

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITA' DI BOLOGNA

FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E
NATURALI

Corso di laurea specialistica in SCIENZE PER L' AMBIENTE E
IL TERRITORIO

**STUDI SPERIMENTALI E MODELLISTICI PER
L'ANALISI DELLA CRESCITA
FITOPLANCTONICA IN FUNZIONE DI
VARIABILI AMBIENTALI**

Tesi di laurea in OCEANOGRAFIA

Relatore

Prof.ssa NADIA PINARDI

Presentata

EMANUELA FIORI

Correlatori

Dott. MARCO ZAVATARELLI

Prof.ssa ROSSELLA PISTOCCHI

(III sessione)
Anno Accademico 2007/2008

*Tra boschi e prati
Verdi e fiumi
Con l'acqua o con il sole
Col vento oppure
Con l'aria lieve
Nella calda estate o con la neve
Quanti passi fatti insieme
Allegria di una fatica
Ancor più meravigliosa
Perché...
Fatta con te!
Un sorso d'acqua fresca
E poi l'orizzonte è di nuovo
Davanti a noi
Senza più limiti ed ore
Ci fermeremo col morir del sole
Per poi star davanti al fuoco
In una notte con la luna
A pregar le stelle e il vento di...
Portarci la fortuna.
Lo zaino è fatto
Tutto è pronto
Un nuovo giorno è sorto già
E con il ritmo dei nostri passi
Il nostro tempo misureremo
Poi di nuovo sul sentiero
Solitario e silenzioso
Testimone delle fatiche di chi...
In alto vuole andare!*

*Ai migliori genitori
del mondo...*

INDICE

1	INTRODUZIONE	1
1.1	FITOPLANCTON.....	1
1.2	MICROALGHE IN ADRIATICO	2
1.3	MICROALGHE STUDIATE.....	3
1.3.1	<i>Skeletonema marinoi</i>	3
1.3.2	<i>Synechococcus elongatus</i>	5
1.4	IMPORTANZA DELLE MICROALGHE NELL' AMBIENTE MARINO.....	7
1.5	FATTORI LIMITANTI	9
1.5.1	TEMPERATURA	10
1.5.2	LUCE.....	11
1.5.3	NUTRIENTI DISCIOLTI	14
1.6	OBIETTIVI DELLA TESI.....	19
1.7	FASI DEL PROGETTO DI TESI	20
2	MATERIALI E METODI DI LABORATORIO	23
2.1	TERRENO DI COLTURA	23
2.2	COLTURE BATCH	25
2.3	DISEGNO SPERIMENTALE	27
2.4	VALUTAZIONE DELLA CRESCITA ALGALE E CURVE DI CRESCITA.....	29
2.4.1	METODO DELLA FLUORESCENZA.....	30
2.4.2	METODO DEL CONTEGGIO.....	31
2.5	ANALISI DEL CARBONIO	32
2.5.1	METODO DEL PESO SECCO	32
2.5.2	METODO DELLE CENERI.....	33
2.5.3	METODO DEL CHN.....	34
2.6	ANALISI DELLA CLOROFILLA	34
2.7	MISURA DELL' ATTIVITA' FOTOSINTETICA.....	36
2.8	ANALISI DEI NUTRIENTI.....	38
2.8.1	ANALISI DEI FOSFATI	38

2.8.2	ANALISI DEI NITRATI.....	39
3	MATERIALI E METODI MODELLISTICI.....	41
3.1	IL MODELLO DI ECOSISTEMA.....	41
3.2	NUOVE EQUAZIONI DI STUDIO.....	56
4	RISULTATI	63
4.1	RISULTATI DI LABORATORIO	63
4.2	RISULTATI NUMERICI.....	85
5	CONCLUSIONI.....	103
6	BIBLIOGRAFIA	105

1 INTRODUZIONE

1.1 FITOPLANCTON

Il plancton (dal greco “ciò che è vagante”) è stato introdotto nella letteratura scientifica nel 1887 dal fisiologo V. Hensen, per indicare le particelle sospese e gli organismi animali e vegetali che vivono in sospensione fluttuando nell’acqua; tutto ciò che vaga ed è trasportato passivamente dalle acque. Attualmente il termine plancton viene riferito esclusivamente agli organismi viventi. E’ quindi il complesso di piccolissimi organismi, molti dei quali microscopici, che popola gli strati superficiali delle acque dei bacini marini e lacustri, non in grado di opporsi al moto delle correnti, e quindi passivamente trasportato da quest’ultime. Esso è distinto in zooplancton, composto da organismi animali, fitoplancton, composto da organismi vegetali, e batteri (Ghirardelli, 1981).

Al fitoplancton appartengono gli organismi vegetali autotrofi fotosintetici presenti nel plancton, che sono in grado di utilizzare l’energia solare, attraverso il processo di fotosintesi, per trasformare la materia inorganica disciolta in composti organici utilizzati dagli organismi animali per i loro processi vitali. L’autotrofia è possibile grazie alla presenza di pigmenti fotosintetici quali clorofilla, carotenoidi e ficobiliproteine. Per effettuare la fotosintesi il fitoplancton necessita inoltre di luce e nutrienti disciolti, in particolare azoto e fosforo (e silicio per le diatomee). La possibilità delle alghe di crescere con successo nell’ambiente pelagico di un corpo d’acqua è quindi legata alla loro capacità di sfruttare al meglio la disponibilità di luce e nutrienti disciolti. Le alghe planctoniche sono i produttori primari più importanti degli ecosistemi. La loro capacità fotosintetica è enorme e supera di molto quella delle piante terrestri. Esse contribuiscono in modo determinante al rifornimento di ossigeno nell’atmosfera e rappresentano il primo anello delle catene alimentari degli ambienti acquatici. Il fitoplancton marino riveste quindi un ruolo fondamentale nella fissazione del carbonio a livello globale. La crescita e la successione stagionale del fitoplancton sono

influenzate da vari fattori, tra i quali principalmente: intensità luminosa, temperatura e disponibilità di nutrienti.

1.2 MICROALGHE IN ADRIATICO

L'Adriatico settentrionale è considerata una delle poche regioni del Mar Mediterraneo con produzione permanentemente alta. Le caratteristiche biologiche di questo ecosistema sono fortemente determinate dalla batimetria, dalla meteorologia, dall'idrodinamismo e dagli apporti fluviali, che rappresentano circa il 20% degli apporti di tutto il Mar Mediterraneo (Russo et al., 1996). Gli apporti di acqua dolce dal fiume Po, la frequenza dei venti da Nord e Nord-Est e gli scambi di masse d'acqua con l'Adriatico meridionale influenzano fortemente la composizione e l'attività delle comunità pelagiche (Pugnetti et al., 2000). Buona parte dell'area costiera dell'alto Adriatico, in particolar modo in prossimità della foce del Po, è interessata, nel periodo primaverile e in quello autunnale, da elevati livelli di biomassa microalgale. In questi periodi infatti sono sufficienti apporti fluviali di modesta entità per veicolare in mare ingenti quantità di nutrienti. L'apporto di nutrienti gioca quindi un ruolo importante sulle condizioni trofiche dell'alto Adriatico durante la primavera e l'autunno, mentre il suo effetto si riduce in estate (Giordani et al., 1992). In questi periodi il fitoplancton raggiunge le densità più elevate, condizionando, con la sua capacità di assimilazione la stessa distribuzione orizzontale dei nutrienti.

Nel periodo invernale invece, essendo più freddo e con minore illuminazione, i nutrienti che giungono in mare dai fiumi e quelli rilasciati dai sedimenti tendono ad accumularsi, in quanto non assimilati dalla biomassa fitoplanctonica. Si crea pertanto un'importante riserva di nutrienti che può contribuire all'innescio di blooms non appena le condizioni climatiche determinano un sufficiente riscaldamento ed irraggiamento delle acque. Nei periodi estivi le concentrazioni si stabilizzano su valori bassi.

