:00 esternamente invece alle 12:30. Anche nei dati relativi ai valori di Ek presi a 25 metri (destra) si osserva un ritardo, in questo caso è il picco massimo INSIDE ad avvenire temporalmente prima al picco OUTSIDE, questo ritardo risulta essere di circa 2 ore (14:00-16:00 rispettivamente). In entrambi i grafici, i valori massimi di Ek si trovano nella zona decrescente della curva di radiazione solare, tra i 600 e gli 800 W/m^2 superficialmente e tra i 400 e i 750 W/m^2 a 25 metri.

-ETR max (maximum value of electron transport rate)

Il tasso massimo di flusso elettronico, è indipendente dall'assorbimento della sezione trasversale dell'apparato fotosintetico, tranne per la relazione statistica studiata da Harrison e Platt nel 1980, l'ETR è relazionata con il numero di unità fotosintetiche e con il reciproco del tempo di turnover degli elettroni. (Dubinsky et al., 1986). In questo caso sono stati presi in esame gli andamenti dei valori massimi del rateo di trasporto elettronico sia interni che esterni al mesocosmo e l'andamento della radiazione solare giornaliera (dati presi dalla stazione meteo di Civitavecchia attraverso il sensore di radiazione solare Licor mod. LI200X facente parte del sistema C-CEMS).

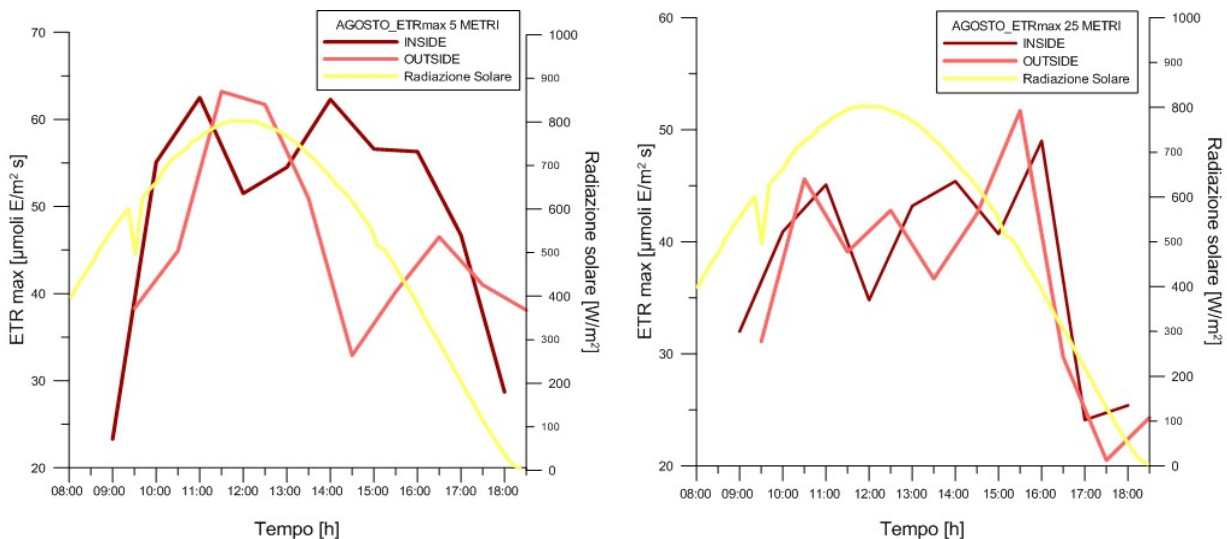


Grafico 16: Nel grafico di sinistra (5 metri) si osservano entrambi i picchi massimi nella zona più alta della curva di radiazione solare (tra i 750 e gli 800 W/m²), tra le 11:00 e le 11:30. Successivamente al valore massimo, entrambe le curve decrescono, la curva esterna in modo maggiormente marcato (OUTSIDE da 63 a 43 micro moli E/m² s), per poi crescere nuovamente. Genericamente si osservano andamenti molto simili, con massimi e minimi maggiormente marcati esternamente ma con la presenza di uno *shift* orario di circa mezz'ora relativo alla curva esterna. Nel grafico di destra notiamo lo stesso sfasamento orario, i valori interni anticipano quelli esterni nella prima metà della curva di radiazione solare, dopo il picco di intensità luminosa, sono i valori esterni a precedere quelli interni. Abbiamo il picco massimo di ETR esterno alle 15:30 ed interno alle 16:00, con valori poco oltre i 50 micro moli E/m² s in entrambe.

P max

Parametro che determina il tasso di fotosintesi massimo a luce saturante.

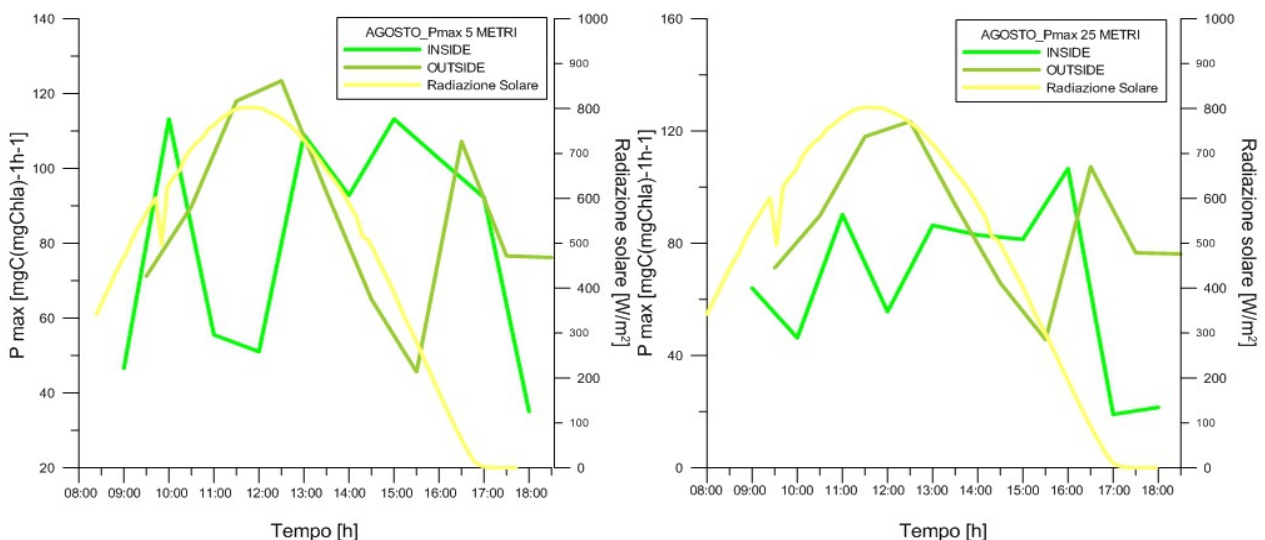


Grafico 17: Nel grafico di sinistra si osservano 2 picchi massimi nell'andamento interno (verde chiaro), rispettivamente alle 10:00 e alle 13:00 tra i 600 e i 750 W/m², mentre esternamente (verde scuro) si osserva un picco massimo alle 12:30 a circa 800 W/m². Dopo le 12:30-13:00, si nota un notevole decremento dei valori esterni, mentre internamente si osserva che i valori continuano ad oscillare intorno ai 100-120 mg C/ mg Chl_a h. A 25 metri (grafico di destra) troviamo valori di P max molto simili a quelli superficiali, ma in questo caso i picchi massimi sono temporalmente molto distanti tra loro, esternamente alle ore 12:30, internamente alle ore 16:00.

Efficienza fotosintetica

L'efficienza fotosintetica è stata calcolata come Fluorescenza variabile su fluorescenza massima.

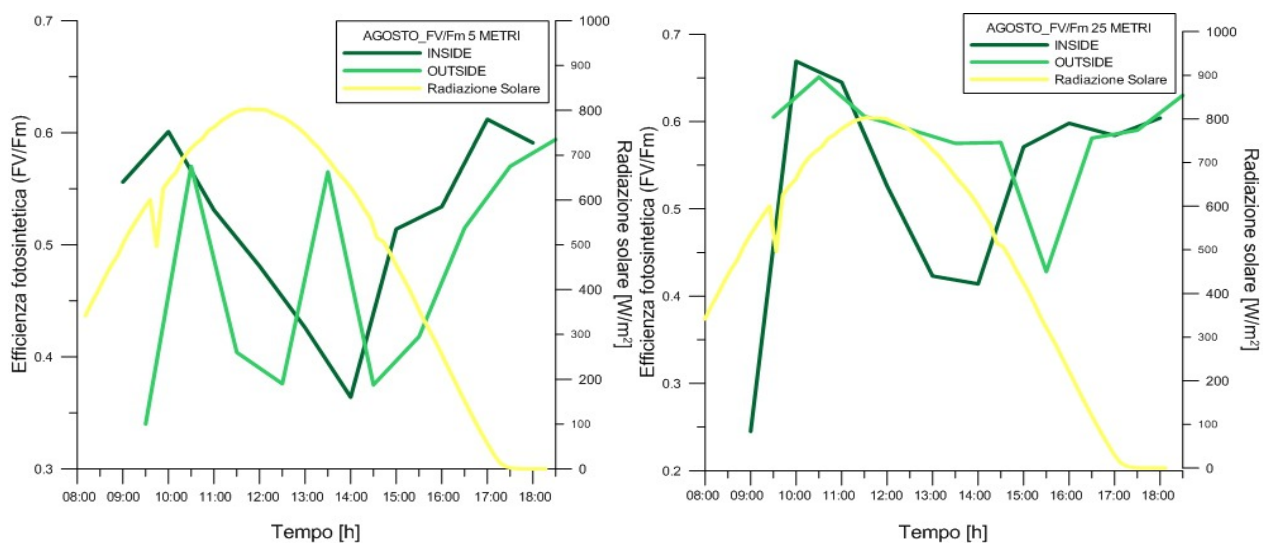


Grafico 18: Nel grafico di sinistra si osserva che gli andamenti sono molto simili, tranne che per uno sfalsamento temporale di circa 30 minuti, la curva OUTSIDE precede quella INSIDE. Nella parte centrale della curva di radiazione solare, sono visibili due flessi, alle 12:30 e alle 14:00 rispettivamente. Nel grafico di destra per entrambe le curve si notano valori molto alti anche oltre lo 0.65, ma se esternamente questi valori sembrano rimanere costanti fino alle 15:30 per poi decrescere, internamente rimangono costanti solo per un'ora (10:00-11:00) e decrescono bruscamente fino a valori di 0.45. In entrambi gli andamenti si nota un valore crescente nelle ultime ore di campionamento.

5.1.2_Meso_40 B (11.10.2016)

I dati presi durante questa campagna, si riferiscono ad un lasso di tempo che va dalle 08:30 alle 12:30, la riduzione temporale è stata causata dall'insorgere di un problema tecnico che ha costretto l'intero team a terminare anticipatamente la campagna di misure. In questo caso sono stati indagati circa 20 metri di colonna d'acqua. La giornata è stata caratterizzata da una presenza massiccia di nuvole durante tutto il periodo di campionamento e la totale assenza di moto ondoso; la velocità del vento non ha mai superato i 6 m/s e la variazione di temperatura è stata riscontrata tra un minimo di 13°C e un massimo di 19.3°C. Come nella precedente campagna ogni misura o campionamento è stato eseguito sia all'interno che all'esterno della struttura.

Nonostante la riduzione del numero di campionamenti è stato ugualmente possibile indagare sul comportamento fisiologico delle cellule fitoplanctoniche in relazione alle variazioni di intensità luminosa, fortunatamente gli orari indagati partono dalla mattina fino ad arrivare oltre il momento di massima insolazione giornaliera.

-Dati Fisici chimici e biologici

Temperatura [°C]

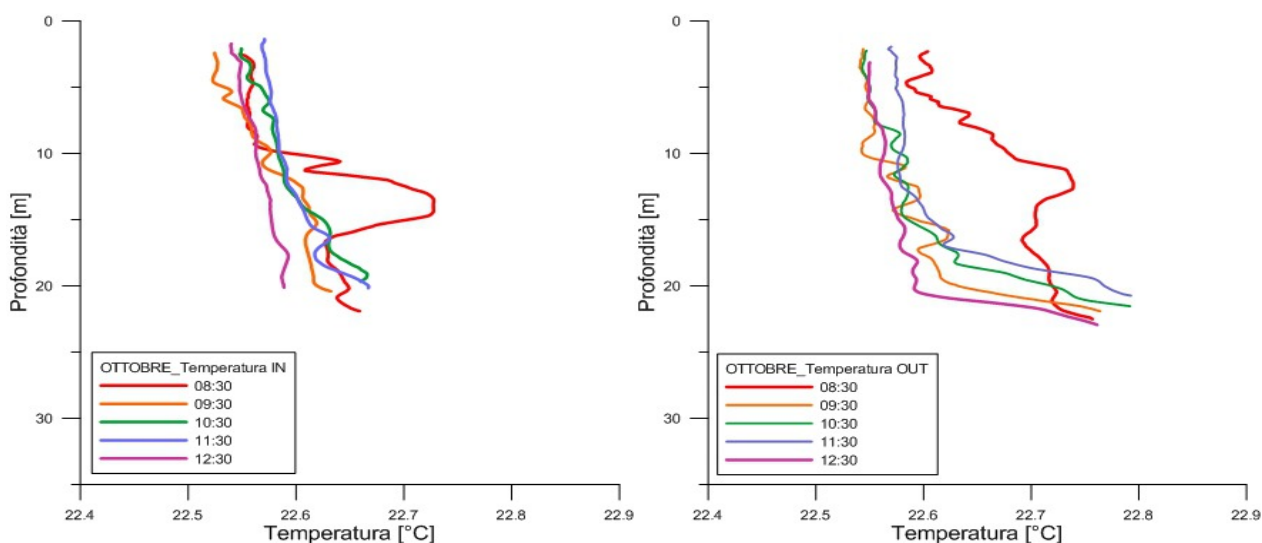


Grafico 19: Nei grafici si osserva un range di temperatura che va dai 22.5 ai 22.8 °C, il picco massimo si osserva alle ore 8:30 tra i 10 e i 15 metri di profondità in entrambi i grafici.

Salinità [psu]

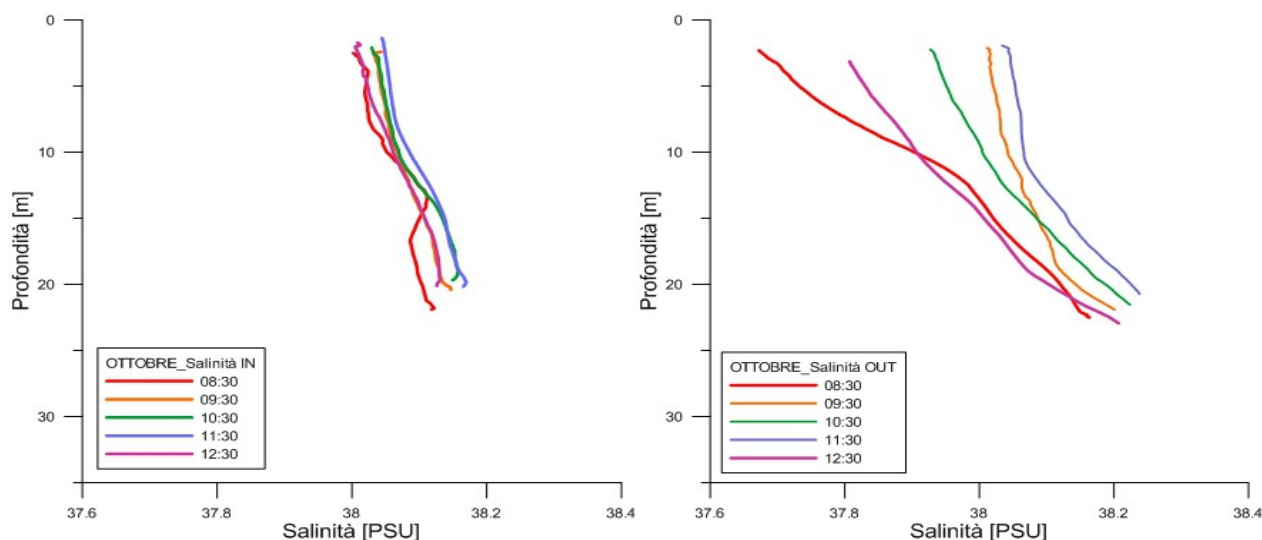


Grafico 20: I grafici mostrano un range di salinità poco variabile, tra i 37.7 e i 38.2 psu. Si osserva una stabilità maggiore tra i valori interni (IN) (38-38.2 psu) rispetto a quelli esterni (OUT) (37.7-38.2 psu). L'andamento delle curve è crescente lungo la profondità. Non si notano ulteriori differenze tra i valori interni ed esterni.

Densità [g/m³]

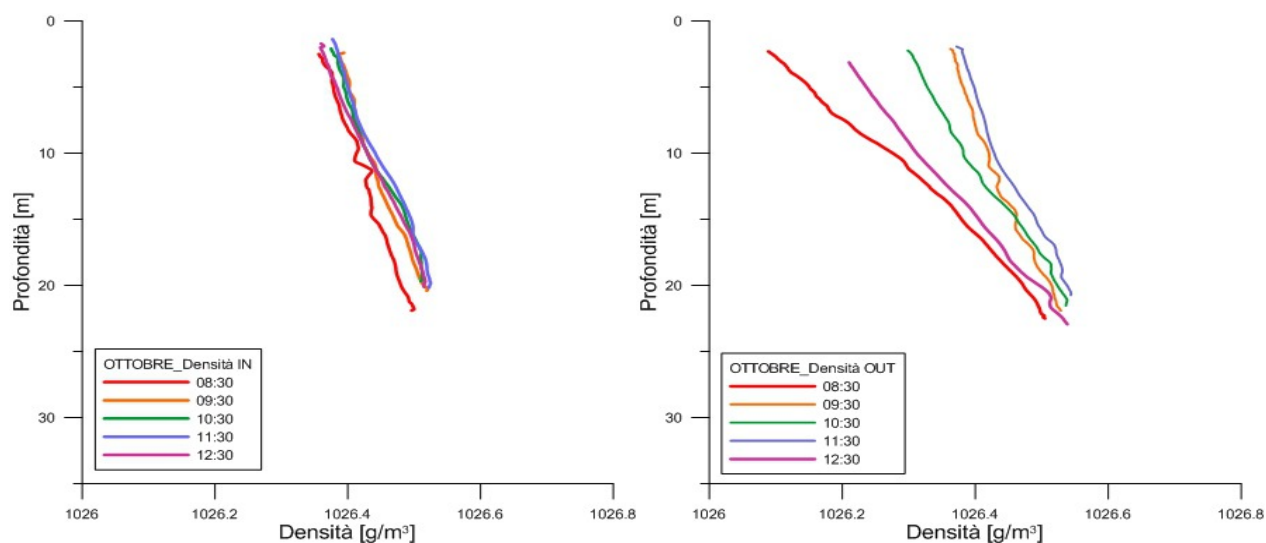


Grafico 21: I dati rilevano un valore di densità all'interno di un range che varia da 1026.1 a 1026.6 g/m³. Si nota una stabilità del dato maggiore nel grafico di sinistra (IN). L'aumento, seppur minimo segue l'aumento della profondità. Non si osservano rilevanti differenze tra i dati esterni ed interni.