Come si è detto, la bassa profondità del bacino e l'ingresso di acque dolci ricche di nutrienti fanno dell'Adriatico settentrionale una delle aree più produttive del Mediterraneo. Lungo le coste dell'Adriatico si registra infatti

una produzione primaria che è cinque volte superiore a quella delle altre coste italiane. Il notevole impatto antropico ha determinato, in questi ultimi anni, un massiccio apporto di sali nutritivi. Questo fatto, legato a particolari condizioni meteo marine, è la causa scatenante della comparsa di preoccupanti fenomeni di eutrofizzazione. Con il termine eutrofizzazione viene indicata una serie di fenomeni negativi che avvengono sia nelle acque dolci che marine in seguito al proliferare di alcune specie di alghe. Questo fenomeno si verifica a seguito di un processo di arricchimento in sostanze nutritive del corpo d'acqua, tale da alterare gli equilibri degli ecosistemi acquatici. Il deterioramento della qualità delle acque deriva dalla modifica dello stato trofico di queste zone di mare a causa di un'ipertrofia nutritiva. Oltre a fioriture fitoplanctoniche di entità eccezionale, si possono verificare anossie e conseguenti morie della fauna bentonica.

1.3 MICROALGHE STUDIATE

Nel progetto sono state studiate due microalghe: *Skeletonema marinoi* della classe Coscinodiscophyceae che, nel modello numerico utilizzato (Biogeochemical fluxes model, BFM), fa parte del gruppo funzionale delle diatomee, caratterizzato dalla classe dimensionale 20-200 µm; e *Synechococcus elongatus* della classe Cyanophyceae, che nel BFM rientra nel picofitoplancton, che presenta un range dimensionale di 0.2-2 µm.

1.3.1 *Skeletonema marinoi*

E' una microalga appartenente alla divisione Ochrophyta, classe Bacillariophyceae. Le diatomee sono vegetali unicellulari racchiusi in un caratteristico guscio siliceo, detto frustulo. Il frustulo è formato da due valve o teche, distinte ed ineguali (epiteca ed ipoteca). L'epiteca, la parte superiore, è leggermente più grande della parte inferiore detta ipoteca, che vi si incastra dentro. Epiteca ed ipoteca, a loro volta, sono costituite ognuna da due parti, una superiore ed una inferiore (epivalva ed ipoalva), e da altre

due parti laterali dette epipleura e ipopleura. Infine tra le due valve c'è la zona del cingolo (epicingolo ed ipocingolo), composto dalle bande intercalari. La sostanza che compone l'involucro è una pectina impregnata di silice. Questa caratteristica fa sì che necessitino per svilupparsi non solo di azoto e fosforo ma anche di silice in forma solubile. Le diatomee svolgono quindi un ruolo molto importante nel controllare la quantità di silicio, che assumono sottoforma di acido ortosilicico $\text{Si}(\text{OH})_4$. Infatti nelle acque superficiali la concentrazione di silice può notevolmente abbassarsi dopo le fioriture primaverili. Vengono classificate in base alla struttura dei frustuli in: Diatomee Centriche (ordine Biddulphiales, generalmente con il frustulo a simmetria radiale, ma a volte anche multipolare o a simmetria bilaterale) o Pennate (ordine Bacillariales, generalmente allungate, a simmetria bilaterale). La riproduzione avviene per divisione. L'aumento di volume del citoplasma allontana le due valve e con la divisione della cellula ognuna delle due cellule figlie eredita una valva; successivamente ciascuna cellula riforma la valva mancante. Poiché la valva nuova si forma sempre internamente alla vecchia le dimensioni degli organismi diminuiscono progressivamente. Le primitive dimensioni vengono ripristinate grazie alla riproduzione sessuale e al processo di auxosporulazione; questo porta alla formazione di una cellula di grandi dimensioni (auxospora) che deriva dalla fusione dei due gameti e che riforma il frustulo intero di dimensioni massime.

Come tutti gli eucarioti fotosintetici le diatomee hanno un nucleo ed un numero variabile di cloroplasti di colore giallo o bruno dorato (rossi in fluorescenza) aventi all'interno lamelle formate da tre tilacoidi ed una lamella cingolare che le include tutte. Le diatomee contengono clorofilla *a* e clorofilla di tipo *c*. I pigmenti accessori sono il beta-carotene e tre xantofille: fucoxantina, diatoxantina e diadinoxantina. Importante è anche la presenza di grandi vacuoli, particolarmente evidenti nelle diatomee planctoniche, probabilmente aventi funzione regolatrice del galleggiamento.

Gran parte del fitoplancton marino è costituito da Bacillariophyceae che possono dar vita ad estese "fioriture" stagionali che in genere avvengono senza causare conseguenze negative. Le diatomee costituiscono così una delle principali fonti di nutrimento per animali marini e di acqua dolce.

Finora si conoscono 250 generi e 100000 specie viventi di diatomee, ma molti studiosi tendono a credere che il loro numero sia di gran lunga maggiore.

Skeletonema marinoi è comune nel Mar Adriatico dove, in inverno, è responsabile del massimo annuale di biomassa fitoplanctonica.

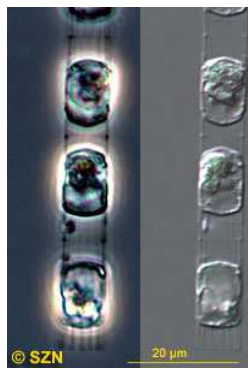


Fig. 1.1 *Skeletonema marinoi*

1.3.2 *Synechococcus elongatus*

Il picofitoplancton è costituito da organismi autotrofi di dimensioni comprese tra 0.2 e 2.0 μm , e comprende sia cellule procariotiche che eucariotiche. Nel picofitoplancton procariotico troviamo i cianobatteri ascrivibili all'ordine delle Chroococcales, appartenenti al genere *Synechococcus*, che sono i primi procarioti picofitoplanctonici ad essere stati scoperti (Johnson et al. 1979). Le ridotte dimensioni costituiscono un vantaggio per i cianobatteri. Il loro alto rapporto superficie-volume consente a questi organismi una maggiore efficienza nell'assunzione dei nutrienti, fatto che conferisce loro un vantaggio competitivo rispetto al fitoplancton di dimensioni maggiori.

Il contributo del picofitoplancton alla produzione primaria e alla biomassa totale fitoplanctonica decresce passando da regioni oligotrofiche (dove può raggiungere valori superiori al 90%) a regioni eutrofiche (aree di upwelling o costiere, dove sono stati riscontrati contributi inferiori al 30%), dove la maggiore concentrazione di nutrienti è tale da favorire la prevalenza del fitoplancton di taglia maggiore (Modigh et al., 1996). Nelle regioni

oligotrofiche, i cianobatteri del genere *Synechococcus* contribuiscono in maniera determinante alla produzione primaria e possono raggiungere concentrazioni dell'ordine di $10^6 - 10^7$ cell ml⁻¹ (Revelante et al., 1995), sono tuttavia presenti anche nelle zone mesotrofiche e nelle vicinanze delle zone di upwelling equatoriali (Hall, 1990; Zubkov et al., 1998; Brown et al., 1999). Inoltre l'abbondanza di questa specie decresce progressivamente procedendo verso le alte latitudini, in corrispondenza, quindi, di una diminuzione di temperatura (Murphy et al., 1985).

Nell'Adriatico settentrionale le diverse componenti picofitoplanctoniche mostrano un differente andamento stagionale: i cianobatteri presentano un massimo di densità nel periodo primavera-estate, mentre gli eucarioti sono più abbondanti in autunno ed in inverno (Vanucci et al., 1994). L'abbondanza di *Synechococcus* nella zona eufotica (dalla superficie ad una profondità massima di 200 m) del nord Adriatico oscilla tra $10^2 - 10^6$ cell ml⁻¹ (Radic, 2006), mentre è stato riscontrato un valore pari a $10^3 - 10^5$ cell ml⁻¹ nel medio Adriatico (Moreira-Turcq et al., 2001).

Per sfruttare al meglio la radiazione luminosa incidente, gli organismi fotosintetici marini presentano un'estrema diversificazione dei pigmenti fotosintetici. I principali pigmenti fotosintetici dei cianobatteri sono la clorofilla *a*, l'unica presente in questi organismi, i carotenoidi (liposolubili) e le ficobiliproteine (idrosolubili). Tra i carotenoidi, la zeaxantina è il pigmento presente in maggiore quantità, rappresenta infatti il 40-80% dei carotenoidi totali (Stockner et al., 1986). Oltre ad ampliare lo spettro di azione per la fotosintesi, questi pigmenti hanno l'importante funzione di fotoprotezione della cellula dai raggi UV e dalla radiazione visibile, e di evitare la supersaturazione di ossigeno così da migliorare la capacità fotosintetica dei cianobatteri in prossimità della superficie (Paerl, 1984). Tra i pigmenti accessori i cianobatteri contengono inoltre, le ficobiliproteine, pigmenti proteici organizzati in speciali strutture aggregate, dette ficobilisomi, situate nelle membrane dei tilacoidi. Le ficobiliproteine contribuiscono alla fotosintesi captando l'energia solare e trasferendola alla clorofilla *a* (MacIasaac et al., 1993), e possono costituire più del 50% delle proteine solubili totali. Questi meccanismi di adattamento permettono ai cianobatteri di poter vivere a maggiori profondità, dove l'energia luminosa è

minore. Ad esempio *Synechococcus*, durante i periodi di stratificazione, è in grado di sopravvivere negli strati più profondi della colonna d'acqua, caratterizzati da alte concentrazioni di nutrienti. Inoltre i cianobatteri sono in grado di superare lunghi periodi in carenza di azoto, grazie alla loro capacità di accumulare questo elemento nelle ficobiliproteine (Glover et al., 1986; Heathcote et al., 1992).