Clorofilla_a [mg/m³]

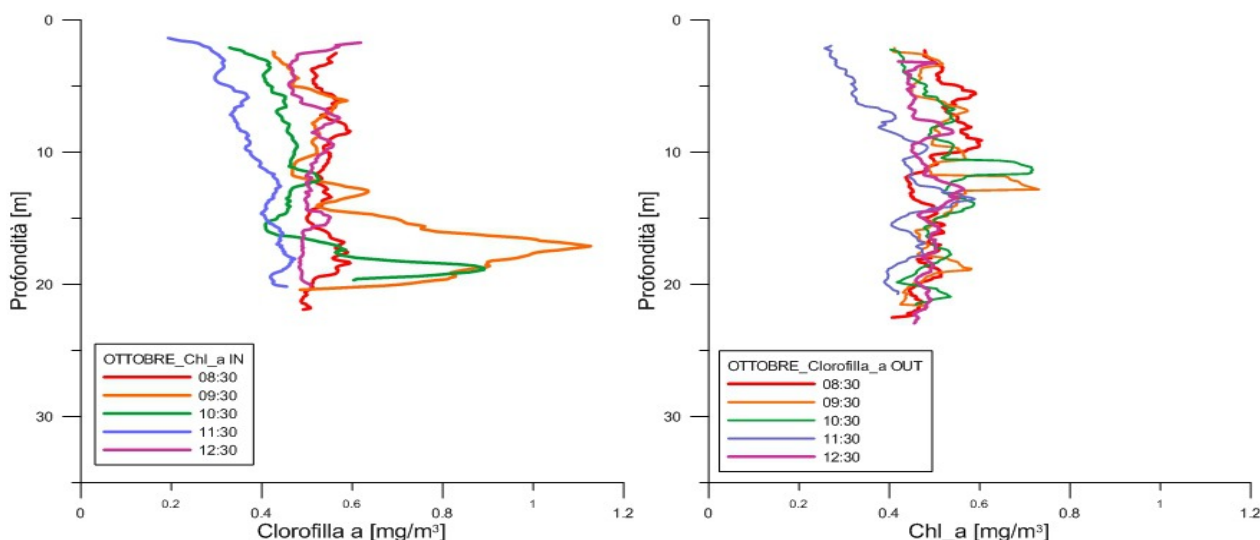
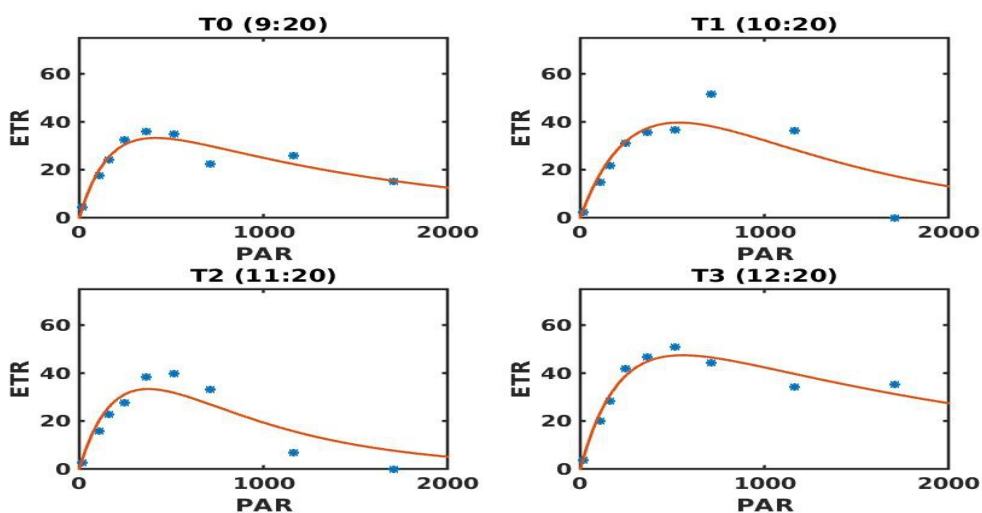


Grafico 22: Nei grafici si nota una concentrazione di clorofilla_a che varia dai 0.2 mg/m³ ai 1.2 mg/m³. Nel grafico di sinistra (IN) si osserva un picco di clorofilla_a tra i 15 e i 20 metri alle ore 09:30 e un altro alle 10:30, nel grafico di destra (OUT) si nota lo stesso aumento di biomassa negli stessi orari ma a profondità minori, ovvero tra i 10 e i 15 metri. Non si osservano ulteriori differenze.

-Curve P/I (Fotosinesi/Intensità)

I campionamenti relativi alle analisi con il Water Pam sono iniziati alle 09:20 hanno avuto una durata di circa 4 ore ed è stata rispettata per quanto possibile una cadenza oraria.

Inside 5 metri



Outside 5 metri

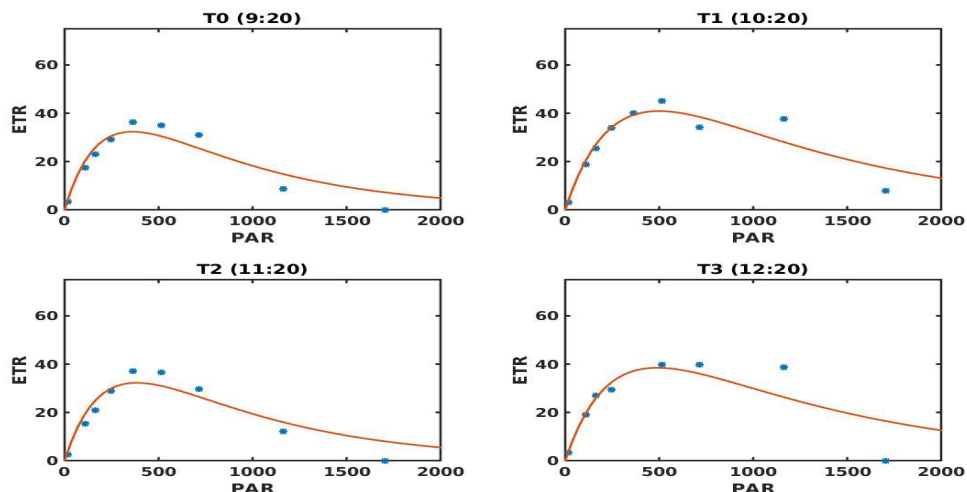
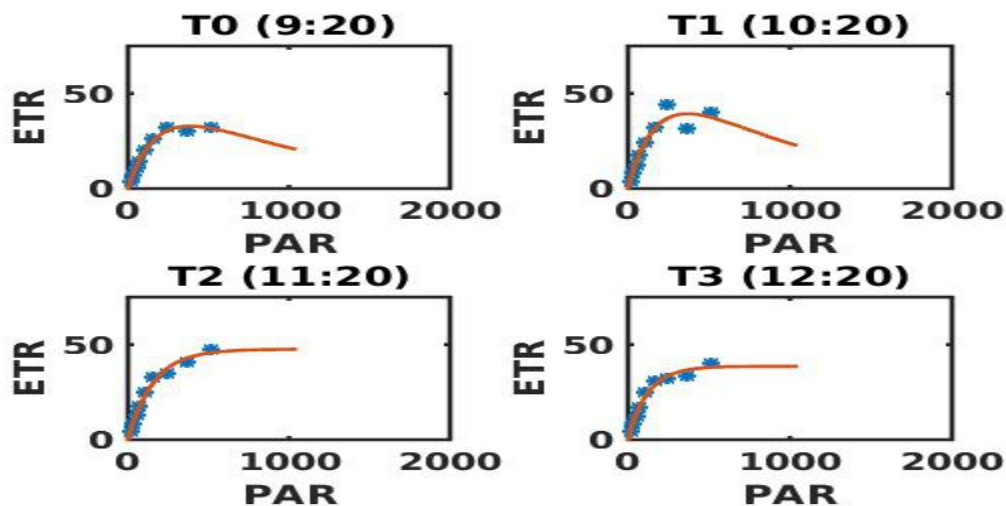


Grafico 23 e 24: Lo strumento ha indagato ogni campione attraverso 9 impulsi di intensità di luce crescente (17 ai 1707 micronE/ms). Il valore massimo di ETR raggiunto supera le $52 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ alle 12:20 nei campioni presi internamente alla struttura, valori mediamente alti si riscontrano nello stessa fascia oraria anche all'esterno ($50.9 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Inside 25 metri



Outside 25 metri

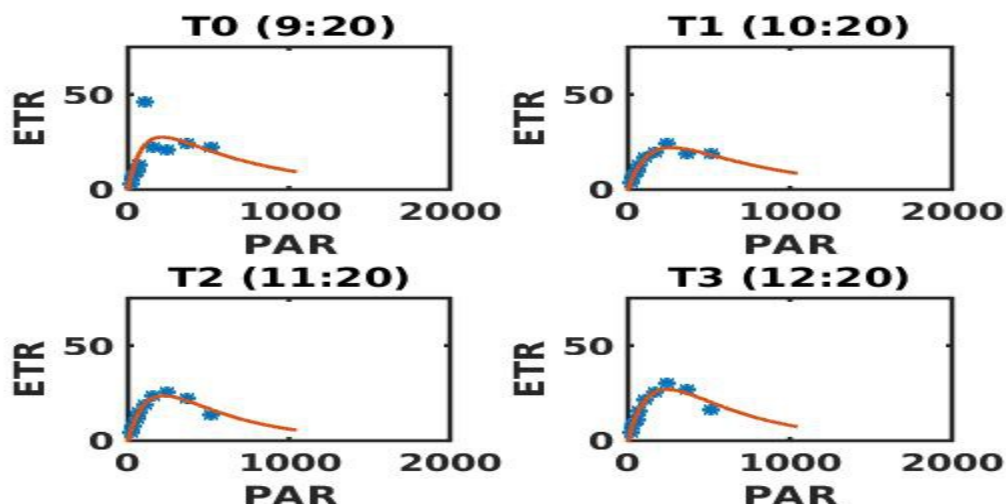


Grafico 25 e 26: Le intensità luminose, “pulses”, utilizzate per indagare i campioni sono all'interno di un range che va tra i 17 e i 516 micronE/ms. Il massimo valore di ETR riscontrato $47.6 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ si incontra intorno alle 11:20 internamente al mesocosmo. Si nota come in tutti e 4 gli orari indagati, la fotoinibizione avvenga ad intensità luminose minori nei campioni esterni alla struttura, questo andamento è chiaramente visibile negli orari di massima radiazione solare (11:20-12.20).

Parametri fotosintetici (α , β , E_k , ETR max, P max)

Alfa

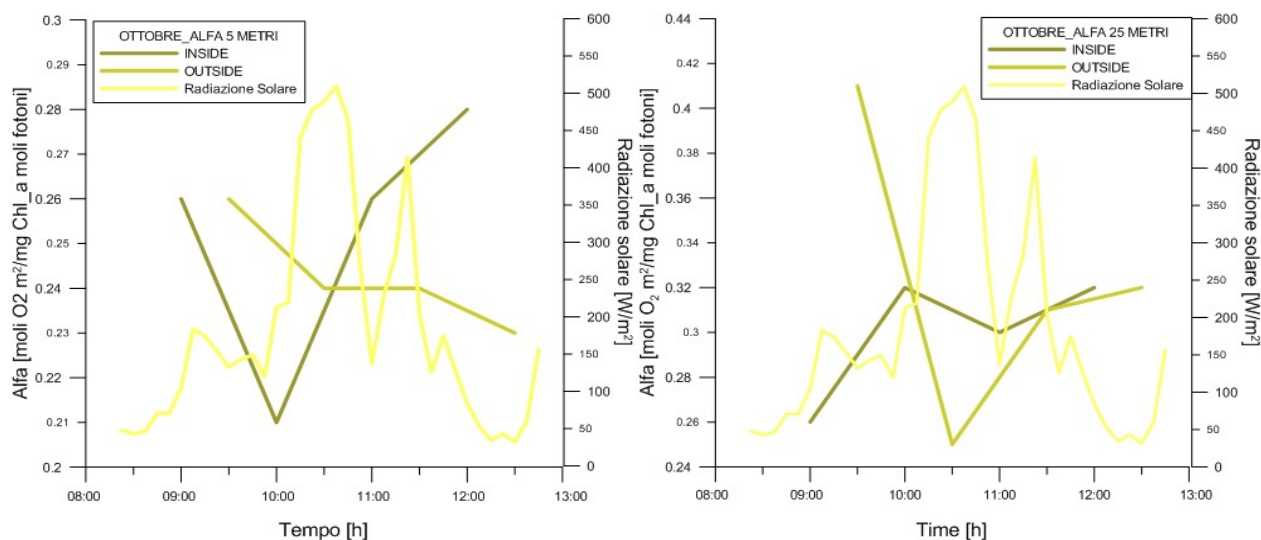


Grafico 27: Nel grafico di sinistra le due curve disegnano inizialmente un andamento decrescente, tra le due si nota uno sfalsamento orario di circa 30 minuti, successivamente al flesso intorno alle ore 10:00, la curva INSIDE cresce fino a valori oltre lo 0.28 (moli $\text{O}_2 \text{ m}^{-2}/\text{mg Chl}_a \text{ mol fotoni}$), mentre quella OUTSIDE rimane costante e decresce ulteriormente dopo le 11:20. A 25 metri di profondità (grafico a destra), si osserva che i valori INSIDE risultano essere poco variabili, da 0.26

a 0.32 (moli O_2 m^2/mg Chl_a mol fotoni) con un andamento di crescita continuo nonostante un leggero flesso alle 11:00. I valori esterni (OUTSIDE), variano maggiormente, alle 09:30 troviamo il valore massimo di 0.41(moli O_2 m^2/mg Chl_a mol fotoni), alle 10:30 lo stesso flesso notato internamente anche se anticipato appunto di 30 minuti.

Beta

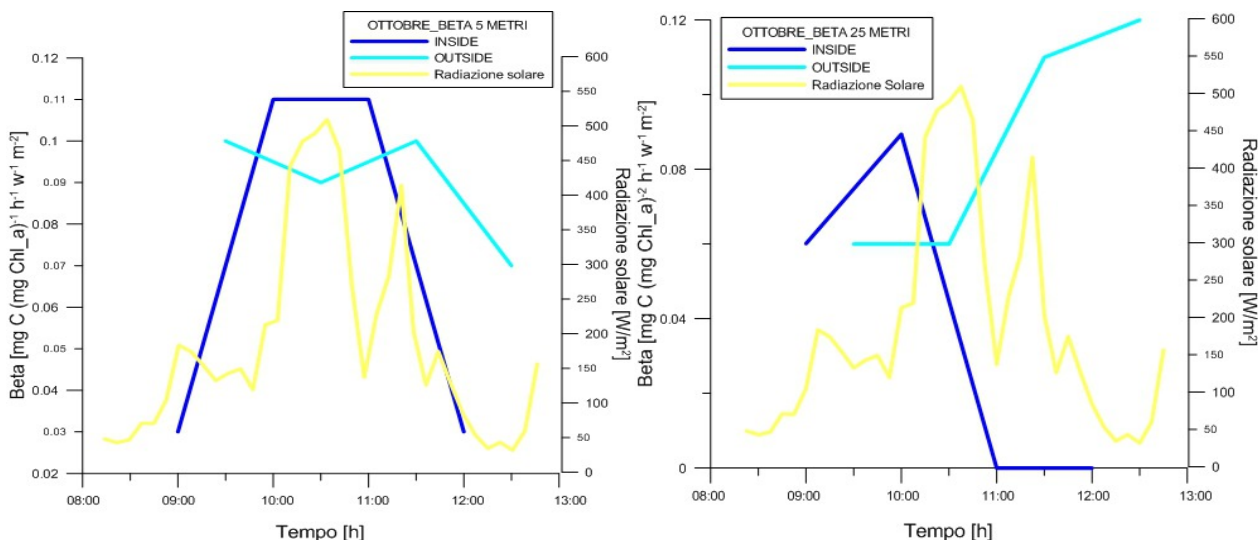


Grafico 28: A 5 metri (grafico a sinistra) si osservano due andamenti molto differenti tra loro, internamente alla struttura (curva blu) alle ore 09:00 si rileva un valore prossimo allo zero, ma un ora dopo il valore sale a circa $0.11 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChl}_a)^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$, rimanendo costante fino alle ore 11:00, la curva celeste (OUTSIDE) rimane invece sempre costante tra 0.09 e $0.1 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChl}_a)^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$, solo dopo le 11:30 decresce fino ad un valore di $0.07 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChl}_a)^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ W}^{-1} \text{ m}^2$. A 25 metri (grafico destro) si osservano comportamenti opposti dopo le 10:30, un decremento nei valori INSIDE, e un accrescimento in quelli OUTSIDE.