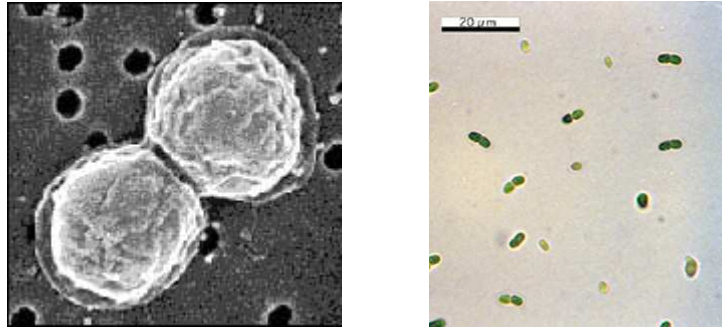


Fig. 1.2 *Synechococcus elongatus*

1.4 IMPORTANZA DELLE MICROALGHE NELL'AMBIENTE MARINO

Le comunità fitoplanctoniche rivestono un ruolo fondamentale nel funzionamento degli ecosistemi marini, contribuendo in modo sostanziale ai cicli biogeochimici globali del carbonio, infatti le microalghe marine, sono responsabili del 50% del carbonio inorganico annualmente assimilato sulla terra (Longhurst, 1991). La produzione primaria fitoplanctonica costituisce la base della rete trofica marina. Un'importante frazione della produzione primaria fitoplanctonica avviene nelle zone costiere, un ambiente caratterizzato da una forte variabilità stagionale, interannuale e decadale e soggetto ad intenso impatto antropico. La comprensione delle variazioni strutturali e/o dinamiche che possono avvenire, in conseguenza di cambiamenti ambientali, a questo livello della catena trofica, è quindi di fondamentale importanza per la comprensione del funzionamento dell'intero ecosistema marino costiero. Per questo motivo è di fondamentale

importanza l'analisi degli effetti esercitati sul fitoplancton da variazioni dei parametri ambientali (intensità e qualità della radiazione luminosa, temperatura, disponibilità di nutrienti) che ne influenzano in maniera diretta il metabolismo. Numerosi sono gli studi riguardanti le risposte fisiologiche di singole specie a tali cambiamenti (Beardall and Giordano, 2002; Beardall et al., 2002), meno studiati, invece, sono gli effetti che mutamenti dei parametri ambientali possono causare a livello di comunità e la loro parametrizzazione nei modelli numerici.

Il fitoplancton è in grado di sviluppare particolari adattamenti in risposta alla variabilità ambientale. Ad esempio, la dimensione degli individui può cambiare in funzione del grado di trofia delle acque (Thingstad e Rassoluzadegan, 1999). Le mutate condizioni ambientali possono favorire alcune specie in grado di adattarsi meglio alle nuove condizioni a scapito di altre. A questo proposito, in certe condizioni ambientali potrebbero diventare dominanti specie fitoplanctoniche normalmente di scarsa rilevanza, come specie algali tossiche.

Un'analisi della comunità algale del plancton costiero risulta ancora più importante alla luce del fatto che alcune specie sono coinvolte in importanti fenomeni ecologici, come la produzione di sostanze gelatinose (mucillagini) (Pistocchi et al. 2005), la produzione di fitotossine (Boni et al., 2001; Ciminiello et al., 2006) maree colorate ecc. Tali fenomeni presentano una scala temporale di variabilità di tipo interannuale sono ritenuti fortemente influenzati dalla pressione antropica sull'ambiente costiero e a loro volta incidono fortemente sullo sfruttamento e la fruizione dell'ecosistema. La comprensione qualitativa e quantitativa dei processi eco-fisiologici e popolazionistici (successione di specie) di adattamento alla variabilità ambientale, relativi alle più diffuse specie fitoplanctoniche rappresenta, quindi, il passo iniziale per la comprensione e la previsione di fenomeni "estremi" e potenzialmente dannosi.

1.5 FATTORI LIMITANTI

Il fitoplancton è il primo anello delle catene trofiche perché a questo gruppo di organismi, oltre che a quello delle macroalghe, si deve la produzione delle sostanze organiche che alimentano i consumatori del primo livello e quelli dei livelli superiori, la cui esistenza sarebbe impossibile senza i vegetali. E' dunque molto importante conoscere quali sono i fattori che nelle acque regolano la distribuzione e l'accrescimento dei vegetali e come essi agiscono (Ghirardelli, 1981).

Ogni ambiente naturale è il risultato dell'interazione fra vari fattori fisici e chimici, detti fattori abiotici, che creano le condizioni di esistenza di un determinato ambiente ed influiscono perciò in modo determinante sulle forme di vita che potranno in esso insediarsi, nonché sui rapporti reciproci che si stabiliranno: influiscono cioè sulla natura e sulla distribuzione dei fattori biotici. Per ognuno dei fattori che caratterizzano un ambiente, esiste un valore massimo e minimo entro il quale la vita è possibile (fattori limitanti e limiti di tolleranza delle specie).

Le condizioni ambientali che in qualsiasi modo rallentano la crescita di uno o più gruppi di organismi, sono dette fattori limitanti. Il concetto di fattore limitante fu sviluppato intorno a 1840 da Justus von Liebig, con l'enunciazione della "legge del minimo", secondo la quale la velocità di crescita degli organismi viventi risulta dipendente dalla quantità minima di uno qualsiasi degli elementi indispensabili. Successivamente, però, il concetto di fattore limitante fu ampliato da F.F. Backman, che considerò la limitazione come conseguenza non solo della carenza ma anche dell'eccesso di un qualche elemento (es. temperature troppo alte/basse, luce troppo/poco intensa). Lo studio dei fattori limitanti è di importanza fondamentale, sia per comprendere le ragioni di determinati fenomeni, che per prevedere l'effetto di situazioni che accidentalmente o volontariamente vengono introdotte in un ambiente. I limiti estremi delle condizioni ambientali in cui una specie è ancora in grado di vivere, rispetto ad un determinato fattore, è detto ambito di tolleranza o range di tolleranza (Marchegiani e Mirra, 1988).

Nell'ambiente marino i fattori limitanti sono rappresentati dalla temperatura, dalla luce, dalla quantità di nutrienti disciolti, dalla salinità e dall'ossigeno

disciolto. In questo progetto sono stati studiati gli effetti che hanno sulla crescita del fitoplancton tre fattori limitanti: temperatura, luce e nutrienti disciolti (azoto e fosforo).

1.5.1 TEMPERATURA

La temperatura superficiale degli oceani varia con la latitudine, e subisce inoltre l'influenza delle condizioni climatiche delle vicine aree continentali. Variazioni della temperatura si hanno anche con il ciclo stagionale e con l'alternarsi del giorno e della notte. La nuvolosità ed il vento possono determinare variazioni locali. Alle medie latitudini l'escursione termica annuale può essere superiore ai 10-15°C . Nell'alto Adriatico l'escursione termica annua si aggira sui 15°C e interessa tutta la massa d'acqua dalla superficie al fondo. Le oscillazioni della temperatura si smorzano con la profondità. Lo strato in cui si ha la variazione di temperatura è detto termocline e può trovarsi a differente profondità a seconda della stagione e della località. Un netto termocline è l'espressione di una marcata stratificazione, le acque superficiali sono più calde e meno dense; specialmente lungo le coste la densità si abbassa anche per l'apporto di acque dolci provenienti dai fiumi che sono nettamente separate dalle acque sottostanti più fredde e più salate (Ghirardelli, 1981).