Ek

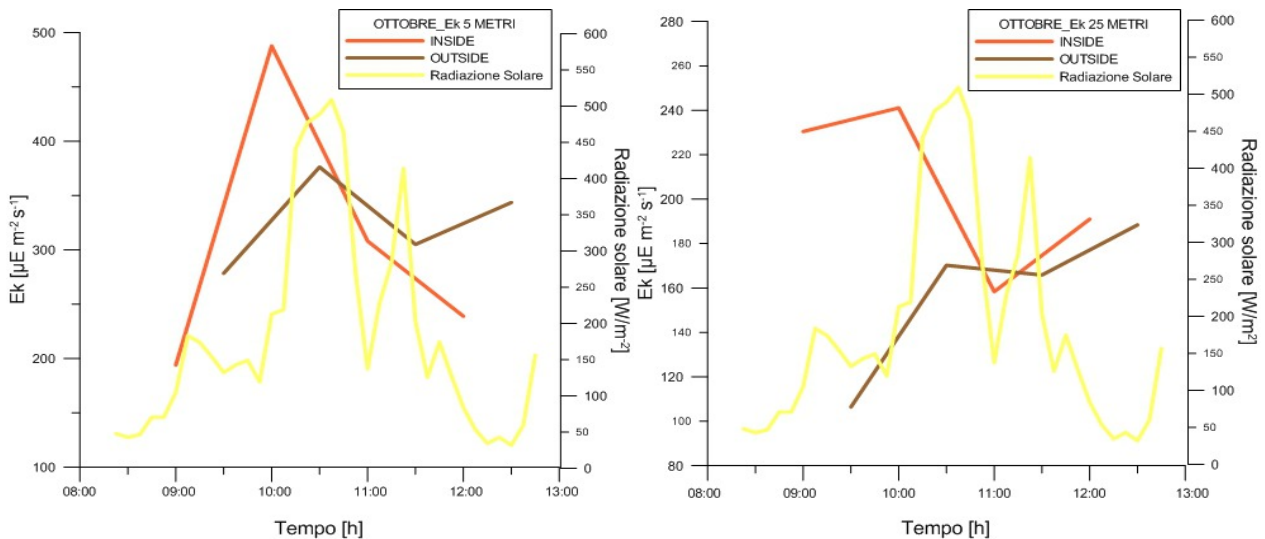


Grafico 29: Nel grafico di sinistra (5 metri) si osserva un forte aumento tra le 09:00 e le 10:00 nei valori interni (INSIDE), lo stesso andamento è visibile nei valori esterni ma meno marcato, successivamente entrambi gli andamenti decrescono. Nel grafico riferito ai valori acquisiti a 25 metri, il valore iniziale è molto differente tra l'esterno e l'interno fino alle 10:30 dove il valore di E_k sembra stabilirsi sui 180-200 $\mu E/m^2 s$.

ETR max (maximum value of Electron Transport Rate)

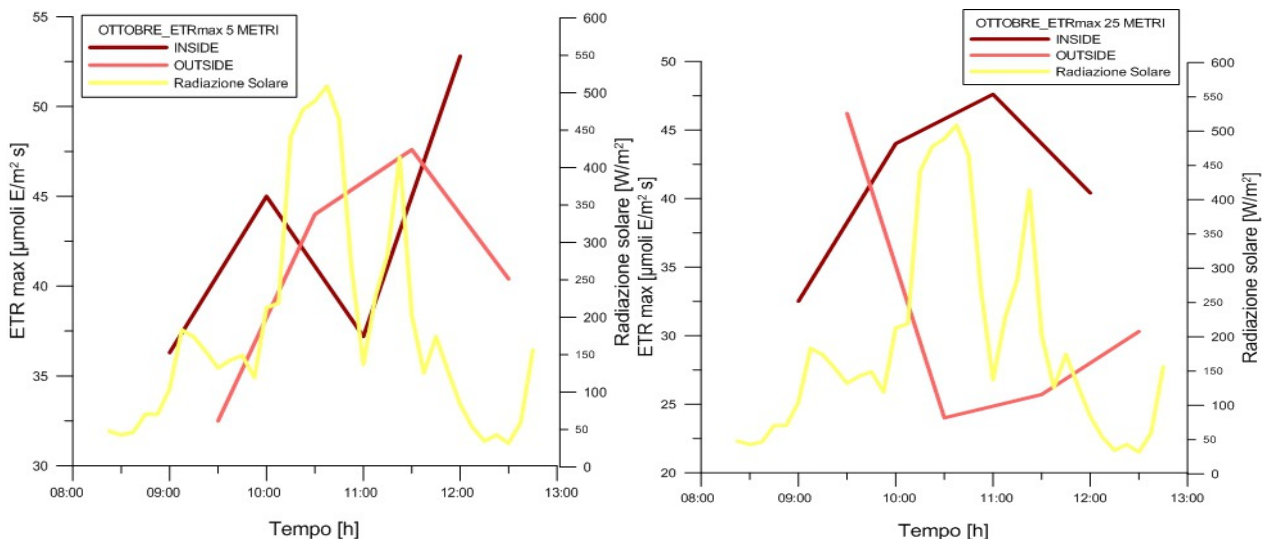


Grafico 30: A sinistra (5 metri) il grafico riporta andamenti crescenti al crescere dell'intensità luminosa (10:00-11:00), successivamente la curva interna sembra seguire l'abbassamento e poi il secondo picco di intensità luminosa, la curva esterna invece non sembra risentire del flesso di irradianza intorno alle 11:00.

Anche a 25 metri, l'andamento dei valori misurati internamente segue l'andamento della luce, diversamente dal comportamento esterno.

P max

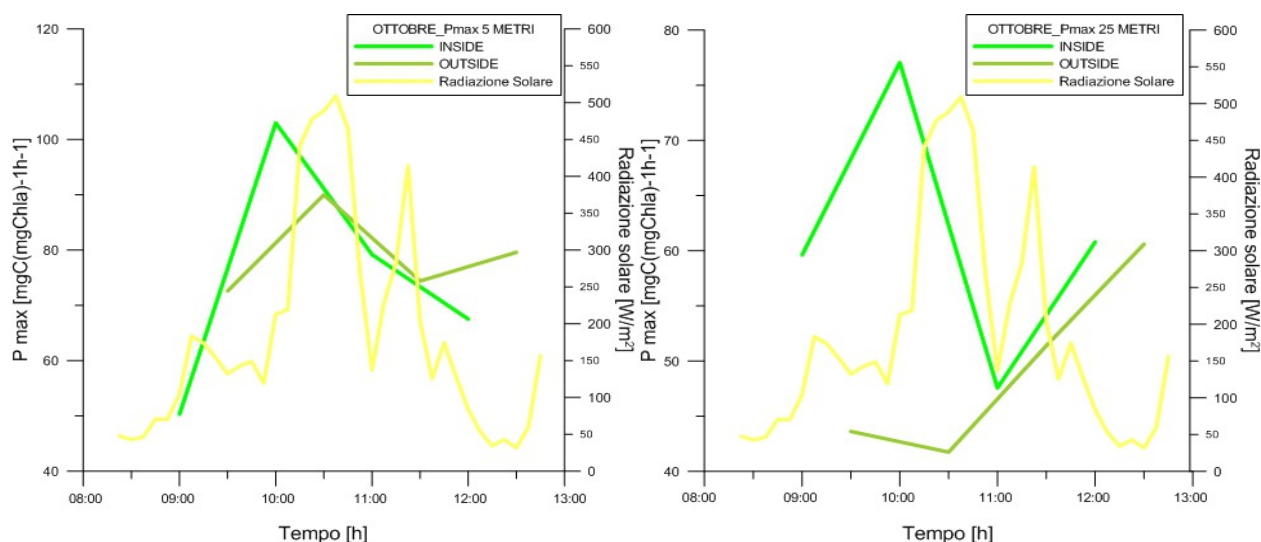


Grafico 31: Nel grafico di sinistra i due andamenti studiati sono simili, si osserva uno sfasamento temporale di circa 30 minuti, il picco INSIDE (verde chiaro) alle 10:00 corrisponde al momento subito prima della massima intensità luminosa, quello OUTSIDE lo troviamo alle 10:30 perfettamente in linea con il massimo d'intensità luminosa, dopo i valori massimi, entrambi gli andamenti decrescono. A 25 metri di profondità, l'andamento interno corrisponde all'andamento interno a 5 metri, i due differiscono per il range dei valori, da 50 a 105 (mgC/mgChl_a h) a 5 metri, da 50 a 75 (mgC/mgChl_a h) a 25 metri.

-Efficienza fotosintetica

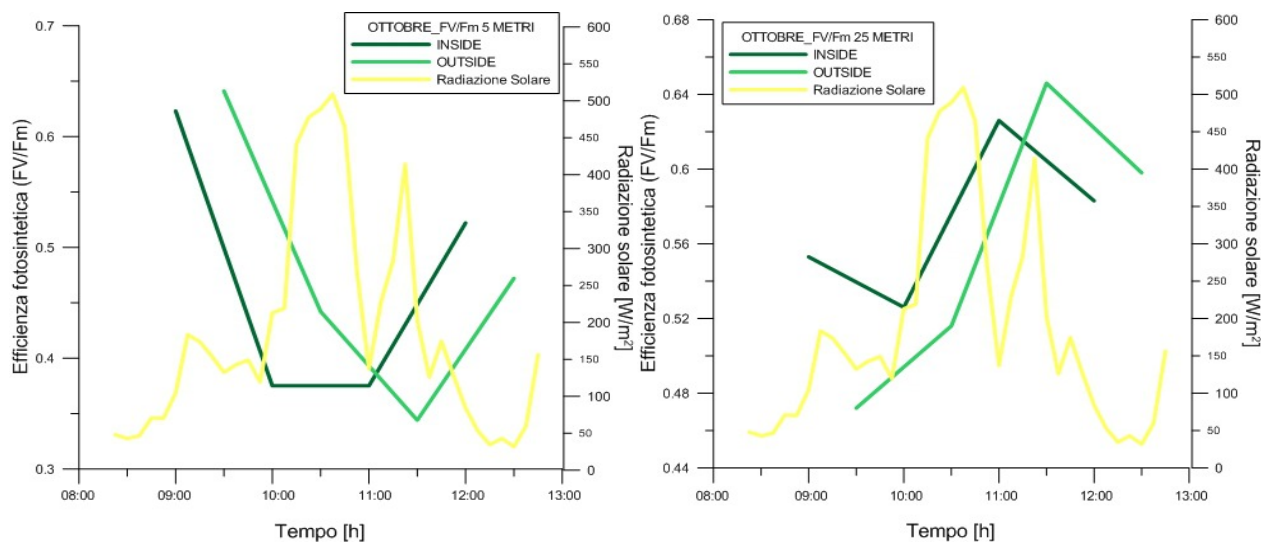


Grafico 32: In entrambi i grafici si nota uno sfasamento temporale in media di 30 minuti tra l'andamento interno alla struttura (verde scuro) ed esterno ad essa (verde chiaro). A 5 metri si osserva il decremento dei valori di FV/Fm al crescere della radiazione solare, contrariamente a quanto avviene nel grafico che raffigura lo stesso parametro a 25 metri, dopo le 11:00 si osserva un

andamento crescente a 5 metri e decrescente a 25 metri. In entrambi i grafici tutti i valori si trovano all'interno di un range che va dai 0.37 ai 0.65, ma a 25 metri i valori sono mediamente maggiori.

5.1.3_Meso_40 C (23.12.2016)

Durante questa campagna, sono stati raccolti dati in un lasso di tempo che va dalle 08:00 alle 15:00. In questo caso sono stati indagati circa 35 metri di colonna d'acqua. La giornata di campionamento è stata caratterizzata dall'assenza di eccessiva nuvolosità (2/8) e la presenza di onde con un'altezza media di 0.3 m, la velocità del vento è stata in media di 2.5 m/s e la variazione di temperatura tra il minimo di 6°C e il massimo di 20°C.

-Dati Fisici chimici e biologici

Temperatura [°C]

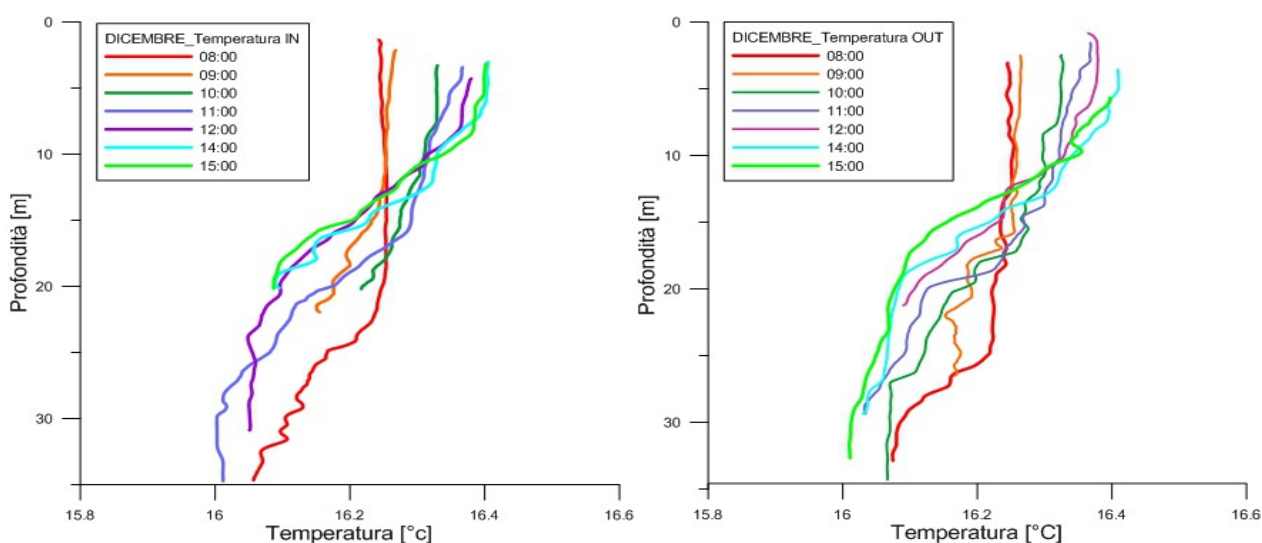


Grafico 33: Nel grafico è possibile notare che la variazione della temperatura è tra i 16 e i 16.4 gradi centigradi. Si nota un valore praticamente costante in tutta la colonna d'acqua e lungo tutta la giornata fino ad una profondità di 13 metri, oltre i quali si osserva un leggero raffreddamento. Non si osservano rilevanti differenze tra i valori interni ed esterni.

Salinità [psu]

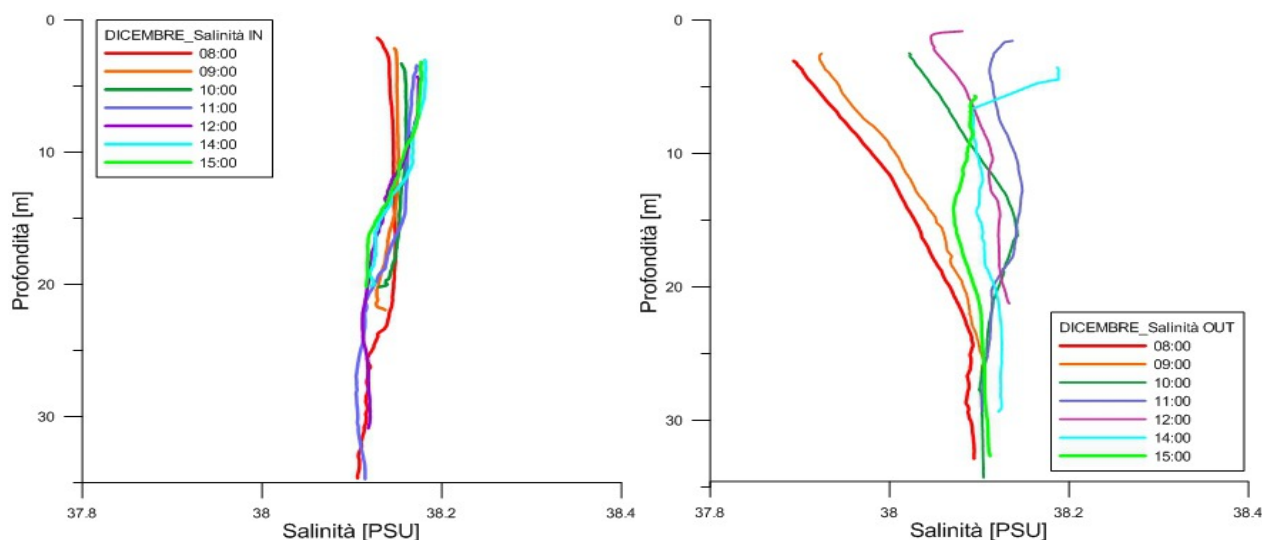


Grafico 34: Il grafico mostra un andamento della salinità nel tempo e nella profondità che varia in un range estremamente ridotto (da 37.9-38.1 psu). Questo si osserva sia internamente che esternamente alla struttura. Internamente si nota un a maggiore stabilità del dato.

Densità [g/m³]

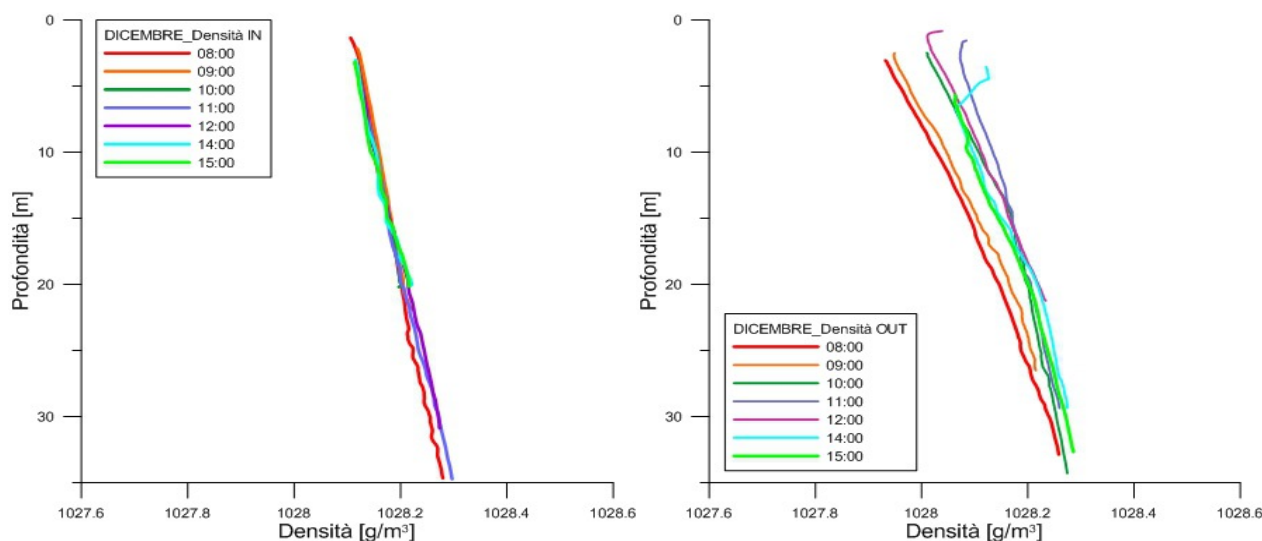


Grafico 35: Anche tra i valori di densità si osserva una variazione quasi impercettibile di massimo 0.3 g/m³. L'aumento seppur minimo si avverte lungo la profondità ed è costante lungo l'intera giornata di campionamento. Si osserva una maggiore stabilità del valore di densità all'interno della struttura PE.MA.M., ulteriori differenze non sono state osservate.