La temperatura influisce in modo determinante sulla distribuzione degli organismi. La relazione tra la temperatura e l'attività biologica è descritta da una relazione secondo la quale, all'aumentare della temperatura corrisponde un proporzionale aumento del tasso di crescita fino alla temperatura ottimale, che corrisponde al limite massimo del tasso di crescita, oltre il quale il metabolismo si arresta bruscamente, e il tasso di crescita decresce fino a zero (Marshall, 1982). Al contrario un abbassamento della temperatura determina un rallentamento progressivo del metabolismo fino al suo arresto. Le temperature che costituiscono il limite massimo e minimo sono variabili per ogni tipo di organismo.

La penetrazione della luce influisce anche su altri fattori importanti per il fitoplancton, quali la solubilità dell'ossigeno ed i movimenti delle masse d'acqua, ai quali il plancton è vincolato (Marchigiani e Mirra 1988).

1.5.2 LUCE

Il fattore limitante che maggiormente condiziona la “vita” è la luce. La quantità di energia solare che cade su di un punto della superficie della Terra dipende da molti fattori, latitudine, stagione, stato del cielo, presenza di polveri e di vapori che possono assorbire o diffondere una frazione più o meno grande della radiazione incidente. La luce solare contiene radiazioni di vario tipo di cui più della metà rientrano nel campo del visibile, un po' meno della metà nel campo dell'infrarosso, una piccolissima parte è rappresentata dalle radiazioni ultraviolette.

Gli effetti macroscopici spettano alle radiazioni visibili. Esse rappresentano la fonte di energia primaria per gli organismi, che grazie ad essa possono compiere la fotosintesi clorofilliana, nonché un fattore limitante in tutti gli ambienti, che scandisce l'inizio e il termine delle attività giornaliere e stagionali degli organismi viventi.

La quantità di energia utilizzabile per la fotosintesi perciò è circa la metà di quella disponibile perché solo una parte della banda dello spettro luminoso viene utilizzata e cioè quella compresa fra 380 e 720nm. Una parte dell'energia incidente non penetra nell'acqua perché viene riflessa dalla superficie. La quantità di energia riflessa dipende sia dall'altezza del sole sia dallo stato del mare. Penetrate sotto la superficie, le radiazioni vengono assorbite e diffuse dalle molecole d'acqua. L'intensità della luce decresce esponenzialmente con la profondità nella colonna d'acqua.

La penetrazione della luce in acqua è espressa dalla formula di Lambert:

$$I_z = I_0 e^{-k_z z} \quad (0.1)$$

Dove I_0 è l'intensità della luce incidente alla superficie ed I_z rappresenta l'intensità della luce alla profondità z . K_λ è detto coefficiente di estinzione. A valori elevati del coefficiente di estinzione corrisponde un più rapido decremento dell'intensità luminosa. Nel primo metro d'acqua sotto la superficie viene assorbita più luce che non in tutti gli strati sottostanti, ciò è dovuto al fatto che nei primi metri vengono assorbite le radiazioni corrispondenti all'infrarosso e all'ultravioletto (Ghirardelli 1981).

Il fotoperiodo rappresenta il numero di ore di luce in un giorno, ossia del dì. Nelle zone temperate la lunghezza del dì varia gradatamente col variare delle stagioni. Il fotoperiodo è uno dei sincronizzatori di maggiore importanza dei ritmi biologici, sia giornalieri che stagionali. Gli organismi autotrofi sono infatti in grado di modificare, in conseguenza al rapporto notte-dì, le proprie attività (Venturelli, 1995).

Negli ambienti acquatici lo spessore della colonna d'acqua che viene illuminata varia da pochi metri a qualche centinaio, a seconda dell'inclinazione dei raggi solari e della limpidezza delle acque. Perciò anche la distribuzione degli organismi fotosintetici varierà di conseguenza. La penetrazione della luce alle varie profondità è uno dei fattori più importanti che influiscono sulla distribuzione delle varie specie lungo la colonna d'acqua (Marchigiani e Mirra 1988).

E' detta zona eufotica lo strato d'acqua nel quale la luce è sufficiente per la fotosintesi. Il suo limite inferiore coincide con la profondità alla quale l'intensità della luce è pari almeno all'1% della radiazione superficiale. Lo spessore dello strato eufotico, che di solito è minore di 200 m, può variare a seconda delle condizioni di illuminazione in superficie e della trasparenza delle acque. E' noto che con una debole energia luminosa l'attività fotosintetica è proporzionale all'energia disponibile, se l'energia aumenta si raggiunge un valore di saturazione. Un ulteriore aumento dell'energia luminosa determina una progressiva riduzione dell'attività fotosintetica che può essere completamente bloccata. Questo spiega perché il massimo addensamento delle alghe, durante il giorno, non è superficiale, ma può trovarsi anche ad una discreta profondità (Ghirardelli 1981).

La risposta del tasso fotosintetico all'intensità luminosa è visualizzato con le curve P-E (tasso fotosintetico (P)-intensità luminosa (E), Photosynthetic

rate-Intensity light). Il tasso fotosintetico aumenta linearmente con l'intensità luminosa fino a raggiungere un plateau, che corrisponde, sull'asse delle ordinate, al valore massimo del tasso fotosintetico (P_{max}). Quest'ultimo è anche chiamato capacità fotosintetica, ed è funzione delle reazioni scure della fotosintesi. Intensità di luce molto alte sono infatti inibitorie. P_{max} è uno dei parametri più usati per descrivere e costruire modelli matematici sulla produzione del fitoplancton. Spesso è indicato come numero di assimilazione, il valore di questo parametro appartenente all'intervallo che va da 0.1 a 20 ($\text{mg C (mg chl a)}^{-1} \text{ h}^{-1}$), in genere è compreso tra 2 e 10. Bassi numeri di assimilazione sono caratteristici di cellule in carenza di luce o nutrienti, mentre alti valori sono caratteristici di cellule adattate con sufficiente luce e nutrienti. I numeri di assimilazione variano a seconda delle diverse specie di fitoplancton, inoltre, secondo alcuni studi, la temperatura sembra essere il parametro ambientale che maggiormente influenza questo parametro.

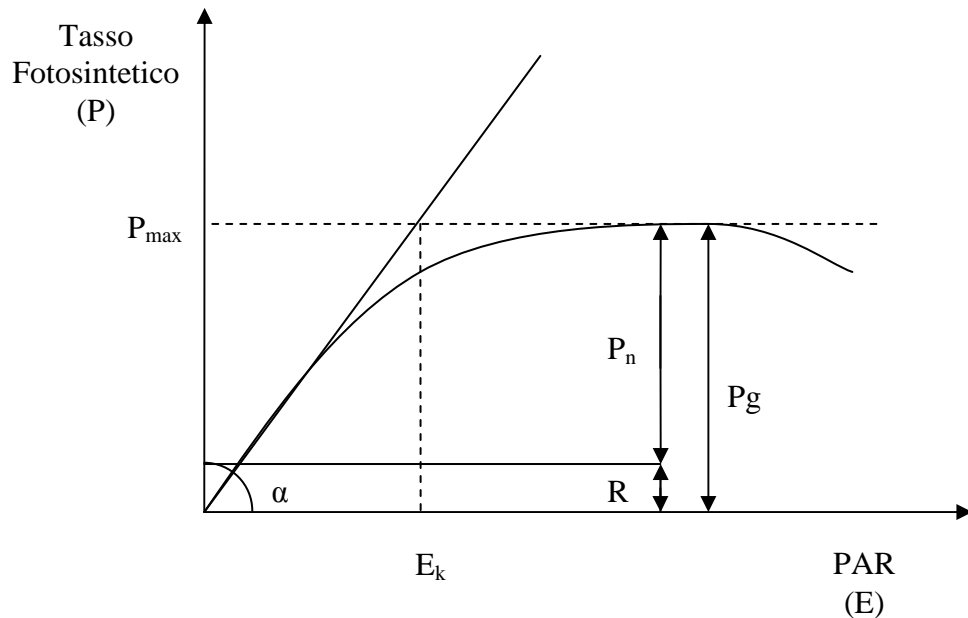


Fig. 1.3 curva P-E, risposta del tasso fotosintetico all'intensità luminosa

Come si può dedurre dal grafico, E_k è il prolungamento sull'asse delle ascisse, corrisponde al punto in cui la pendenza iniziale della curva (α) interseca la tangente al plateau (P_{max}). E_k è generalmente utilizzato per indicare il valore di intensità luminosa a cui avviene la saturazione. In figura sono mostrati anche la fotosintesi lorda ($P_g = \text{gross photosynthesis}$), la fotosintesi netta ($P_n = \text{net photosynthesis}$) e la respirazione (R). Il tasso di respirazione corrisponde in genere al 5-10% del tasso di fotosintesi equivalente alla luce di saturazione. A intensità di luce molto basse, il tasso di respirazione bilancia il tasso di fotosintesi lorda, perciò le cellule non sono in grado di crescere (la fotosintesi netta è uguale a zero). L'intensità luminosa che corrisponde a questo punto di compensazione è detta intensità di compensazione (E_c). In particolare viene definita profondità di compensazione il punto della colonna d'acqua in cui si verifica l'intensità di compensazione. La profondità di compensazione definisce inoltre il limite inferiore della zona eufotica, dove l'intensità luminosa equivale all'1% di quella superficiale (Marshall, 1982).