Clorofilla_a [mg/m³]

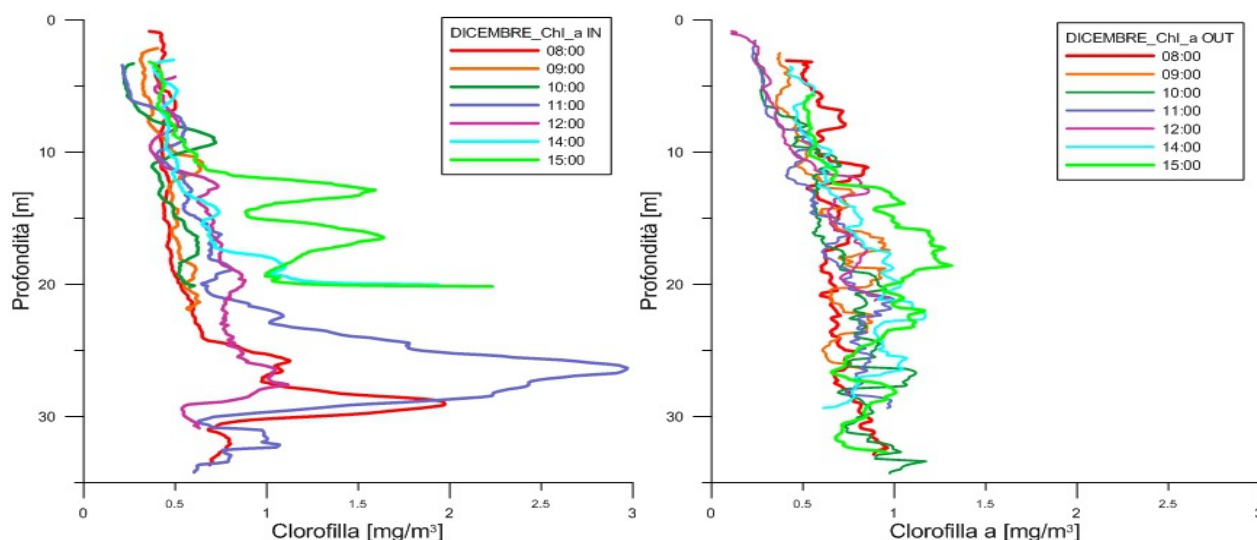
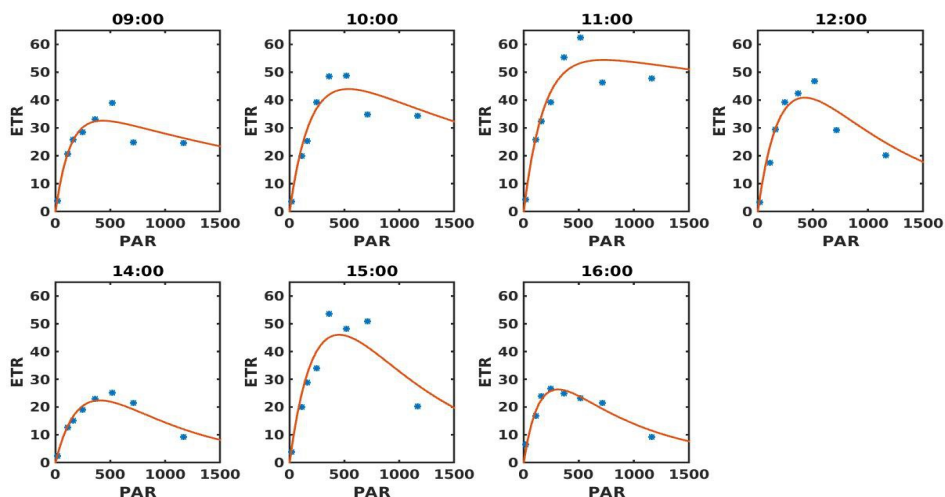


Grafico 36: Lungo la colonna d'acqua e durante l'intera giornata di misure, è stata riscontrata una variazione di concentrazione di clorofilla_a tra 0.2 e i 3 mg/m³. Si nota in ambedue i grafici un andamento crescente lungo la profondità, ma nel grafico di sinistra (IN) si nota generalmente una concentrazione maggiore che si spinge oltre 1.5 mg/m³ dopo i 10 metri alle ore 15:00 e alle ore 14:00, oltre i 20 metri alle 12:00, 11:00 e alle ore 08:00.

-Curve P/I (Fotosintesi/Intensità)

I campioni anche in questa campagna sono stati raccolti e analizzati attraverso il fluorimetro ad impulsi modulati utilizzando le stesse impostazioni delle campagne precedenti. Sono stati raccolti campioni d'acqua con cadenza oraria ad eccezione del lasso di tempo che va da 12:00 alle 14:00 ritardo dovuto ad un problema all'interno della struttura e successivamente risolto.

Inside 5 metri



Outside 5 metri

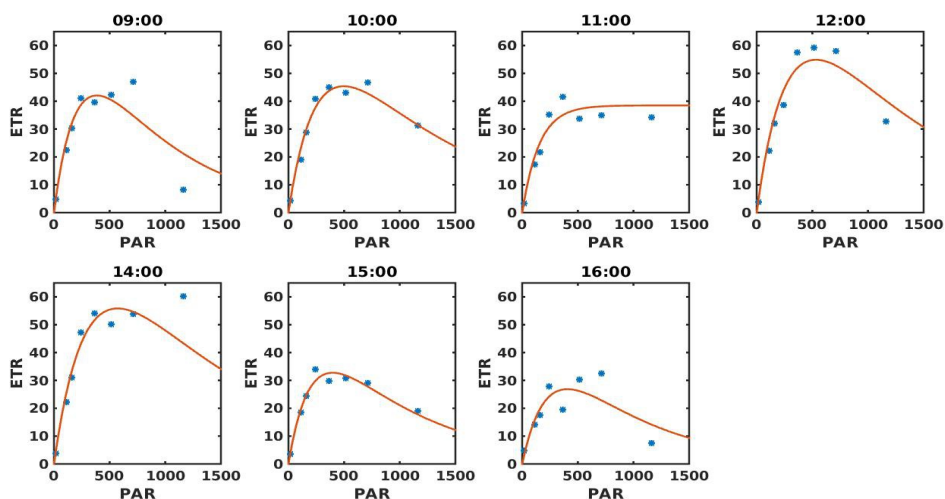
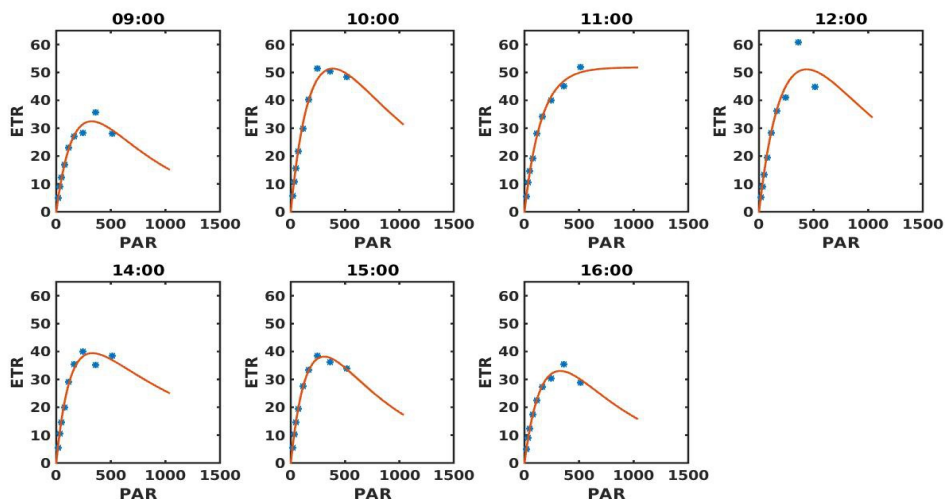


Grafico 37-38: Nei grafici si nota come il valore di ETR supera la soglia dei $50 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ internamente alle ore 11:00 ed esternamente sia alle ore 12:00 che alle ore 14:00, in entrambi i casi si tratta della fascia oraria di massima insolazione.

Inside 25 metri



Outside 25 metri

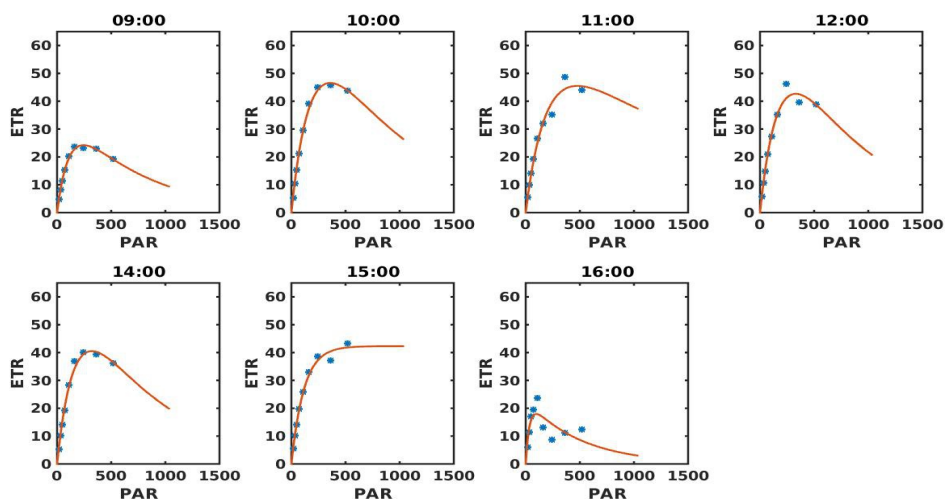


Grafico 39-40: Anche nei campioni prelevati a 25 metri di profondità abbiamo dei massimi di ETR nella fascia oraria che va dalle 11:00 a 12:00, ma solo internamente troviamo valori che superano i $50 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. E' importante notare che alle ore 11:00 si rileva un decremento della curva P/I esterna non presente in quella interna, si nota inoltre una fotoinibizione molto precoce nei campioni esterni relativi alle ore 16:00, non presente nei campioni interni dello stesso orario.

-Parametri fotosintetici (α , β , E_k , ETR max, P max)

Alfa

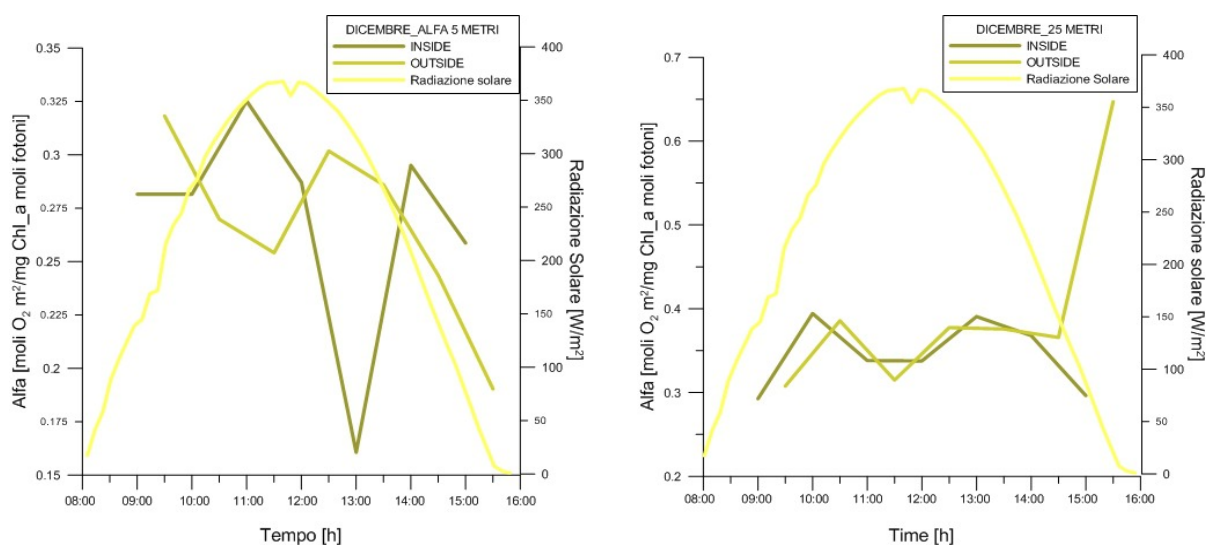


Grafico 41: Nel grafico di sinistra (5 metri) si osserva uno sfasamento temporale di circa un ora e mezza, l'andamento crescente visibile nei valori interni alle 10:00, risulta esserci anche nei valori esterni alle 11:30, i due picchi che si formano si trovano entrambi nella parte centrale della curva di radiazione solare ovvero tra i 300 e i 350 W/m², successivamente ai due picchi, si osserva un andamento decrescente molto accentuato all'interno della struttura. Anche a 25 metri si nota lo stesso sfasamento temporale con la curva INSIDE che anticipa di circa 30 minuti l' OUTSIDE, ma i valori rimangono praticamente costanti tra lo 0.3 e lo 0.4 (moli O₂ m²/mg Chl_a moli fotoni).

Beta

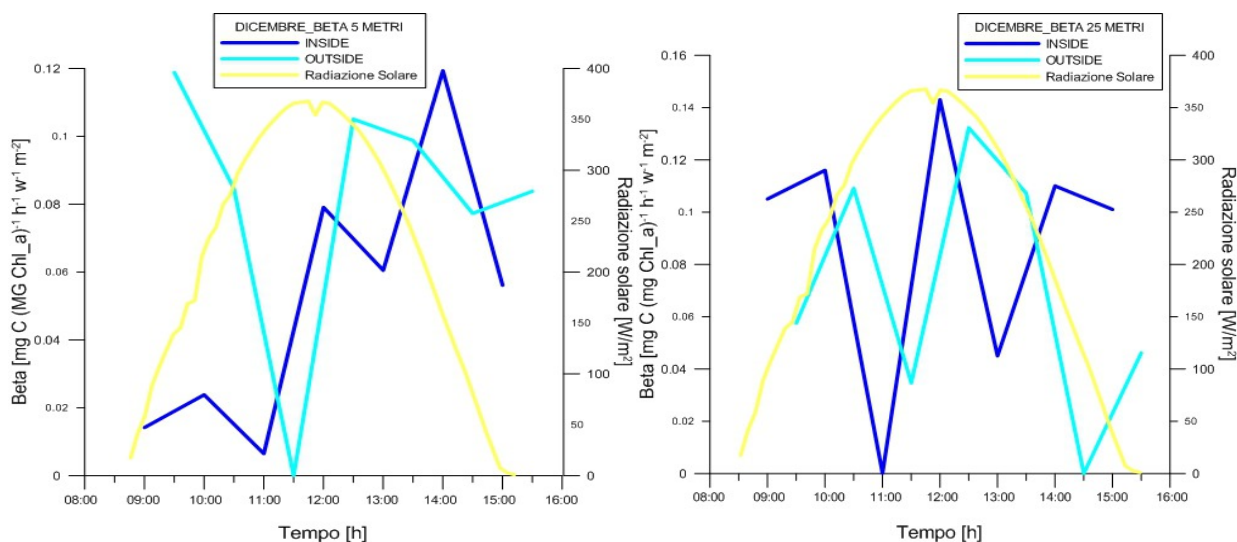


Grafico 42: Nel grafico a sinistra (5 metri), le due curve, pur partendo da valori iniziali molto differenti (0.12 e 0.01 mgC·(mgChl_a)⁻¹h⁻¹W⁻¹m², outside e inside rispettivamente) risultano avere andamenti simili, inizialmente si osserva un decremento, e dopo le 11:30 un forte incremento fino

alle 14:00/14:30 dove si nota un ulteriore decremento, queste fluttuazioni sono maggiormente marcate nei valori presi internamente alla struttura. Anche nel grafico di destra (25 metri) si osserva lo stesso sfalsamento temporale e la stessa tipologia di andamento altalenante, solo i valori massimi sembrano variare, a 25 metri troviamo il picco di beta fino a $0.14 \text{ mgC} \cdot (\text{mgChla})^{-1} \text{h}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^2$.