1.5.3 NUTRIENTI DISCIOLTI

Oltre a carbonio, idrogeno e ossigeno, le alghe necessitano, per crescere e riprodursi, di altri 13-15 elementi. Molti di questi sono in genere presenti nell'acqua di mare in quantità sufficienti da soddisfare il fabbisogno del fitoplancton; non vengono perciò considerati fattori limitanti. La presenza di azoto e fosforo è un fattore indispensabile per la vita del fitoplancton, tuttavia la loro concentrazione nelle acque superficiali presenta spesso valori bassi, che limitano quindi la crescita fitoplanctonica (Marshall, 1982).

Nelle cellule algali si trovano da 10 a 20 atomi di azoto in media per ogni 40 atomi di carbonio. Le alghe devono quindi disporre di azoto in quantità sufficiente, altrimenti il loro sviluppo può essere limitato o addirittura impedito. La concentrazione dell'azoto è di solito minore nelle acque superficiali e tende ad aumentare con la profondità dopo di che resta praticamente costante (Sverdrup, Johnson and Fleming, 1949). E' stata però osservata la rimonta di acque profonde particolarmente intensa in alcune

zone dell'Atlantico e del Pacifico (upwelling) che portano in superficie nutrienti. In scala minore fenomeni simili si hanno anche in Adriatico, quando in autunno si rompe la stratificazione termica e vengono messi in circolo i sali nutritivi accumulati a livello del fondo. L'azoto è presente in mare come NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- e come azoto organico in soluzione. In condizioni naturali sono più abbondanti ammonio e nitrati. Il fitoplancton può utilizzare l'azoto in tutte queste forme, ma quando sono disponibili l'ammonio e il nitrato, in molte specie l'ammonio viene usato per primo.

Anche il fosforo come l'azoto è un costituente essenziale e viene utilizzato dal fitoplancton sotto forma di ione ortofosfato H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} che derivano dalla dissociazione dell'acido ortofosforico o di composti organici quali glicerofosfati. Il fosforo organico è sempre presente nelle acque in quantità variabili nel corso dell'anno con un minimo dopo la fioritura primaverile delle alghe.

La disponibilità di nutrienti (N e P) è legata alla loro immissione dall'esterno del corpo d'acqua ad opera dei fiumi ed alla loro mobilitazione dal fondo, dove avviene la degradazione della sostanza organica e dove quindi essi tendono ad accumularsi. La quantità di azoto e fosforo che sotto diverse forme ed in modi differenti arriva al mare, non è costante durante l'anno, perché dipende in gran parte dall'andamento stagionale che condiziona la portata dei fiumi. Inoltre l'azoto e il fosforo presenti in mare possono essere utilizzati con diversa intensità nel corso dell'anno, si hanno così variazioni anche rilevanti della quantità di nutrienti nelle diverse stagioni. In generale, durante l'inverno l'azoto è abbondante in superficie e nelle acque profonde, mentre in primavera si osserva una rapida ed accentuata diminuzione dell'azoto ammoniacale e del fosforo dovuta alla moltiplicazione del fitoplancton. In estate con lo stabilirsi del termoclino le acque superficiali possono essere molto povere di azoto e di fosforo per effetto della stratificazione perché le acque più profonde, più ricche di nutrienti, non possono mescolarsi con quelle superficiali. Alla fine dell'estate, con l'abbassamento della temperatura, aumenta la densità dell'acqua in superficie che diviene più pesante e tende pertanto a mescolarsi con l'acqua più profonda. Il rimescolamento è favorito dall'aumentare del moto ondoso; la stratificazione si rompe ed i nutrienti

presenti nelle acque profonde vengono portati in superficie dai moti turbolenti e dalle correnti e divengono disponibili per il fitoplancton. Si può quindi avere una fioritura autunnale del fitoplancton, generalmente più modesta di quella primaverile, anche per la minore quantità di luce disponibile. Anche la quantità di fosforo nelle acque superficiali è legata ai cicli del fitoplancton, è minima in estate dopo le fioriture primaverili e presenta valori massimi durante l'autunno e l'inverno.

Interessante è la situazione del Mediterraneo dove i valori in superficie sono simili a quelli dell'Atlantico, attorno ai $3 \mu\text{g l}^{-1}$ mentre sono notevolmente più bassi quelli rilevati in profondità. A 1000 m in Atlantico la quantità di P è circa $46 \mu\text{g l}^{-1}$, in Mediterraneo $12 \mu\text{g l}^{-1}$. Nel Mar Nero tra 200 e 1000 m si hanno valori che sono circa 3-4 volte più alti di quelli osservati in Mediterraneo alla stessa profondità. In condizioni normali la quantità di sali nutritivi nelle acque profonde è dunque maggiore di quella presente in superficie. Le acque profonde sono per questo una grande riserva di azoto e di fosforo e quando rimontano in superficie, grazie a fenomeni di upwelling e rimescolamento, aumentano la produttività primaria.

I valori del rapporto tra azoto e fosforo nell'acqua di mare sono sensibilmente vicini a 15-16, vale a dire che per ogni atomo di fosforo ve ne sono in media 15-16 di azoto. Non sono tuttavia infrequenti i casi in cui questo rapporto è alterato in modo anche rilevante, come ad esempio nelle acque del Po, dove il rapporto N/P è di circa 51. Questo naturalmente si riflette sulle acque dell'alto Adriatico, dove le condizioni idrologiche sono profondamente condizionate dall'apporto delle acque del maggior fiume italiano e da quelle dei fiumi dell'estuario veneto. Le acque dolci determinano modificazioni della salinità e della densità che, assieme alle variazioni di temperatura agiscono sulle condizioni di stabilità della colonna d'acqua, poco profonda dell'alto Adriatico (Ghirardelli, 1981).

In Adriatico settentrionale la distribuzione dei nutrienti disciolti è influenzata dalle caratteristiche idrodinamiche del bacino che determinano marcate differenze stagionali. Durante l'estate le acque dolci più leggere galleggiano sopra quelle più fredde e dense che si trovano negli strati sottostanti e nelle quali resta concentrata la maggior parte dei nutrienti, poiché la stratificazione di densità riduce gli scambi verticali fra le masse

d'acqua. Inoltre la quantità di nutrienti portata dai fiumi è scarsa a causa del regime di magra dei fiumi stessi. Si ha così una riduzione della fotosintesi, probabilmente dovuta anche al fatto che la luce è troppo intensa, diviene così un fattore limitante anziché stimolante.

In autunno la produttività è elevata poiché aumenta lo spessore della colonna d'acqua in cui vi è un intenso e completo rimescolamento ad opera del vento; rimescolamento che porta in circolo i sali nutritivi che erano confinati negli strati profondi. Condizioni sfavorevoli sono invece la ridotta intensità luminosa e la minore trasparenza delle acque provocata dall'aumento del materiale in sospensione, anch'esso portato dai fiumi.

Durante l'inverno l'intensità della luce si riduce ancora di più e di conseguenza diminuisce lo spessore dello strato eufotico. L'instabilità verticale a causa delle tempeste è però molto accentuata e pertanto i nutrienti sono rimessi in circolazione e, anche se molto scarsi, vengono utilizzati intensamente. La produttività si mantiene pertanto su valori abbastanza alti.

In primavera, infine, si ha di nuovo un aumento sensibile della produttività per la concomitanza di una serie di circostanze favorevoli come la crescente intensità luminosa e l'aumento di sali nutritivi dovuto alle piene. La stratificazione termica che inizia ad instaurarsi non impedisce del tutto la distribuzione verticale dei nutrienti e nello stesso tempo ne favorisce la distribuzione orizzontale. In questo modo viene incrementata la produzione anche lontano dalle coste (Franco, 1973).

Le acque fluviali defluiscono lungo la costa dove vi possono essere zone nelle quali la quantità di nutrienti può essere molto elevata; gran parte di questi nutrienti però non viene utilizzata a causa del loro sfavorevole rapporto reciproco.