Ek

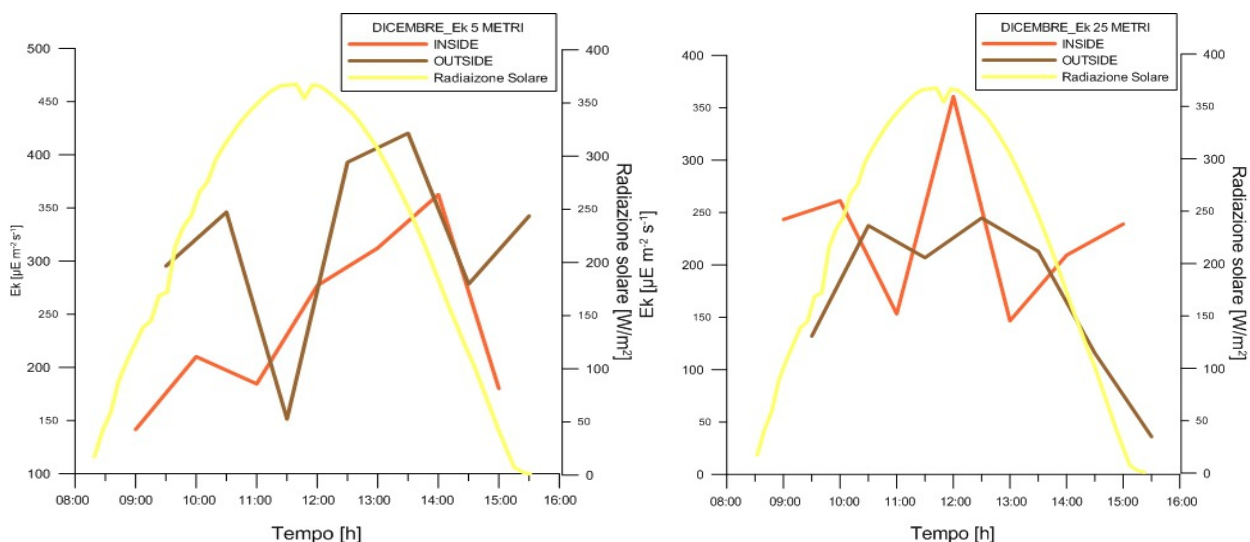


Grafico 43: A 5 metri si osserva un range di valori che varia dai 150 ai 400 ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), internamente si osserva un andamento crescente costante a partire dalle ore 09:00 fino alle 14:00 dove si rileva il massimo valore di Ek pari a 350 ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), dopo le 14:00 il valore di Ek diminuisce fino a quasi 150 ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Esternamente, si osserva una maggiore fluttuazione del valore, dopo un accrescimento iniziale, tra le 10:30 e le 14:30 si osserva prima un forte decremento seguito da un altrettanto veloce incremento e dopo le 14:30 un ulteriore flesso. A 25 metri di profondità, l'andamento legato ai valori interni alla struttura è molto variabile, decresce tra le 09:00 e le 11:00, cresce nel momento di massima intensità luminosa, tra le 11:00 e mezzogiorno, decresce nuovamente fino alle 13:00 e infine cresce fino alle 15:00, esternamente l'andamento è molto simile, ma con variazioni meno estreme del valore di Ek (tra 100 e 250 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), solo dopo le 13 si osserva un decremento oltre il range sopracitato.

ETR max (*electron transport rate*)

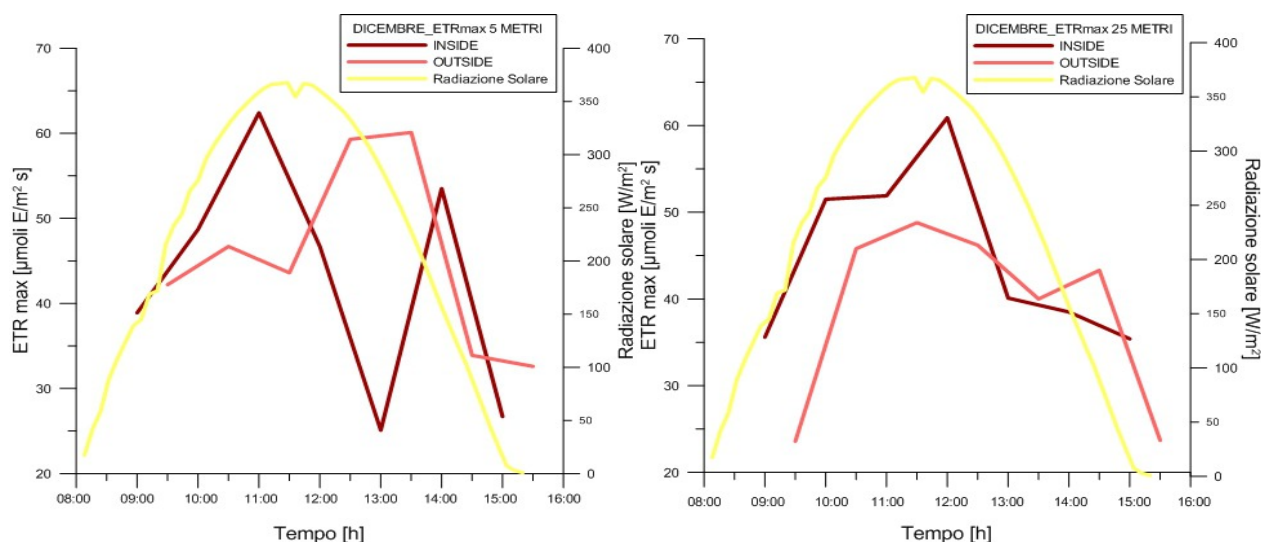


Grafico 44: Nel grafico di sinistra gli andamenti sono molto simili tra loro ma si osserva che l'andamento INSIDE (rosso scuro) riporta cambiamenti di direzione maggiormente marcati, in entrambi inizialmente i valori si accrescono, intorno alle 10:30/11:00 decrescono, per crescere nuovamente (dopo le 11:30 per i valori esterni e dopo le 13:00 per quelli interni) quando la curva della radiazione solare ha oltrepassato il punto massimo. A 25 metri le due curve sempre sfalsate di circa 30 minuti, hanno andamenti quasi uguali che differiscono per i valori di ETR, sempre maggiori internamente alla struttura. Il valore massimo di ETR interno è di $63 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e lo ritroviamo a mezzogiorno mentre esternamente abbiamo un massimo valore di $47 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ alle 11:30.

Pmax

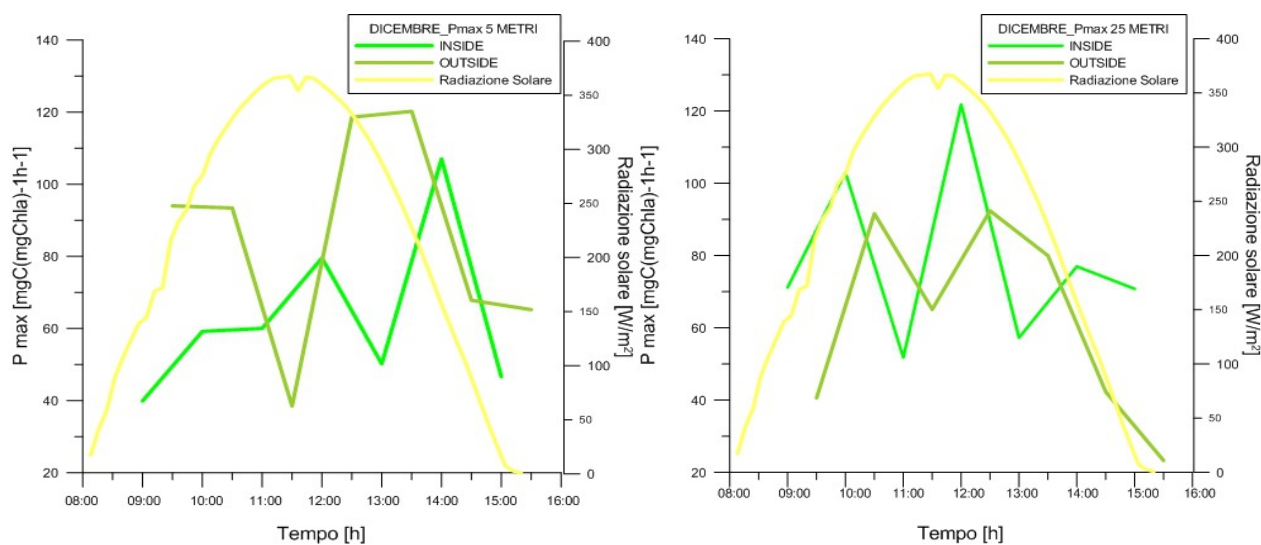


Grafico 45: A 5metri il range dei valori di P max varia tra i 40 e i 120 (mg C/mg Chl_a h), internamente si osserva un accrescimento dalle 09:00 fino alle 14:00 con un flesso a 13:00, mentre

esternamente si nota prima un decremento e poi un incremento tra le 10:30 e 12:30, un valore costante fino alle 13:30 e poi un ulteriore decremento nelle ultime ore di campionamento. A 25 metri si osserva lo stesso range di valori, con un picco alle 12:00 della curva INSIDE di circa 120 (mg C/mg Chl_a h), gli andamenti risultano essere altalenanti lungo la giornata con continui incrementi e decrementi, tra interno ed esterno, non ci sono differenze sostanziali, si nota però uno sfasamento di circa 30 minuti tra i valori interni ed esterni.

Efficienza fotosintetica

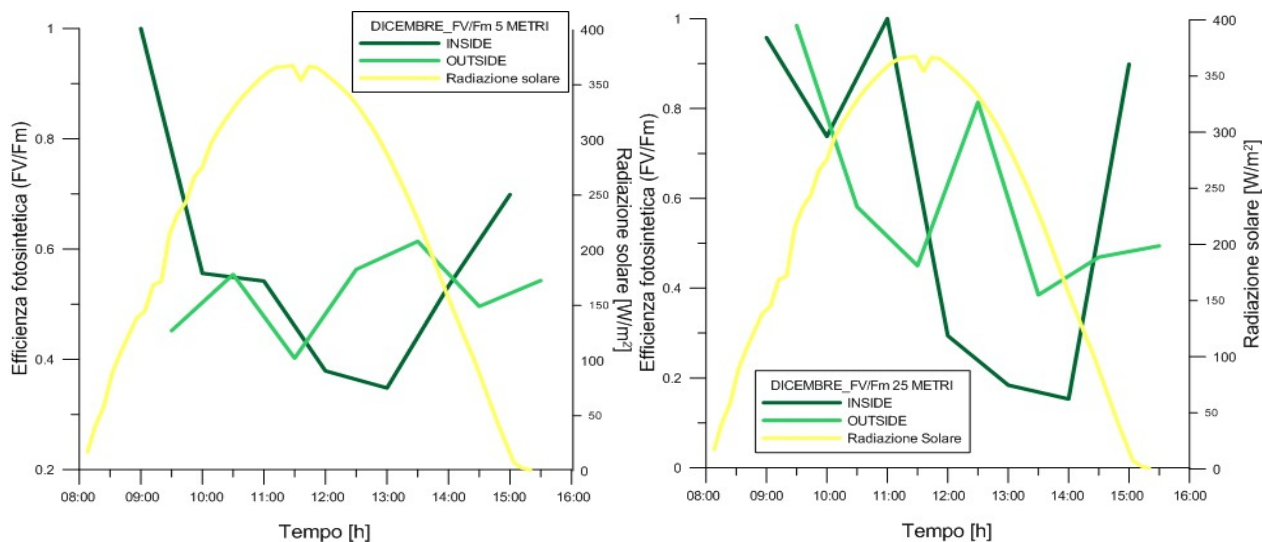


Grafico 46 Nel grafico di sinistra si osservano due andamenti molto simili, in entrambe le curve si nota un andamento decrescente in corrispondenza di alti valori di radiazione solare ma, mentre i valori interni alla struttura hanno delle variazioni molto marcate (da 0.35 a 1), esternamente i valori sono più costanti (tra lo 0.4 e lo 0.6). Anche a 25 metri di profondità troviamo due andamenti simili, dove quello interno raggiunge valori sia massimi che minimi maggiori rispetto a quello esterno (0.2-1 INSIDE, 0.4-1 OUTSIDE), in entrambe le curve si nota un flesso in corrispondenza della parte alta della curva di radiazione solare, tra le 10:00 e le 11:20 per i valori esterni e tra le 11:20 e le 14:00 per i valori interni.

-5.2 Tabelle riassuntive (massimi, minimi, medie e deviazioni standard)

Successivamente verranno sintetizzati all'interno di tabelle i parametri fotosintetici fino ad ora visionati singolarmente sotto forma di grafico. Nel caso di Alfa Beta ed Ek, le medie di questi parametri sono state confrontate con parametri di uguale natura ottenuti in laboratorio su colture monocellulari di *Synechocystis* sp. (SYN), *Phaeodactylum tricornutum* (PT) e *Heterosigma akashiwo* (HE).

Per quanto riguarda i dati presi sulle colture monocellulari, sono state effettuate misure di fluorescenza a lunghezze d'onda fisse (500 e $25 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$) nell'arco delle 24 ore, con lo scopo di determinare le diverse risposte fotosintetiche in termini di adattamento e di foto-acclimatazione (eliofilia e sciafilia), (Donati 2016).

Le medie dei coefficienti ottenuti in laboratorio a $500 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ sono stati comparati con le medie degli stessi misurate a 5 metri nella campagna di Agosto, le medie misurate a $25 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con le medie restanti (25 m Agosto, 5/25 m Ottobre, 5/25 m Dicembre).

Alfa	Agosto 5	Agosto 25	Ottobre 5	Ottobre 25	Dicembre 5	Dicembre 25
09:00:00	0.16886	0.19904	0.25941	0.25879	0.28158	0.29263
10:00:00	0.27744	0.27261	0.21122	0.31968	0.28159	0.39431
11:00:00	0.30446	0.26004	0.25704	0.30038	0.32522	0.33819
12:00:00	0.25587	0.22338	0.28274	0.31835	0.28712	0.33770
13:00:00	0.22398	0.26630	NO DATA	NO DATA	0.16070	0.39066
14:00:00	0.21977	0.19888	NO DATA	NO DATA	0.29510	0.36798
15:00:00	0.27457	0.24775	NO DATA	NO DATA	0.25869	0.29633
16:00:00	0.29613	0.24137	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
17:00:00	0.25721	0.25146	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
18:00:00	0.24696	0.26402	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
Media	0.253	0.242	0.253	0.299	0.270	0.345
Dev. Standard	0.04036	0.02689	0.02993	0.02840	0.05215	0.04134
Diff. Tra medie	0.01		-0.05		-0.08	

Medie Donati (2016): HE500: 0.552 PT500: 0.315 SYN500: 0.109

HE25: 0.709 PT25: 0.598 SYN25: 0.190

Tabella 2: Si osserva il massimo valore medio di alfa (in rosso) nella campagna di Dicembre a 25 metri, ed il valore minimo (in blu) nella campagna di Agosto a 25 metri, la variazione giornaliera sembra essere maggiore durante la campagna di Dicembre tra i valori misurati a 5 metri. La differenza tra le medie della medesima campagna è stata calcolata sottraendo il valore superficiale a quello di profondità, nella campagna di Ottobre e Dicembre questa differenza è negativa, i valori medi a 25 metri superano quelli superficiali il contrario avviene ad Agosto, ma la differenza è praticamente trascurabile. Nei dati ottenuti sulle singole specie in laboratorio si nota come i valori a $25 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ siano sempre maggiori rispetto a quelli a $500 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, i valori delle medie di alfa presi *in situ* sono sempre più bassi ma rispettano l'andamento notato in laboratorio essendo Agosto 5

metri tra le medie più basse.

Beta	Agosto 5	Agosto 25	Ottobre 5	Ottobre 25	Dicembre 5	Dicembre 25
09:00:00	0.0576	0.0549	0.0349	0.0601	0.0142	0.10533
10:00:00	0.1285	0.0000	0.1055	0.0894	0.0238	0.11653
11:00:00	0.0053	0.0825	0.1085	0.0001	0.0065	0.00000
12:00:00	0.0019	0.0790	0.0304	0.0001	0.0791	0.14362
13:00:00	0.0913	0.0863	NO DATA	NO DATA	0.0605	0.04563
14:00:00	0.1039	0.0463	NO DATA	NO DATA	0.1193	0.11037
15:00:00	0.1159	0.0717	NO DATA	NO DATA	0.0561	0.10159
16:00:00	0.1321	0.0726	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
17:00:00	0.0958	0.0014	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
18:00:00	0.0189	0.0173	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
Media	0.0751	0.0512	0.0698	0.0374	0.0514	0.0890
Dev. Standard	0.0505	0.0336	0.0430	0.0447	0.0401	0.0490
Diff. Tra medie	0.02		0.03		-0.04	

Medie Donati (2016): HE500: 0.133 PT500: 0.174 SYN500: 0.029

HE25: 0.076 PT25: 0.032 SYN25: 0.014

Tabella 3: Il valore più alto (in rosso) è attribuito alla media calcolata sui valori a 25 metri di Dicembre, mentre il valore più basso si riscontra sempre a 25 metri nella campagna di Ottobre. Il valore di deviazione standard più alto si osserva a 5 metri nella campagna estiva. Nei dati ottenuti in laboratorio si nota un valore sempre più alto nei beta calcolati a $500 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ andamento comparabile al nostro dato estivo superficiale il quale nonostante non sia il valore massimo, ha un valore molto elevato (0.0751).

Ek	Agosto 5	Agosto 25	Ottobre 5	Ottobre 25	Dicembre 5	Dicembre 25
09:00:00	137.98	160.77	138.78	125.58	138.15	124.73
10:00:00	198.6	150.03	243.82	137.64	172.95	130.61
11:00:00	205.28	173.43	154.06	158.47	191.87	152.28
12:00:00	201.27	155.79	180.02	126.9	162.65	180.34
13:00:00	243.33	162.22	NO DATA	NO DATA	156.19	102.65
14:00:00	283.48	228.28	NO DATA	NO DATA	181.29	104.63
15:00:00	206.14	164.41	NO DATA	NO DATA	103.21	119.46
16:00:00	190.12	203.01	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
17:00:00	181.56	95.84	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
18:00:00	116.21	96.21	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
Media	196.4	159	179.17	137.15	158.04	130.67
Dev. Standard	47.25	40.84	46.34	15.21	29.82	27.56
Diff. Tra medie	37.4		42.02		27.37	

Medie Donati (2016): HE500: 127.3 PT500: 101.4 SYN500: 284.9

HE25: 92.9 PT25: 45.7 SYN25: 290.8

Tabella 4: Si osserva che il massimo valore assoluto e il massimo valore medio si trovano entrambi

nella campagna estiva a 5 metri. Il valore medio più basso lo troviamo nella campagna di dicembre a 25 metri. Per quanto riguarda le variazioni giornaliere si osserva un alto valore di deviazione standard ad Agosto e ad Ottobre in superficie, e un valore molto più basso a Dicembre ed ad Ottobre a 25 metri. Si osserva inoltre come i valori delle medie di Ek a 5 metri siano sempre maggiori in superficie e come la differenza tra le medie sia molto bassa a Dicembre. Il parametro Ek misurato in laboratorio ci fornisce un'informazione importante sul comportamento delle singole specie rispetto alla luce, si osserva come sia HE e PT siano fortemente legate alla luce con un alto valore medio di Ek se sottoposte a $500 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ mentre la specie SYN non mostra una sostanziale differenza alle due differenti intensità luminose. Genericamente si osservano sia in laboratorio che in situ valori maggiori di Ek in corrispondenza di maggiore intensità luminosa con un culmine ad Agosto nelle misure superficiali.

FV/Fm	Agosto 5	Agosto 25	Ottobre 5	Ottobre 25	Dicembre 5	Dicembre 25
09:00:00	0.556	0.245	0.623	0.553	1.000	0.958
10:00:00	0.601	0.669	0.337	0.526	0.556	0.738
11:00:00	0.531	0.645	0.375	0.626	0.542	1.000
12:00:00	0.481	0.526	0.522	0.583	0.379	0.294
13:00:00	0.426	0.423	NO DATA	NO DATA	0.348	0.184
14:00:00	0.364	0.414	NO DATA	NO DATA	0.533	0.153
15:00:00	0.514	0.571	NO DATA	NO DATA	0.560	0.555
16:00:00	0.534	0.598	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
17:00:00	0.612	0.584	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
18:00:00	0.591	0.604	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
Media	0.52	0.53	0.46	0.57	0.56	0.55
Dev. Standard	0.08	0.13	0.13	0.04	0.21	0.36
Diff. Tra medie	-0.01		-0.11		0.01	

Tabella 5: Nella tabella si osserva che il valore medio di efficienza fotosintetica più basso si ha nel mese di Ottobre a 5 metri, e sempre nello stesso mese ma a 25 metri si osserva il valore medio più alto. Nonostante non ci sia una grande variazione stagionale, i valori medi invernali superano quelli estivi.

P max	Agosto 5	Agosto 25	Ottobre 5	Ottobre 25	Dicembre 5	Dicembre 25
09:00:00	46.600	64.000	50.304	59.633	39.893	71.199
10:00:00	113.100	46.290	103.000	77.064	59.172	103.000
11:00:00	55.513	90.200	79.200	47.567	60.010	51.820
12:00:00	51.030	55.600	67.517	60.800	79.517	121.800
13:00:00	109.000	86.400	NO DATA	NO DATA	50.200	57.278
14:00:00	92.800	82.931	NO DATA	NO DATA	107.000	77.000
15:00:00	113.100	81.400	NO DATA	NO DATA	46.609	70.800
16:00:00	102.600	106.600	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
17:00:00	92.200	19.014	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
18:00:00	35.034	21.518	NO DATA	NO DATA	NO DATA	NO DATA
Media	81.098	65.395	75.005	61.266	63.200	78.985
Dev. Standard	30.587	29.547	22.117	12.112	23.089	25.002
Diff. Tra medie	15.7		13.74		-15.79	

Tabella 6: Si osserva il valore medio massimo ad Agosto nella campagna svolta a 5 metri e il più basso ad Ottobre nella campagna a 25 metri. Troviamo un'alta variazione giornaliera ad Agosto sia in superficie che in profondità (dev.stan. 30.587 e 29.547, 5m e 25 m rispettivamente) e una variazione molto più bassa ad Ottobre a 25 metri (dev.stan. 12.112).

-5.3 Matrici di correlazione di Paerson

Le matrici di correlazione di Paerson sono state calcolate alle 2 profondità di campionamento (5 e 25 metri) e nelle due condizioni dinamiche (stratificazione e mescolamento). Per ognuna delle matrici, sono state evidenziati in rosso le correlazioni dirette o positive e in blu quelle inverse o negative.

Stratificata 5 metri

	Temperatura	Chl-a	alfa	Ek	Ed	ETR max	Beta	FV/Fm	PAR (5 metri)	Feofitina tot
Temperatura	1	-0.25044	0.044197	0.22572	0.48842	0.33491	0.34794	-0.16089	-0.35985	0.41789
Chl a		1	-0.15386	-0.60367	0.27045	-0.51857	-0.38023	0.53118	-0.27397	-0.16068
Alfa			1	0.090074	-0.16885	0.27262	0.071639	0.2697	0.022075	-0.12131
Ek				1	-0.40564	0.59524	0.35717	-0.80859	0.74021	0.058441
Ed					1	-0.32418	-0.18883	0.13597	-0.66947	0.34855
ETR max						1	0.8942	-0.199	0.2742	0.32949
Beta							1	-0.049289	-0.018936	0.26176
FV/Fm								1	-0.67269	-0.24526
PAR (5 metri)									1	-0.0171
Feofitina										1

Stratificata 25 metri

	Temperatura	Chl a	Alfa	Ek	Ed	ETR max	Beta	Fv/Fm	PAR (25 metri)	Feofitina tot
Temperatura	1	-0.61029	-0.084621	0.38617	-0.19086	0.054564	-0.11583	0.18947	0.57855	-0.18201
Chl a		1	0.25427	-0.68986	-0.013859	-0.551	-0.501	0.091624	-0.74054	-0.3409
Alfa			1	-0.49754	-0.22201	-0.20736	-0.21342	0.74023	-0.19143	-0.74997
Ek				1	0.17129	0.86789	0.56127	-0.27728	0.64549	0.49565
Ed					1	0.085363	0.091413	-0.15109	-0.31644	0.3923
ETR max						1	0.79896	-0.17116	0.61619	0.467
Beta							1	-0.27333	0.63348	0.60773
FV/Fm								1	-0.19866	-0.75091
PAR (25 metri)									1	0.2499
Feofitina tot										1

Mescolata 5 metri

	Temperatura	Chl a	Alfa	Ek	Ed	ETR max	Beta	FV/Fm	N ossidato	Si	PO4	PAR (5metri)	Feofitina
Temperatura	1	0.34282	-0.20185	-0.3978	-0.2836	-0.45069	0.24304	-0.28427	0.45582	-0.8077	-0.61497	-0.093418	-0.36997
Chl a		1	-0.28594	0.048554	0.1979	-0.06686	0.1896	0.27	0.49756	-0.62455	0.096561	-0.64137	-0.098792
Alfa			1	-0.25929	0.1936	0.34226	-0.31712	0.41591	-0.24145	0.45927	-0.39389	-0.15303	0.22465
Ek				1	-0.19662	0.81171	0.56374	-0.48915	-0.28615	0.064381	0.38255	0.21881	0.57366
Ed					1	-0.085425	-0.50991	0.66913	-0.33198	0.46123	-0.071018	-0.27761	-0.14429
ETR max						1	0.43175	-0.23536	-0.35774	0.27633	0.11536	0.10233	0.73084
Beta							1	-0.59093	0.24236	-0.4694	0.062376	0.28245	0.49097
FV/Fm								1	-0.11037	0.38485	-0.03939	-0.4112	-0.23409
N ossidato									1	-0.71338	0.28213	-0.50485	0.040382
Si										1	0.10105	0.32013	0.17776
PO4											1	-0.23349	0.32543
PAR (5 metri)												1	-0.083166
Feofitina													1

Mescolata 25 metri

	Temperatura	Chl_a	Alfa	Ek	Ed	ETR max	Beta	FV/Fm	N ossidato	Si	PO4	PAR (25 metri)	Feofitina totale
Temperatura	1	-0.54529	-0.5491	-0.63991	0.0081124	-0.69844	-0.50474	0.13415	-0.47961	-0.92314	-0.47433	-0.48985	-0.12588
Chl_a		1	0.056009	0.64317	0.32605	0.55854	0.40546	-0.67091	0.62289	0.42282	0.6653	-0.040066	0.72036
Alfa			1	0.22144	-0.26872	0.48606	0.31184	-0.22559	0.26298	0.46355	0.28922	0.57745	-0.27306
Ek				1	0.50067	0.95577	0.46131	-0.16715	0.3332	0.77103	0.053935	0.39499	0.55993
Ed					1	0.40495	0.45158	-0.13047	0.015684	0.16022	-0.22627	0.11224	0.44738
ETR max						1	0.48557	-0.20108	0.34498	0.80496	0.094067	0.51339	0.40984
Beta							1	-0.36376	0.028036	0.41832	0.24958	0.2603	0.22238
FV/Fm								1	-0.51772	0.10003	-0.73934	0.25306	-0.46461
N ossidato									1	0.36246	0.48958	0.28162	0.5184
Si										1	0.16775	0.60252	0.09627
PO4											1	-0.21367	0.12666
PAR (25 metri)												1	-0.1186
Feofitina tot													1

Di seguito verranno descritte le correlazioni tra le variabili, prendendo in considerazione le 4 matrici sopra riportate.

La temperatura T°:

Si nota che la T° è correlata con tutte le variabili fotofisiologiche (alfa, beta, Ek, ETRmax, FV/Fm). Si osserva una correlazione positiva in condizioni di stratificazione a 5 metri, negativa, tranne che per beta, alla stessa profondità ma in condizioni di mescolamento. A 25 metri, invece, la tipologia di correlazione (positiva o negativa) tra T° e le variabili non sembra differire in caso di stratificazione o mescolamento.

La correlazione tra T° ed ETR max, cambia secondo le condizioni dinamiche della massa d'acqua, infatti sia in superficie che a 25 metri, si osserva una correlazione da moderata a debolmente positiva in condizione di stratificazione ($R_{5\text{metri}} = 0.33$; $R_{25\text{metri}} = 0.05$) e moderatamente negativa in condizioni di mescolamento. ($R_{5\text{metri}} = -0.45$; $R_{25\text{metri}} = -0.69$).

L'efficienza fotosintetica (Fv/Fm) e la T° sono correlante negativamente a 5 metri e positivamente a 25 metri. Questa distinzione non è quindi dovuta alle differenti condizioni dinamiche ma bensì alla maggiore o minore distanza dalla sorgente luminosa e di conseguenza alla capacità delle singole cellule di sopportare o meno il calore.

La correlazione tra la T° e la biomassa fitoplanctonica (Chl_a) è negativa, tranne che in condizioni stratificate superficiali dove risulta essere moderatamente positiva.

In condizioni di mescolamento, troviamo che la T° è fortemente correlata in modo negativo con il silicio sia a 5 che a 25 metri ($R_{5\text{metri}} = -0.8$; $R_{25\text{metri}} = -0.92$). La stessa relazione si osserva in modo meno evidente con gli altri nutrienti ad eccezione dell'azoto totale in superficie ($R = 0.45$).

La biomassa fitoplanctonica Chl_a:

-Si nota che superficialmente le correlazioni tra Chl_a e alcune delle variabili fotofisiologiche (alfa, ETR max) non cambiano la loro direzione (positiva o negativa) se vengono calcolate in condizioni

di stratificazione o di mescolamento. Al contrario nel caso di beta e Ek troviamo una correlazione moderatamente negativa in acque stratificate (rispettivamente $R = -0.38$; $R = -0.6$) e debolmente positiva in acque mescolate. Questo non si verifica a 25 metri, dove le differenti condizioni dinamiche della massa d'acqua sembrano incidere sulla tipologia di correlazione tra la biomassa fitoplanctonica e tutte le variabili sopra citate, positiva in caso di stratificazione, negativa in caso di mescolamento.

La biomassa di Chl_a si correla in modo diretto con l'efficienza fotosintetica, ciò non si riscontra nella condizione di mescolamento a 25 metri ($R = -0.67$) dove probabilmente non si raggiunge un'adeguata illuminazione, rendendo così inutile l'aumento della biomassa ai fini dell'aumento dell'efficienza fitoplanctonica.

La PAR alle profondità indagate (5-25 metri) si correla negativamente con la biomassa, la correlazione risulta essere debole a 5 metri ed in condizioni di mescolamento e molto forte a 25 metri in acque stratificate ($R = -0.74$).

-In condizioni di massa d'acqua mescolata, troviamo correlazioni moderatamente dirette con tutti i nutrienti ($R_{5\text{metri_Ntot}} = 0.49$; $R_{25\text{metri_Ntot}} = 0.62$; $R_{5\text{metri_PO4}} = 0.09$; $R_{25\text{metri_PO4}} = 0.66$; $R_{25\text{metri_Si}} = 0.42$) tranne nel caso del silicio.

La PAR a 5 e a 25 metri:

La luce rilevata alle profondità indagate risulta essere correlata in modo diretto con le variabili Ek e ETR max. Per quanto riguarda Ek la relazione è fortemente diretta in condizioni di stratificazione ($R_{5\text{metri}} = 0.74$; $R_{25\text{metri}} = 0.64$) il valore del coefficiente si abbassa in condizioni di mescolamento ($R_{5\text{metri}} = 0.21$; $R_{25\text{metri}} = 0.39$). Per quanto riguarda le altre variabili fotofisiologiche, troviamo una correlazione diretta con beta, tranne che in condizioni superficiali di stratificazione dove l'intensità luminosa diretta porta le cellule fitoplanctoniche a fotoinibirsi ad intensità minori come risulta anche dai valori di Ed i quali risultano avere una correlazione negativa tranne che in condizioni di mescolamento a 25 metri dove le cellule godono di maggior mobilità ed un'intensità luminosa non eccessiva.

Si osserva una correlazione moderatamente negativa tra PAR e l'efficienza fotosintetica a 5 metri in entrambe le condizioni dinamiche ($R_{\text{strat}} = -0.67$; $R_{\text{mesc}} = -0.41$), le cellule fitoplanctoniche molto vicine alla sorgente luminosa perdono efficienza innescando i processi di auto-protezione soprattutto quando sono costrette nei primi metri, il coefficiente R calcolato in questo studio ha infatti un valore negativo molto più alto in acque superficiali stratificate rispetto a quelle mescolate; mentre in profondità secondo le condizioni dinamiche della massa d'acqua il tipo di correlazione cambia, positiva in acqua mescolata ($R = 0.25$) debolmente negativa in acqua stratificata ($R = -0.19$).

Per quanto riguarda i nutrienti, risulta esserci una correlazione fortemente positiva con il silicio ($R_{5\text{metri}} = 0.32$; $R_{25\text{metri}} = 0.6$).

Il massimo valore del rateo di trasporto elettronico (ETR max):

Le correlazioni tra l'ETR max e tutte le variabili fotofisiologiche (alfa, beta, Ek) non risultano variare se calcolate in condizioni di stratificazione o di mescolamento, questo risulta essere vero a 5 metri, mentre a 25 metri fa eccezione la variabile alfa che cambia la direzione della correlazione a seconda delle condizioni dinamiche della massa d'acqua, positiva in mescolata ($R = 0.48$) e moderatamente negativa in stratificata ($R = -0.22$). Si evidenzia una moderata-forte correlazione diretta con beta, e una correlazione diretta molto forte con Ek ($R = 0.95$).

L'ETR max confrontato con FV/Fm risulta avere una debole correlazione negativa in tutte le condizioni studiate. Si osserva una moderata correlazione negativa tra ETR max e la biomassa fitoplanctonica solo nel caso di massa d'acqua stratificata, sia a 5 che a 25 metri (rispettivamente $R = -0.51$; $R = -0.55$), questo potrebbe succedere a causa dell'auto-ombreggiamento infatti all'aumentare della biomassa fitoplanctonica, in caso di scarsa mobilitazione, aumenta la possibilità che le cellule possano trovarsi una sopra l'altra, questo porta ad una diminuzione del rateo di trasporto elettronico, perchè la luce necessaria per le attività fotosintetiche arriva in meno cloroplasti. In caso di massa d'acqua mescolata i due parametri sopracitati sono invece correlati in modo diretto.

In relazione alla luce, troviamo una relazione da debole a moderata in modo diretto tra PAR e ETR max, in qualsiasi condizioni e profondità studiate ($R_{5\text{metri_strat}} = 0.27$; $R_{25\text{metri_strat}} = 0.61$; $R_{5\text{metri_mesc}} = 0.10$; $R_{25\text{metri_mesc}} = 0.51$).

In condizioni di mescolamento risultano esserci correlazioni positive con tutti i nutrienti, e fortemente positive con il silicio ($R_{5\text{metri}} = 0.27$; $R_{25\text{metri}} = 0.8$) tranne che in superficie dove risulta esserci una correlazione inversa con l'azoto totale ($R = -0.35$).

L'efficienza fotosintetica (FV/Fm):

Come nel caso di ETR max, si nota che le correlazioni tra l'efficienza fotosintetica e le variabili fotofisiologiche (alfa, beta, Ek, ETR max) osservate a 5 metri non sembrano modificare la loro direzione (positiva o negativa) secondo le differenti condizioni dinamiche della massa d'acqua osservate. Questo avviene anche a 25 metri ad eccezione di alfa che a 25 metri cambia il tipo di correlazione in caso di stratificazione o mescolamento, diretta ($R = 0.74$) e debolmente inversa rispettivamente. Tutte le altre variabili fotofisiologiche risultano essere in relazione con FV/Fm in modo inverso.

Genericamente la correlazione tra FV/Fm e la biomassa fitoplanctonica risulta essere diretta ad

eccezione della condizione di mescolamento a 25 metri.

Riguardo alla temperatura si nota una correlazione positiva nei 25 metri e negativa in superficie.

La PAR risulta avere una moderata correlazione negativa nei 5 metri ($R_{\text{strat}} = -0.67$; $R_{\text{mesc}} = -0.41$), e differisce secondo le due tipologie di condizioni dinamiche in profondità, inversa in acqua stratificata e diretta in acqua mescolata, questo ci suggerisce come un'eccessiva vicinanza alla sorgente luminosa possa inibire l'efficienza fotosintetica della cellula fitoplanctonica, come anche l'impossibilità al movimento lungo la colonna d'acqua dato da una tipica condizione di stratificazione, questo si evince anche superficialmente dove si osserva un valore di R al limite tra moderato e forte in acque stratificate e un valore molto più basso nonostante rimanga negativo in acque mescolate.

-5.4 Applicazione modello Phyto VFP

Nei grafici sono stati riportati i valori di produzione primaria calcolati tramite il modello Phyto VFP. Per ognuna delle campagne e per ogni orario di campionamento effettuato all'interno della struttura è stata calcolata la concentrazione di Carbonio prodotto.