Il tasso di uptake è collegato alla concentrazione di nutrienti extracellulare mediante una funzione iperbolica (fig. 1.4), che è empiricamente descritta dall'espressione di Michaelis-Menten per la cinetica enzimatica:

$$V = Vm \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (0.2)$$

Dove V equivale al tasso di uptake di nutrienti, V_m è il massimo tasso di uptake di nutrienti, S è la concentrazione di nutrienti e K_s è la costante di semi saturazione, o concentrazione del substrato alla quale corrisponde un tasso di uptake ($1/2 V_m$) pari alla metà del tasso massimo, $V=V_m/2$. Bassi valori di K_s suggeriscono un'alta affinità per il substrato, e quindi l'abilità ad assumere nutrienti a basse concentrazioni di substrato. Esistono specie di fitoplancton che sono adattate a vivere in ambienti oligotrofici, dove vi sono basse concentrazioni di nutrienti. Queste specie presentano bassi tassi di saturazione di nutrienti rispetto alle specie degli ambienti eutrofici.

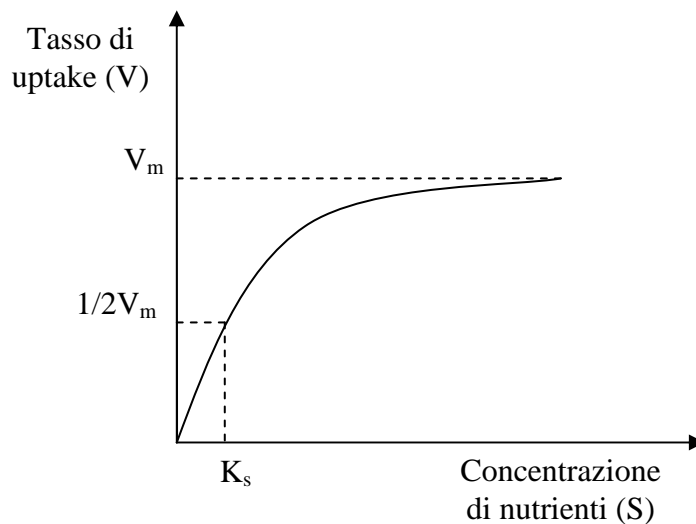


Fig. 1.4 Relazione tra la concentrazione di nutrienti nel substrato (S) e il tasso di uptake (V)

La composizione delle cellule può essere un utile indicatore della limitazione da nutrienti. Infatti le cellule tipicamente contengono al loro interno C, N e P con un rapporto atomico di 106:16:1, secondo il rapporto di Redfield (Goldman et al., 1979). Quindi un alto rapporto N:P in una cellula fitoplanctonica (per esempio pari a 30), suggerisce una limitazione da fosforo; mentre un valore basso di questo rapporto (per esempio pari a 5), evidenzia una carenza di azoto (Marshall, 1979).

1.6 OBIETTIVI DELLA TESI

Lo scopo del progetto è quello di:

- Studiare il cambiamento della comunità fitoplanctonica del Nord Adriatico in risposta alle variazioni di alcuni parametri ambientali quali la temperatura, la radiazione luminosa ed i nutrienti tramite esperimenti di laboratorio.
- Parametrizzare gli effetti dei fattori ambientali su alcune comunità di fitoplancton tipiche del Nord Adriatico (*Skeletonema marinoi*, *Synechococcus elongatus*), tramite formule empiriche dedotte dal “best fit” dei dati di laboratorio.
- Simulare la dinamica dell’ecosistema marino costiero Nord-Adriatico con le nuove parametrizzazioni

La novità di questo studio è per lo più di tipo metodologico. Questo progetto si presenta infatti come un’attività congiunta, coordinata ed integrata, che presuppone l’utilizzo di misure di laboratorio per formulare la corretta rappresentazione di processi funzionali associati ai gruppi fitoplanctonici in un modello numerico di simulazione a biomassa. Lo scopo finale è quello di dimostrare il limite di validità di queste relazioni empiriche e il loro possibile miglioramento considerando le specificità delle comunità fitoplanctoniche della regione studiata e i modelli numerici.

Gli studi di laboratorio sul metabolismo e la fisiologia di singole specie fitoplanctoniche costituiscono un’importante fonte di informazione per lo sviluppo di modelli numerici che descrivono il funzionamento e la variabilità spazio-temporale dell’ecosistema marino.

Gli esperimenti con le colture algali sono stati pianificati in modo da poter consentire più accurate formulazioni modellistiche e relative parametrizzazioni con un modello numerico di ecosistema, chiamato Biogeochemical Flux Model (BFM). Tale modello usa una formulazione a Gruppi Chimici Funzionali dell’ecosistema marino ed aggrega il fitoplancton in Gruppi Funzionali. La messa a punto dei metodi di laboratorio adattati per la modellistica numerica costituisce un elemento di novità a livello nazionale e internazionale e un importante contributo alla

formulazione di una disciplina oceanografica realmente interdisciplinare. Inoltre l'accento posto da queste ricerche sul bacino nord Adriatico potrà fornire anche risultati di interesse ai fini delle problematiche di gestione sostenibile dell'ecosistema in questa area.

1.7 FASI DEL PROGETTO DI TESI

Il progetto si articola in tre fasi distinte:

1) Individuazione delle specie maggiormente caratterizzanti la comunità fitoplanctonica del Nord Adriatico

Questa prima fase riguarda uno studio bibliografico e la consultazione delle banche dati esistenti relativamente all'area di studio prescelta. Particolare attenzione è stata posta sulle specie fitoplanctoniche che possono causare fenomeni "estremi" e rilevanti per l'ambiente o l'uomo, quali fioriture massive o produzione di tossine.

2) Studio degli effetti delle variazioni dei parametri ambientali (luce, temperatura, nutrienti) sulla crescita delle specie algali scelte

Le alghe sono state fatte crescere in diverse condizioni di intensità luminosa, temperatura e concentrazione di nutrienti (azoto e fosforo), creando diverse combinazioni di tutti e tre i fattori abiotici, in modo da ricreare diverse situazioni possibili nell'ambiente costiero (compresi gli effetti di co-limitazione).

Sulle colture sono stati valutati parametri utili alla comprensione delle esigenze fisiologiche delle singole specie e alla costruzione di modelli numerici. Tali parametri sono la velocità di crescita delle colture (mediante conteggio al microscopio e fluorescenza della clorofilla), la misura dell'efficienza fotosintetica (tramite fluorimetria PAM) l'andamento della produzione in funzione dell'irradianza (curve P/I) (tramite fluorimetria PAM) e la misura del rapporto tra carbonio organico e clorofilla (mediante analisi chimiche).

3) Simulazioni numeriche con nuove parametrizzazioni dedotte dagli esperimenti di laboratorio

In questa parte del lavoro sono state esaminate diverse formule empiriche da utilizzare nel modello numerico di fitoplancton. Queste formule empiriche sono state poi utilizzate per effettuare simulazioni del tasso di crescita di carbonio e clorofilla nella biomassa fitoplanctonica in funzione delle diverse condizioni di temperatura, radiazione luminosa e nutrienti disciolti, confrontando i risultati numerici con quelli di laboratorio.

2 MATERIALI E METODI DI LABORATORIO

2.1 TERRENO DI COLTURA

Il terreno di coltura di base, utilizzato per la crescita dei ceppi algali, è il Medium f/2. Questo tipo di terreno è ampiamente utilizzato per fare crescere specie algali marine costiere, specialmente le diatomee. La concentrazione del terreno originale di partenza, chiamata Medium f (Guillard and Ryther, 1962), è stata ridotta della metà (Guillard, 1975). Inoltre il Medium f contiene sequestrene ferrico, che viene sostituito da $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Per ogni terreno si utilizza acqua di mare naturale filtrata, a cui vengono aggiunti, per ogni 995 ml, i seguenti componenti, che portano la soluzione finale ad un volume di 1 L.

Componenti	Concentrazioni [M]
NaNO_3	8.82×10^{-4}
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3.62×10^{-5}
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	1.06×10^{-4}
Metalli in traccia in soluzione	-
Vitamine in soluzione	-

Tab. 2.1 Composizione standard del terreno f/2

Metalli in traccia in soluzione madre	Concentrazioni [M]
FeCl ₃ * 6H ₂ O	1.17 x 10 ⁻⁵
Na ₂ EDTA * 2H ₂ O	1.17 x 10 ⁻⁵
MnCl ₂ * 4H ₂ O	9.10 x 10 ⁻⁷
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	7.65 x 10 ⁻⁸
CoCl ₂ * 6H ₂ O	4.20 x 10 ⁻⁸
CuSO ₄ * 5H ₂ O	3.93 x 10 ⁻⁸
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	2.60 x 10 ⁻⁸

Tab. 2.2 Metalli in traccia in soluzione presenti nel terreno di coltura

Vitamine in soluzione madre	Concentrazioni [M]
Diammina * HCl (vitamina B ₁)	2.96 x 10 ⁻⁷
Biotina (vitamina H)	2.05 x 10 ⁻⁹
Cyanocobalammina (vitamina B ₁₂)	3.69 x 10 ⁻¹⁰

Tab. 2.3 Vitamine in soluzione presenti nel terreno di coltura

I silicati vengono aggiunti al terreno di coltura solo nel caso in cui siano necessari al fabbisogno delle specie algali utilizzate, come nel nostro caso per la diatomea *Skeletonema marinoi*; la quantità aggiunta è pari a 105 µM/L. I terreni vengono sterilizzati mediante autoclave ad una pressione di 1atm a 120°C per 20 minuti.

Le modifiche effettuate al terreno per gli esperimenti hanno riguardato essenzialmente l'azoto e il fosforo. Sono state scelte delle concentrazioni

più basse di quelle tipiche del terreno per ricreare una condizione più vicina a quella del Mare Adriatico ed inoltre per tutte le condizioni scelte sono state allestite colture con un rapporto N/P di 16 (normale rapporto di Redfield) e di 110 (in carenza di fosforo).

2.2 COLTURE BATCH

La coltura viene avviata inoculando piccole quantità di microalghe in beute sterilizzate, contenenti 500 mL di terreno di coltura. Le beute vengono riposte nell'apposita camera termostatica settata ad una temperatura costante per tutta la durata dell'esperimento (10, 15, 20, o 25°C). La camera è provvista al suo interno di lampade fluorescenti, che differiscono per intensità luminosa in tre ripiani. La luce a cui sono sottoposte le colture è stata cambiata a seconda della temperatura scelta. Alle temperature più basse (10°C e 15°C), scelte come rappresentative, rispettivamente, della stagione invernale ed autunnale, l'intensità luminosa fissata per ciascun ripiano è: 30, 75 e 125 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Quando invece la camera termostatica viene posta alle temperature di 20 o 25°C, scelte come caratteristiche della stagione primaverile ed estiva, le intensità luminose scelte sono pari a: 125, 225 e 450 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Per ricreare il clima stagionale del nord Adriatico, anche il fotoperiodo differisce a seconda che ci si trovi nel periodo autunnale-invernale o primaverile-estivo. Il sistema di illuminazione infatti è dotato di un temporizzatore che è in grado di regolare automaticamente l'alternanza buio-luce. Più precisamente in autunno ed in inverno è stata fissata un'alternanza buio-luce di 12 ore, mentre in primavera ed in estate le ore di luce giornaliere sono state ampliate a 16, e quelle di buio sono state ridotte a 8.

Questa tecnica di coltura permette di seguire l'andamento della crescita algale dal giorno dell'inoculo fino al momento della raccolta, osservando tutte le fasi di accrescimento. Dopo una fase iniziale di adattamento delle cellule alle nuove condizioni di luce, temperatura e nutrienti, si verifica una fase esponenziale caratterizzata dalla massima velocità di crescita (fig. 2.1).

Nel nostro esperimento le alghe sono state raccolte nella tarda fase esponenziale, prima che l'esaurimento di nutrienti determinasse il rallentamento della crescita algale e l'entrata delle colture in fase stazionaria.

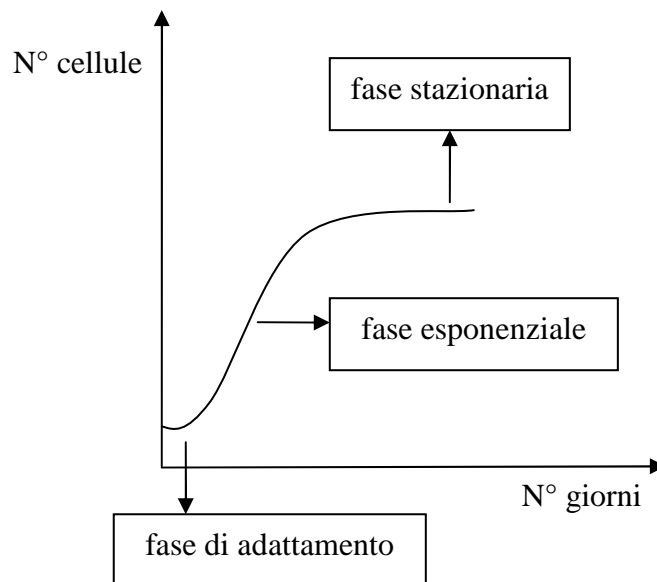


Fig. 2.1 Andamento della curva di crescita algale e fasi di crescita

Affinché le colture non vengano contaminate da batteri, protozoi ed eventualmente da altre specie algali si opera in qualsiasi momento del loro studio, quindi dalla preparazione dei terreni agli inoculi e in ogni momento in cui si debbano prelevare campioni o rinnovare colture, in perfetta sterilità sotto cappa a flusso laminare e sterilizzando i materiali che andranno a contatto con la coltura; la sterilizzazione viene eseguita in autoclave ad una pressione di 1 atm a 120°C per 20 minuti.

2.3 DISEGNO SPERIMENTALE

Per ricreare le possibili condizioni della zona costiera dell'Adriatico, sono stati effettuati 24 esperimenti, per ciascuna delle due specie algali scelte. In ognuno di essi le colture sono state mantenute in condizioni controllate, con valori costanti di temperatura ($^{\circ}\text{C}$), intensità luminosa ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentrazione di nutrienti disciolti (rapporto N/P). In ogni esperimento è presente una diversa combinazione dei tre fattori abiotici in modo da ricreare il ciclo stagionale presente nell'area di studio.

In tabella 2.4 riportiamo le cinque intensità luminose utilizzate negli esperimenti in $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e le rispettive conversioni in $\text{Watt m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Intensità luminosa	
($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\text{Watt m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
30	6.51
75	16.27
125	27.12
225	48.82
450	97.65

Tab. 2.4 intensità luminose in $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ utilizzate negli esperimenti di laboratorio e rispettive conversioni in $\text{Watt m}^{-2} \text{s}^{-1}$

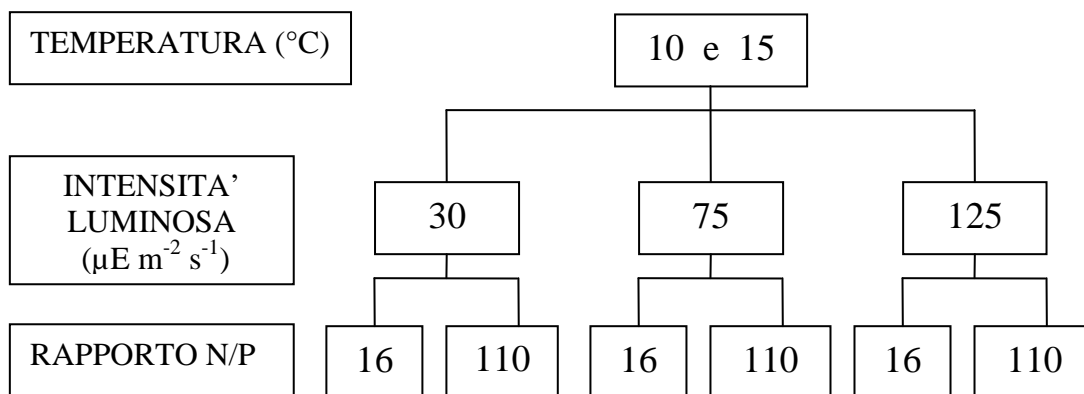


Fig. 2.2 Schema a blocchi degli esperimenti che riproducono le condizioni invernale ed autunnali del nord Adriatico, con i rispettivi valori relativi ai fattori abiotici esaminati: temperatura (in °C), intensità luminosa (in $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e nutrienti disciolti (rapporto N/P)