Produzione Primaria 5 metri

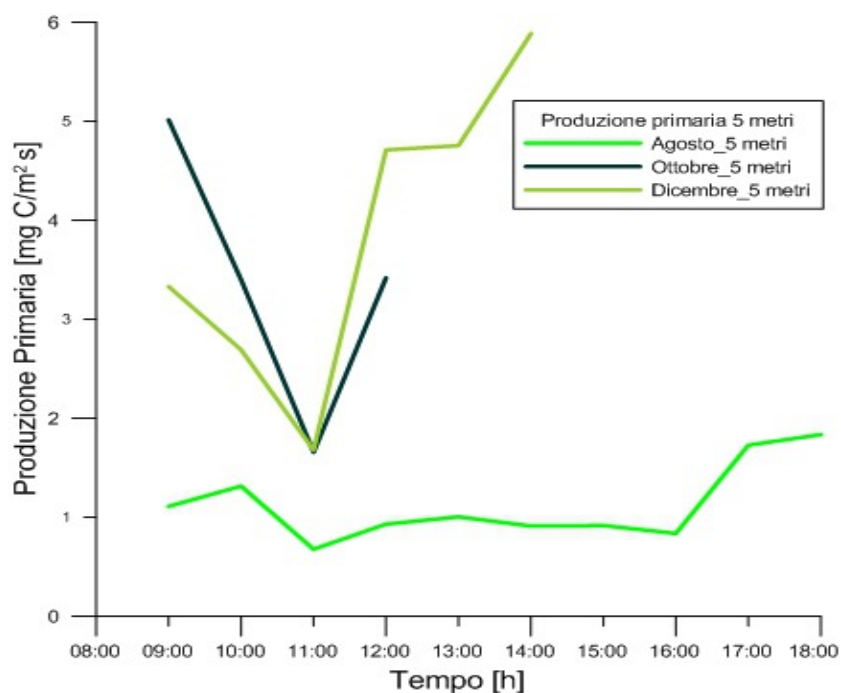


Grafico 47: Si osservano valori molto bassi nella campagna di Agosto (verde chiaro), soprattutto tra le 11:00 e le 16:00 dove abbiamo valori di intensità luminosa molto elevati. Ad Ottobre e Dicembre (verde scuro e verde oliva rispettivamente), notiamo lo stesso flesso notato ad agosto nell'ora di maggior intensità luminosa (11.00), ma il flesso si osserva per un periodo molto più breve. Il valore in assoluto più alto si osserva a dicembre intorno alle 14:00.

Produzione Primaria 25 metri

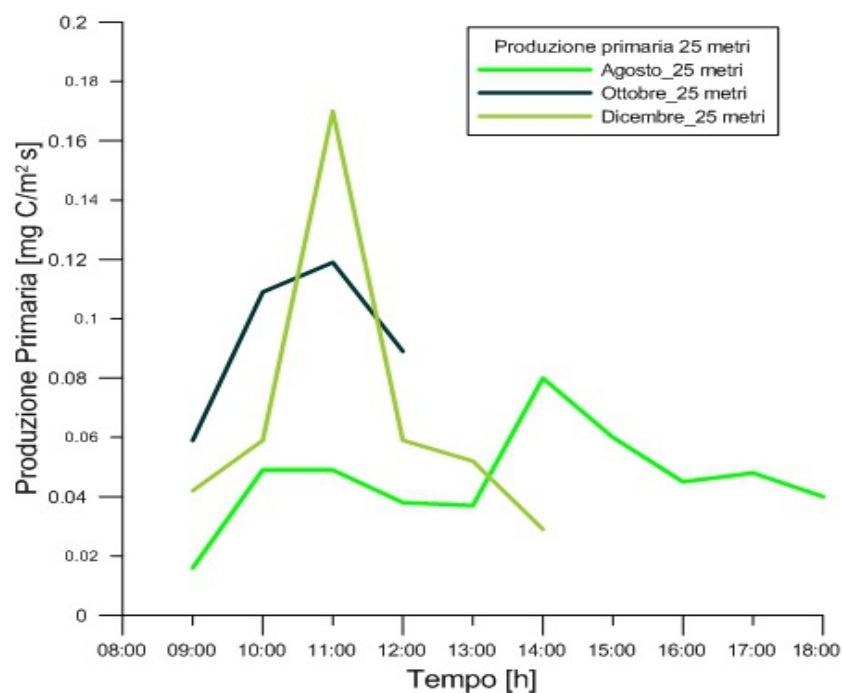


Grafico 48: Anche in profondità, si osservano valori mediamente più bassi nella campagna estiva (verde chiaro), si nota un flesso tra le 11:00 e le 13:00, quindi molto ridotto temporalmente rispetto a quello superficiale. Ottobre e Dicembre presentano valori più alti fino ad un massimo di 0.18 $\text{mgC/m}^2\cdot\text{s}$ (Dicembre ore 11:00).

6- DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'analisi della temperatura e della densità durante tutte e tre le campagne Meso_40, hanno dimostrato che i valori interni ed esterni alla struttura (per ogni campagna rispettivamente) non mostrano rilevanti differenze (grafici 5-7, 19-21, 33-35), questo dimostra che le misure effettuate all'interno della struttura PE.MA.M. sono da considerarsi riguardo a questi aspetti uguali a quelle effettuate in mare aperto. Nonostante la presenza della rete del mesocosmo è stato possibile effettuare misure in condizioni fisiche reali (*sea truth*).

Inoltre grazie all'analisi dei suddetti parametri è stato possibile verificare le condizioni dinamiche della massa d'acqua esaminata, stratificata per quanto riguarda la campagna Meso_40 A, come ci si aspetta in Agosto (grafico 5-6), mescolata durante le campagne Meso_40 B e C nel periodo autunnale ed invernale (grafici 19-21 e 33-35).

Oltre alle variabili fisiche, anche quelle chimiche, come i valori di salinità ci confermano che le condizioni interne della struttura costruita sono identiche a quelle esterne (grafico 6-20-34). Quindi anche dal punto di vista chimico, è possibile considerare le misure all'interno del PE.MA.M. equiparabili a quelle esterne.

Per quanto riguarda i valori di concentrazione di clorofilla_a, si osservano differenze rilevanti tra l'interno e l'esterno del PE.MA.M. solamente nella campagna di Dicembre (grafico 36), questo potrebbe essere determinato dalla presenza di una *patch* di fitoplancton proprio nel punto in cui è stato calato il PE.MA.M., questa *patch* rimasta confinata all'interno ci ha permesso di trovare valori di biomassa sempre più alti rispetto a quelli esterni, lungo tutta la giornata di campionamento.

La struttura Pe.Ma.M. ci ha permesso di misurare in condizioni semi-controllate ma molto vicino a quelle reali; nonostante la struttura da noi pensata e creata abbia una grande capacità di scambio con l'esterno, essa è riuscita comunque a isolare in parte una popolazione di fitoplancton.

La struttura Pe.Ma.M., ad oggi solo un prototipo, risulta essere un utile strumento per lo studio della risposta fotosintetica e di come essa sia altamente variabile in natura in quanto sottoposta a differenti forzanti. Tali forzanti fisiche chimiche e idrodinamiche determinano una maggiore o minore efficienza delle cellule fitoplanctoniche secondo l'ora del giorno o la stagione. Lo studio dell'interazione tra le variabili fisiche-chimiche-idrodinamiche con quelle fotofisiologiche e biologiche risulta essere determinante per il computo della produzione primaria annuale tramite l'utilizzo di modelli previsionali (Piermattei et al. 2006).

Le differenze tra le masse d'acqua interna ed esterna non riguardano né la temperatura né la luce né le condizioni meteorologiche, ma la velocità del flusso orizzontale che all'interno è inferiore di circa il 30% (grafico 3-4). Nonostante le cellule fitoplanctoniche abbiano una capacità di foto-acclimatazione molto veloce, esse trovano all'interno del mesocosmo una situazione reale per

quanto riguarda le variabili fisiche e chimiche, ma maggiormente controllata dal punto di vista idrodinamico, questo fa sì che ogni singola cellula si possa trovare per un tempo maggiore nelle stesse condizioni abiotiche e quindi riuscire con più facilità ad innescare tutti i processi che riguardano la foto-acclimatazione, questo a favore di quelle singole cellule capaci di sopportare range ampi di intensità luminose continuando a produrre invece di fotoinibirsi.

Questo comportamento è stato verificato attraverso l'analisi delle curve P/I le quali mostrano tutti andamenti tipici che rispecchiano quelli presenti in letteratura (Platt, 1980) ma, nelle curve costruite grazie ai campionamenti effettuati internamente al mesocosmo, si osserva che durante gli orari di massima insolazione (11:00-12:00) le curve tendono a rimanere nello stato di foto-saturazione anche con elevati livelli di irradianza al contrario delle curve esterne le quali nelle stesse condizioni tendono invece a fotoinibirsi.

Riguardo le variabili fotofisiologiche (α , β , E_k , ETR_{max} , P_{max}) e l'efficienza fotosintetica, si osserva spesso uno *shift* temporale che varia dai 30 minuti alle 2 ore, dove l'andamento interno sembra precedere quello esterno, questo fenomeno si osserva prevalentemente nei grafici che riportano i valori a 5 metri, sia per quanto riguarda α (grafici 13, 27 e 41), β (grafici 14 e 42), E_k (grafici 15, 29 e 43), ETR_{max} (grafici 16 e 44), P_{max} (grafici 31 e 45) e anche per quanto riguarda l'efficienza fotosintetica dove troviamo questo *shift* a 5 metri nella campagna di Ottobre e a 25 metri nella campagna di Dicembre. Si osserva invece nella campagna di Agosto a 5 metri, nella campagna di Ottobre a 25 metri e nella campagna di Dicembre a 5 metri, uno sfasamento di circa 30 minuti contrario a quello precedentemente descritto. Questo fenomeno, visto soprattutto in relazione ai parametri fotosintetici come E_k , α e ETR_{max} , prova ulteriormente che nella maggioranza dei casi, l'interno della struttura P.E.M.A.M. offre alle cellule fitoplanctoniche la possibilità di adeguarsi per un tempo maggiore alle condizioni fisico-chimiche presenti, potendo in questo modo aumentare la loro capacità di foto-acclimatazione.

In accordo con Fani et al. 2012, le medie relative ai valori di E_k sono molto alte in estate (196.4 -159, 5 e 25 metri rispettivamente), dove la stratificazione sembra avere un ruolo chiave nella determinazione delle differenze nella fotoacclimatazione (tabella 4), in questo caso il fitoplancton può essere considerato eliofilo, ciò capace di crescere esponenzialmente (zona fotolimitata) fino ad alte intensità luminose, questo viene confermato ulteriormente dal alto valore di P_{max} superficiale (81.098, tabella 7) e dal valore di β (tabella 3). In inverno, invece, i valori medi di E_k sono inferiori a quelli estivi (158 e 130, 5 e 25 metri rispettivamente, tabella 4) e la differenza tra le medie a 5 e 25 metri è molto piccola (27.37), questo a dimostrazione che durante il periodo

invernale, dove tipicamente troviamo acque mescolate, i parametri fotosintetici tra la superficie e la profondità sembrano essere simili (Fani et al. 2012), questo determina una foto-acclimatazione di tipo sciafilo, perchè a causa del continuo rimescolamento della massa d'acqua le cellule fitoplanctoniche sono praticamente sottoposte mediamente alla stessa intensità luminosa, quasi a cancellare la differenza tra superficie e profondità che è più marcata nei mesi estivi dove le acque non si mescolano.

L'ETR max medio superficiale (tabella 5) sembra essere maggiore in estate, rispetto che in autunno ed inverno, mentre a 25 metri la differenza tra le tre stagionalità è molto ridotta, questo avviene nonostante ci sia una biomassa fitoplanctonica minore nei mesi estivi (Fani et al., 2012).

Le medie relative all'efficienza fotosintetica (tabella 6) non differiscono molto tra di loro, in accordo con Fani et al.(2012), si riscontrano valori tra lo 0.46 e lo 0.57. Sia in estate che in autunno si ha un'efficienza maggiore in profondità rispetto che in superficie, ciò è dovuto nel primo caso alla troppa luce in superficie, e nel secondo caso alla disponibilità di nutrienti in profondità. In inverno dove abbiamo l'intera massa d'acqua mescolata e quindi disponibilità di nutrienti anche in superficie, l'efficienza fotosintetica varia solo dello 0.1 tra i 5 e i 25 metri ma, è maggiore in superficie dove riesce a raggiungere la luce con minor difficoltà.

Le matrici di correlazione tra tutte le tipologie di variabili, ci indicano che l'efficienza fotosintetica come anche l'ETR max si correlano con i parametri foto-fisiologici quasi sempre in modo indipendente rispetto le condizioni dinamiche, mentre la luce come la temperatura sembrano risentire della condizione dinamiche, la loro correlazione con i parametri foto-fisiologici nelle condizioni stratificate superficiali sono opposte rispetto alle altre condizioni in accordo con Uitz et al. (2008). Si osserva una forte correlazione positiva tra ETR max ed Ek, questo risulta vero in entrambe le profondità ed in entrambe le situazioni dinamiche (Uitz et al. 2008).

In situazione di stratificazione a 25 metri troviamo una forte correlazione negativa tra la PAR e la biomassa fitoplanctonica, al diminuire della luce, il fitoplancton non si inibisce o auto-protegge, usando la sua energia per aumentare la sua biomassa.

In situazione di mescolamento, il Silicio sembra avere una forte correlazione inversa con la temperatura 80-93%, il silicio di natura geologica aumenta con l'aumentare del dilavamento dovuto ai venti e alle piogge, genericamente più frequenti durante il periodo autunnale e invernale.

L'inserimento dei parametri fotosintetici ottenuti durante le campagne Meso_40 all'interno del modello Phyto VFP, ha permesso di stimare la produzione primaria in modo accurato. Grazie all'uso di dati ottenuti direttamente *in situ*, si è potuto osservare la reale variazione giornaliera dovuta ai

fenomeni di fotoacclimatazione in relazione alla dinamica della colonna d'acqua.

Il PE.MA.M. si è dimostrato un ottimo strumento per lo studio e la misura in mare dei fenomeni foto-fisiologici legati alle forzanti fisiche; potrà quindi essere utilizzato in futuro, al fine di ampliare il *dataset* necessario alla parametrizzazione delle variabili descritte in modo da integrare il modello Phyto VFP.

7-Bibliografia:

- Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y. Bex, V., Midgley, P.M. (Eds.). *Climate Change 2013: "The Physical Science Basis Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Inter-governmental Panel on Climate Change"*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Antoine, D., and Morel, A. (1996). *Oceanic primary production: 1. Adaptation of a spectral light photosynthesis model in view of application to satellite chlorophyll observations*. Global biogeochemical cycles, 10(1), 43-55.
- Bates, B.C, Kundzewic, Z.W., Wu, S., Palutigof, J.P. (2008). *Climatic change and water*. Eds. IPC secretariat, Geneva, 210 pp. IPCC Technical Paper VI June 2008.
- Beaugrand, G. (2014). *Pelagic Ecosystems and Climate Change*. In Global Environmental Change (pp. 141-150). Springer Netherlands.
- Behrenfeld, M.J., Falkowski, P.G. (1997). *Photosynthetic rates derived from satellite-based chlorophyll concentration*. Limnology and Oceanography, 42.
- Behrenfeld, M.J., Prasil, O., Babin, M., Bruyant, F. (2004). *In search of a physiological basis for covariations in light-limited and light-saturated photosynthesis*. Journal of Phycology, Volume 40, Issue 1, p. 4-25.
- Berger, A., Loutre, M. F., and Dehant, V. (1989). *Pre-Quaternary Milankovitch frequencies*. Nature, 342, p. 133, 1989.
- Bethoux, J.P., Gentili, B., Morin, P., Nicolas, E., Pierre, C., Ruiz-Pino, D. (1999). *The Mediterranean Sea: a miniature ocean for climatic and environmental studies and a key for the climatic functioning of the North Atlantic*. Prog. Oceanogr. 44,131e146.
- Beyers, R.J., Odum, H.T., (1993). *Ecological Microcosms*. Springer-Verlag, New York, pp. 557
- Boyle T. P. & Fairchild J. F., (1997). *The role of mesocosm studies in ecological risk analysis*. Ecological Applications 7:1099-1102.
- Broecker, W.S., (1982). *Glacial to interglacial changes in ocean chemistry*. Prog. Oceanogr.11, 151-197.
- Broecker W.S. and Peng T.H. (1982). *Traces in the Seas*. Eldigo Press, Lamont-Doherty Geological Observatory.
- Campbell, J., D. Antoine, R. Armstrong, Arrigo, K., Balch, W., Barber, R., Behrenfeld, M., Bidigare, R., Bishop, J., Carr, M.E., Esias, W., Falkowski, P., Hoepffner, N., Iverson, R., Kiefer, D., Lohrenz, S., Marra, J., Morel, A., Ryan, J., Vedernikov, V., Waters, K., Yentsch, C., and Yoder, J. (2002). *Comparison of algorithms for estimating ocean primary production from surface chlorophyll, temperature, and irradiance*. Global Biogeochemical Cycles, 16.

- Cardinale, B.J., Palmer, M.A. (2002). *Disturbance moderates biodiversity–ecosystem function relationships: experimental evidence from caddisflies in stream mesocosms*. Ecology ESA, Vol. 83, Issue 7, pp. 1915-1927.
- Carr, M. E., Friedrichs, M. A., Schmeltz, M., Noguchi Aita, M., Antoine, D., Arrigo, K.R., & Yamanaka, Y. (2006). *A comparison of global estimates of marine primary production from ocean color*. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 53(5), 741-770.
- Charlson, R. J., Lovelock, J. E., Andreae, M.O., Warren, S.G. (1987). *Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate*. Nature, 326(6114), 655-661.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Le Quere, C., Myneni, R.B., Piao, S., Thornton, P., (2013). *Carbon and other biogeochemical cycles*. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- CIESM, 2008. *Impacts of Acidification on Biological, Chemical and Physical Systems in the Mediterranean and Black Seas*. Menton (France).
- Costanza, R., Cumberland, J., Daly, H., Goodland, R., Norgaard, R. (1997). *An Introduction to Ecological Economics*. Ecological Economics, Volume 29, Issue 3, pp. 488-490.
- Crofts, A.R., and Wraight, C.A. (1983). *The electrochemical domain of photosynthesis*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA), vol. 726, Issue 3, pp. 149-185.
- Cullen, J.J. and MacIntyre, J.G. (1998). *Behavior, physiology and the niche of depth-regulating phytoplankton*. Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms, NATO ASI Series, Vol. G41
- Delille B., Harlay J., Zondervan I., Jacquet S., Chou L., Wollast R., Bellerby R. G. J., Frankignoulle M., Borges A.V., Riebesell U. & Gattuso J.-P. (2005). *Response of primary production and calcification to changes of pCO₂ during experimental blooms of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi**. Global Biogeochemical Cycles 19, GB2023. p.2318
- Donaghay, P.L. and Klos, E. (1985). *Physical, chemical and biological responses to simulated wind and tidal mixing in experimental marine ecosystems*. Marine ecology, vol.26: pp.35-45
- Doty, M.S. (1971). *Measurement of water movement in reference to benthic algal growth*. Bot. Mar. 14: pp. 32-35.
- Dubinsky, Z., Falkowski, P.G., Wyman, K. (1986). *Light harvesting and utilization by phytoplankton*. Plant and Cell Physiology, Volume 27, Issue 7, p. 1335-1349.
- Duysens, L. N. M. and Swears, H. E. (1963) in: *Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria*. (Jap. Sot. Plant Physiol., eds) pp. 353-372, University of Tokyo Press, Tokyo.

- Engel A., Zondervan I., Aerts K., Beaufort L., Benthien A., Chou L., Delille B., Gattuso J.-P., Harlay J., Heemann C., Hoffmann L., Jacquet S., Nejstgaard J., Pizay M.-D., Rochelle-Newall E., Schneider U., Terbreuggen A. & Riebesell U. (2005). *Testing the direct effect of CO₂ concentration on a bloom the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* in mesocosm experiments*. Limnology and Oceanography 50: pp. 493-507.
- Ewart AJ (1895–1897). *On assimilatory inhibition in plants*. Botanical Journal of Linnean Society 31: 364–461.
- Falkowski, P.G., Owens, T.G. (1980). *Light—Shade Adaptation two strategies in marine phytoplankton*. Plant Physiology, vol.66, no. 4, pp. 592-595.
- Falkowski, P.G., Kiefer, D.A. (1985). *Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass*. Journal of Plankton Research, vol. 7, Issue 5 pp. 715-731.
- Falkowski, P.G., Wyman, K., Ley, A.C., Mauzerall, D.C. (1986). *Relationship of steady-state photosynthesis to fluorescence in eucaryotic algae*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics, vol.849, Issue 2, pp. 183-192.
- Falkowski, P.G. & LaRoche J. (1991). *Acclimation to spectral irradiance in algae*. Journal of Phycology. Vol 27, Issue 1, pp.8-14.
- Falkowski, P.G. (1992). *Molecular Ecology of Phytoplankton Photosynthesis*. Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea, vol.43, Environmental Science Research pp.115-174.
- Falkowski, P.G. (1994). *The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles*. Photosynthesis Research, Volume 39, Issue 3, pp 235-258.
- Falkowski, P. G., Barber, R. T., & Smetacek, V. (1998). *Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production*. Science, 281(5374), 200-206.
- Falkowski, P. G., Laws, E. A., Barber, R. T., & Murray, J. W. (2003). *Phytoplankton and their role in primary, new, and export production*. Ocean biogeochemistry (pp. 99-121). Springer Berlin Heidelberg.
- Fani F., Zaffonti F., Polonelli F., Nuccio C., Lazzara L.. (2012). *Seasonal variations of photo-acclimation in the phytoplankton assemblages of the Tuscan Tyrrhenian sea*. Biol. Mar. Mediterr. 19 (1): 12-15
- Gallegos, C. I., and T. Platt. (1981). *Photosynthesis measurements on natural populations of phytoplankton: Numerical analysis*. Physiological bases of phytoplankton ecology. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210. p. 103-112 .
- Gamble, J.C., Davies, J.M. (1982). *Application of Enclosures to the Study of Marine Pelagic Systems*. Marine Mesocosms, pp. 25-48.

- Gardner R. H., Kemp M. W., Kennedy V. S. & Petersen J. E., (Eds.), 2001. *Scaling relations in experimental ecology*. 352 p. New York: Columbia University Press.
- Gazeau, F., Sallona, A., Maugendrea, L., Louisa, J., Dellisantia, W., Gauberta, M., Lejeunec, P., Gobertd, S., Borgese, A.V., Harlaye, J., Champenoise, W., Alliouanea, S., Taillandiera, V. (2016). *First mesocosm experiments to study the impacts of ocean acidification on plankton communities in the NW Mediterranean Sea (MedSeA project)*. Journal of Estuarine Coastal and Shelf Science, vol.186, Part A, pp. 11-29.
- Geider, R.J., Osbonie, B.A., Raven, J.A (1986). *Growth, photosynthesis and maintenance metabolic cost in the diatom phaeodactylum tricornutum at very low light levels*. Journal of Phycology, Volume 22, Issue 1 Pages 39 – 48.
- Gregg, W. W., Conkright, M. E., Ginoux, P., O'Reilly, J. E., & Casey, N. W. (2003). *Ocean primary production and climate: Global decadal changes*. Geophysical Research Letters, 30(15).
- Harley, C. D., and others. 2006. *The impacts of climate change in coastal marine systems*. Ecol. Lett. 9: 228–241. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x
- Horton, P., Hague, A. (1988). *Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics, vol. 932, pp. 107-115.
- Jassby, A.D., Platt, T. (1976). *Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton*. Limnology and Oceanology, pp. 540-547.
- Kiefer, D.A., Reynolds, R.A. (1992). *Advances in Understanding Phytoplankton Fluorescence and Photosynthesis*. Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea, vol. 43 Environmental Science Research pp.115-174.
- Kim J.-M., Lee K., Shin K., Kang J.-H., Lee H.-W., Kim M., Jang P.-G. & Jang M.-C. (2006). *The effect of seawater CO₂ concentration on growth of a natural phytoplankton assemblage in a controlled mesocosm experiment*. Limnology and Oceanography 51: pp. 1629-1636.
- Kirk, J.T.O. (1994). *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kitajima, M., Butler, W.L. (1975). *Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics, vol. 376, Issue 1, pp. 105-115.
- Kok B (1956). *On the inhibition of photosynthesis by intense light*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) vol. 21: pp 234–244

- Kolber, Z., Zehr, J., Falkowski, P.G. (1988). *Effects of Growth Irradiance and Nitrogen Limitation on Photosynthetic Energy Conversion in Photosystem II*. Plant Physiology, vol. 88 no.3, pp. 923-929.
- Kolber, Z., Wyman, K.V., Falkowski, P.G. (1990). *Natural variability in photosynthetic energy conversion efficiency: A field study in the Gulf of Maine*. Limnology and Oceanology, 35(1), pp.72- 79.
- Kroer, N. (1994). *Relationships between biovolume and carbon and nitrogen content of bacterioplankton*. FEMS Microbiology Ecology, vol.13, issue3, pp. 217-223.
- Kuiper J., Brockmann U. H., van het Groenewoud H., Hoornsman G. & Hammer K. D., (1983). *Influences of bag dimensions on the development of enclosed plankton communities during POSER*. Marine Ecology Progress Series 14: pp. 9-17.
- Lalli, C.M., (1990). *Enclosed experimental marine ecosystems: a review and recommendations*. New York: Springer-Verlag p.218
- Langdon, C. (1984). *Dissolved oxygen monitoring system using a pulsed electrode: design, performance and evaluation*. Deep-Sea Research, vol. 31, pp. 1357–1367.
- Le Quere, C., Peters, G.P., Andres, R.J., Andrew, R.M., Boden, T.A., Ciais, P., Friedlingstein, P., Houghton, R.A., Marland, G., Moriarty, R., Sitch, S., Tans, P., Arneeth, A., Arvanitis, A., Bakker, D.C.E., Bopp, L., Canadell, J.G., Chini, L.P., Doney, S.C., Harper, A., Harris, I., House, J.I., Jain, A.K., Jones, S.D., Kato, E., Keeling, R.F., Klein Goldewijk, K., Kortzinger, A., Koven, C., Lefevre, N., Maignan, F., Omar, A., Ono, T., Park, G.H., Pfeil, B., Poulter, B., Raupach, M.R., Regnier, P., Rodenbeck, C., Saito, S., Schwinger, J., Segschneider, J., Stocker, B.D., Takahashi, T., Tilbrook, B., van Heuven, S., Viovy, N., Wanninkhof, R., Wiltshire, A., Zaehle, S.. (2014). *Global carbon budget 2013*. Earth Syst. Sci. Data 6, 235e263.
- Lewis, W.R. (1984). *Turbulent motions may control phytoplankton photosynthesis in the upper ocean*. Nature 311, 49-50.
- MacIntyre, H.L., Kana, T.M., Anning, T., Geider, R.J. (2002). *Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria*. Journal of Phycology, Volume 38, Issue 1, pp. 17-38.
- Marrasé, C., Lim, E.L., Caron, D.A. (1992). *Seasonal and daily changes in bacterivory in a coastal plankton community*. Marine ecology progress series. Oldendorf 82.3: pp. 281-289.
- Mauzerall, D., Greenbaum, N.L. (1989). *The absolute size of a photosynthetic unit*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, Volume 974, Issue 2. pp. 119-140.
- Morel, A. (1991). *Light and marine photosynthesis: a spectral model with geochemical and*

- climatological implications*. Progress in Oceanography, 26, 263-30.
- Müller P., Britton, R.S., Seeman, P. (1980). *The effects of long-term ethanol on brain receptors for dopamine, acetylcholine, serotonin and noradrenaline*. European Journal of Pharmacology, Vol.65, Issue 1, pp. 31-37.
 - Nielsen, E.S. (1952). *The Use of Radio-active Carbon (C14) for Measuring Organic Production in the Sea*, J. Cons. Int. Explor. Mer, vol. 18(Issue 2): pp. 117-140.
 - Oviatt C. A., (1994). *Biological considerations in marine enclosure experiments: challenges and revelations*. Oceanography 7:45– 51
 - Owens, T.G. (1991). *Energy Transformation and Fluorescence in Photosynthesis*. Particle Analysis in Oceanography, pp.101-137, Springer Book Archive.
 - Pansch A., Winde V., Asmus R., Asmus H. (2016). *Tidal benthic mesocosms simulating future climate change scenarios in the field of marine ecology*. Association for the Sciences of Limnology and Oceanography: Methods 00, 00-00.
 - Parsons T. R., 1982. *The future of controlled ecosystem enclosure experiments*. In: Grice G. D. & Reeve M. R. (Eds.), Marine mesocosms. Biological and chemical research in experimental ecosystems, pp. 411-418. New York: Springer-Verlag
 - Perry, M.J., Bolger, J.P., English, D.C. (1989). *Primary Production in Washington Coastal Waters*. Coastal Oceanography of Washington and Oregon, vol.47, pp. 117-138.
 - Petersen, J.E., Cornwell, J.C. and Kemp, W.M. (1999). *Implicit Scaling in the Design of Experimental Aquatic Ecosystems*. Oikos, Vol. 85, No. 1, pp. 3-18.
 - Pettersson H., Gross F. & Koczy F., (1939). *Large-scale plankton cultures*. Göteborgs Kungliga Vetenskaps och Vitterhets-Samhälles Handlingar Ser 5 B 6: pp. 1-24.
 - Piermattei, V., Bortoluzzi, G., Cozzi, S., Di Maio, A., Marcelli, M. 2006. *Analysis of mesoscale productivity processes in the Adriatic sea: comparison between data acquired by SARAGO, a towed undulating vehicle, and CTD casts*. Chemistry and Ecology. 22 (supl 1) S275-S292.
 - Platt, T., and Gallagos, C.L. (1980). *Modelling primary production*. Brookhaven Symp. Biol. 31: 339-362. Plenum.
 - Platt T, Gallegos CL and Harrison WG (1980) *Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton*. Journal of Marine Research, vol. 38: pp. 687–701
 - Platt, T., Sathyendranath, S. (1988). *Oceanic Primary Production: Estimation by Remote Sensing at Local and Regional Scales*. Science; Washington 241.4873: 1613.
 - Richardson, K., Beardall, J., Raven, J.A. (1983). *Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies*. New Phytologist, vol. 93, Issue 2, pp. 157-191.

- Riebesell, U., Fabry, V.J., Hansson, L., Gattuso, J-P. (2010). *Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting*. Luxembourg: Publications Office of the European Union - EUR 24328 EN.
- Riebesell U., Lee, K., Nejstgaard, J.C. (2010). *Pelagic Mesocosm*. In: *Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting*. Luxembourg: Publications Office of the European Union - EUR 24328 EN.
- Riebesell U., Bellerby R. G. J., Grossart H.-P. & Thingstad F. (2008). *Mesocosm CO₂ perturbation studies: from organism to community level*. Biogeosciences 5:1157-1164.
- Sakshaug, E., Bricaud, A., Dandonneau, Y., Falkowski, P.G., Kiefer, D.A., Legendre, L., Morel, A., Parslow, J., Takahashi, M. (1997). Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results. *Journal of Plankton Research* 19 (11): 1637-1670.
- Schindler D. W., (1988). *Effects of acid rain on freshwater ecosystems*. *Science* 239:149-157.
- Schindler D. W., Mills K. H., Malley D. F., Findlay D. L., Shearer J. A., Davies I. J., Turner M. A., Linsey G. A. & Cruikshank D. R., (1985). *Long-term ecosystem stress: the effects of years of acidification on a small lake*. *Science* 228:1395-1401.
- Schreiber, U., Schliwa, U., Bilger, W. (1985). *Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer*. *Photosynthesis Research*, vol.10, Issue 1, pp.51-62.
- Sanders F. S., (1985). *Use of large enclosures for perturbation experiments in lentic ecosystems: A review*. *Environmental Monitoring and Assessment* 5:55-99.
- Siegel, D. A., Maritorena, S., Nelson, N. B., Hansell, D. A., and Lorenzi Kayser, M. (2002). *Global distribution and dynamics of colored dissolved and detrital organic materials*. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 107(C12), 21-1.
- Smith, E.L. (1936). *Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Physiology*; vol.22 pp.504-510.
- Stefani, C., Bonamano S., Melchiorri C., Fani F., Lazzara L., Marcelli M. (2015). *A new bio-optical model to estimate phytoplankton primary production: an application in the eastern Mediterranean sea*. EGU general assembly 2015.
- Stegmann, P.M., Lewis, M.R., Davis, C.O., Cullen, J.J. (1992). *Primary production estimates from recordings of solar-stimulated fluorescence in the equatorial Pacific at 150°W*. *Journal of*

Geophysical Research, Ocean vol. 97, pp. 627-638.

- Stephenson G. L., Hamilton P., Kaushik N. K., Robinson J. B. & Solomon K. R. (1984). *Spatial distribution of plankton in enclosures of three sizes*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 41:1048-1054
- Sukenik, A., Bennet, J., Falkowsky, P. (1987). *Light-saturated photosynthesis - Limitation by electron transport or carbon fixation?* Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, vol. 891, Issue 3, pp. 205-215.
- Sukenik, A., Carmeli, Y., Berner, T. (1989). *Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte Nannochloropsis sp.* Journal of Phycology, vol. 25, Issue 4, pp. 686-692.
- The Mermex group, 2011. *Marine ecosystems' responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean*. Prog. Oceanogr. 91, 97e166.
- Thompson, T.L. & Glenn, E.P. (1994). *Plaster standards to measure water motion*. American Society of Limnology and Oceanography, vol. 39 (Issue 7): pp.1768-1779
- Uitz J., Huot Y. (2008). *Relating phytoplankton photophysiological properties to community structure on large scales*. Limnology and Oceanography, 53(2), 614-630
- Vallentyne, J.R. (1955). *Sedimentary chlorophyll determination as a paleobotanical method*. Canadian Journal of Botany, vol. 33(4): pp. 304-313.
- van Kooten, O. & Snel, J.F.H. (1990). *The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology*. Photosynthetis Research , vol. 25, Issue 3, pp. 147-150.
- Walther, G.R. (2010). *Community and ecosystem responses to recent climate change*. Philos. Trans. R. Soc. B 365: pp. 2019–2024.
- Weis, E., Berry, J.A. (1987). *Quantum efficiency of Photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence*. Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, vol 894, Issue 2, pp. 198-208.
- Wernberg, T., D. A. Smale, and Thomsen, M. S. (2012). *A decade of climate change experiments on marine organisms: Procedures, patterns and problems*. Glob. Change Biol. 18: pp. 1491–1498.
- Wiegner, T.N., Kaplan, L.A., Newbold, J.D., Ostrom, P.H. (2005). *Contribution of dissolved organic C to stream metabolism: a mesocosm study using ¹³C-enriched tree-tissue leachate*.

Journal of the North American Benthological Society, 24(1): pp. 48-67.

- Williams, P. J., Jenkinson, N.W., (1982). *A transportable microprocessor controlled Winkler titration suitable for field and shipboard use*. Limnol. Oceanogr., 27, pp. 576–584.
- "The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)". 44th Session in Bangkok, Thailand. 17-20 October 2016.
- Rapporto "Italian Greenhouse Gas Inventory" ISPRA 2014.

RINGRAZIAMENTI

Al termine di questo lavoro voglio esprimere la mia gratitudine a tutti coloro che con il loro lavoro o semplicemente la loro presenza mi hanno aiutato in questa esperienza.

Al prof. Marco Marcelli, tutor della mia tesi, per avermi concesso di vivere quest'esperienza di crescita umana e professionale, per avermi aiutato a rendere possibile ciò che credevo impossibile.

Al prof. Luigi Lazzara, dell'Università degli studi di Firenze, e tutto il suo staff per avermi insegnato ad usare la strumentazione necessaria, per la sua straordinaria gentilezza e per aver messo a mia disposizione tutta la sua esperienza.

Ai miei colleghi Chiara Stefani, Natalizia Consalvi, Riccardo Martellucci, Alberto Pierattini e Cristiano Melchiorri per il supporto tecnico-scientifico fornitemi, per avermi insegnato tanto, sia professionalmente che umanamente e per aver reso speciali questi 4 anni.

A tutti i ragazzi del "Laboratorio di Oceanologia ed Ecologia marina" di Civitavecchia, per avermi accolto in questa "famiglia".

A Selvaggia Cognetti de Martiis, immancabile compagna di vita scientifica e non.

A mia madre e mia sorella, unite per sempre e contro tutto e tutti.

Ad Elisa, passato presente e futuro della mia vita.

A mio padre sempre nel mio cuore.