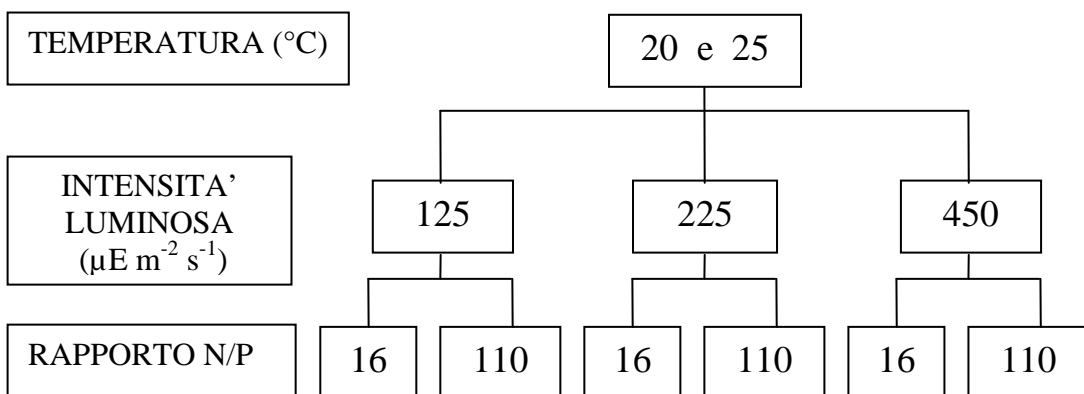


Fig. 2.3 Schema a blocchi degli esperimenti che riproducono le condizioni primaverili ed estive del nord Adriatico, con i rispettivi valori relativi ai fattori abiotici esaminati: temperatura (in °C), intensità luminosa (in $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e nutrienti disciolti (rapporto N/P)

2.4 VALUTAZIONE DELLA CRESCITA ALGALE E CURVE DI CRESCITA

La valutazione della crescita algale è stata effettuata attraverso due diversi metodi, il metodo della fluorescenza e quello del conteggio. Entrambi sono stati utilizzati, in tutti gli esperimenti, per creare le curve di crescita delle due specie studiate. Infatti mettendo in relazione la fluorescenza, o il numero di cellule, con il tempo si ottiene una curva di crescita (fig. 2.4) in cui è di solito possibile identificare le varie fasi di accrescimento (fase lag, esponenziale e stazionaria) e da cui è possibile ricavare la velocità di crescita specifica delle colture esaminate.

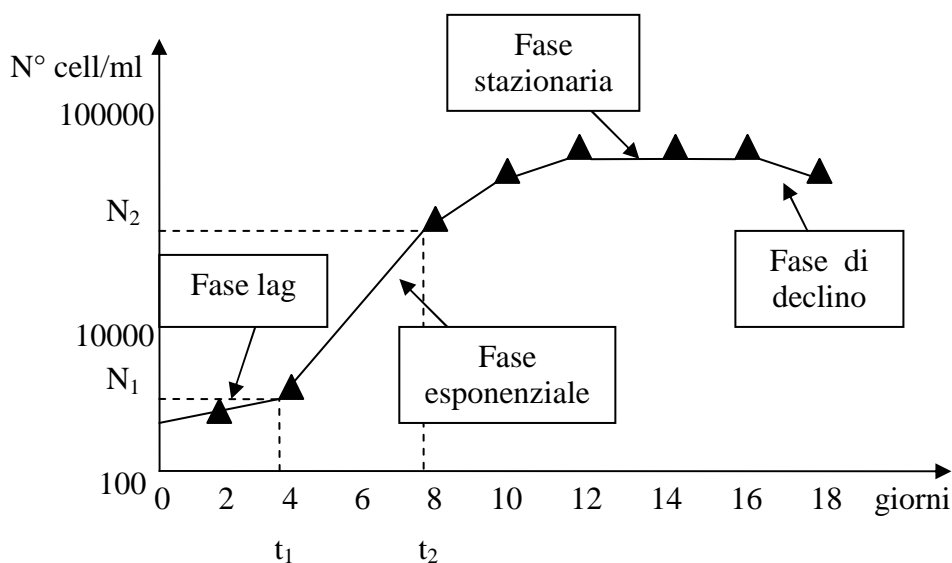


Fig. 2.4 Andamento della crescita fitoplanctonica. Il numero di cellule per millilitro, stimato con il conteggio, viene messo in relazione con il tempo di crescita in giorni

La curva di crescita può essere descritta dall'equazione:

$$\frac{dN}{dt} = kN \quad (2.1)$$

E' possibile calcolare la velocità di crescita specifica prendendo due punti della curva di crescita durante la fase esponenziale, quando la curva mostra la massima pendenza. I due valori di N scelti, N_1 e N_2 , corrispondono sull'asse delle ascisse al tempo misurato in giorni, rispettivamente t_1 e t_2 , e sull'asse delle ordinate al numero di cellule su millilitri di coltura filtrati (fig. 2.4). Il tasso di crescita, μ , può essere misurato applicando la seguente formula:

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{N_2}{N_1}\right)}{t_2 - t_1} \quad (2.2)$$

2.4.1 METODO DELLA FLUORESCENZA

L'analisi della fluorescenza è stata eseguita dal giorno zero (giorno di partenza dell'esperimento), in cui si inocula una quantità nota di cellule, fino alla tarda fase esponenziale, che corrisponde al giorno di raccolta. L'uso di fluorimetri non solo offre una stima della concentrazione dei pigmenti fotosintetici senza dover procedere con metodi estrattivi, ma rende possibile anche un rilevamento in tempo reale della biomassa autotrofa. I massimi spettrali di eccitazione e di emissione della fluorescenza della clorofilla a sono generalmente indicati come 432 ± 4 nm e 680 ± 2 nm; in particolare in questo studio è stato utilizzato uno spettrofluorimetro FP 6200 Jasco e sono stati fissati come massimo spettrale di eccitazione 432 nm e come massimo spettrale di emissione 678 nm.

2.4.2 METODO DEL CONTEGGIO

Uno dei metodi più semplici per stimare la biomassa algale è quello di contare le cellule presenti in un determinato volume d'acqua. Il conteggio è stato effettuato, circa ogni due giorni, per tutta la durata dell'esperimento. Viene prelevata dalle colture un'aliquota di 1 ml, posto in un apposito pozzetto circolare. Per fare sedimentare il campione, così da garantire un conteggio più accurato, vengono aggiunte due gocce di un particolare fissante a base di iodio-ioduro, il LUGOL; questo fa sì che le cellule in sospensione si depositino sul fondo del pozzetto. Il conteggio è effettuato dopo circa 30 minuti, grazie ad un microscopio ottico con un ingrandimento 32X dotato di reticolo. Le cellule algali presenti nel campione vengono contate per campi lungo i due diametri principali del pozzetto, con una media di circa 20 campi per ogni diametro (fig. 2.5).

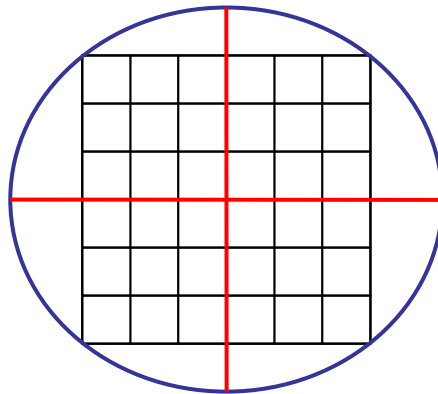


Fig. 2.5 Pozzetto circolare, con un'area pari a $452,16 \text{ mm}^2$ (in blu); in rosso sono stati tracciati i due diametri principali; all'interno del pozzetto è rappresentato il reticolo (in nero), con un'area pari a $452,16 \text{ mm}^2$

L'area del reticolo è di $0,096 \text{ mm}^2$, mentre l'area del fondo del pozzetto equivale a $452,16 \text{ mm}^2$. Dividendo l'area del pozzetto per l'area del reticolo, si ottiene un fattore di conversione pari a 4710, che deve essere moltiplicato per la media del numero di cellule contato nel campione.

$$\frac{\sum N^{\circ}cell}{N^{\circ}campi} * 4710 = N^{\circ}cell / ml \quad (2.3)$$

In questo modo si ottiene il numero di cellule per millilitro, presente nel campione in esame. Ripetendo questa procedura dal giorno zero fino al giorno di raccolta della coltura, e mettendo in relazione il numero di cellule per millilitro con il tempo, si ottengono le curve di crescita (fig. 2.4).

2.5 ANALISI DEL CARBONIO

La stima del carbonio è stata effettuata in maniera indiretta sottraendo al peso secco il peso delle ceneri. Inoltre una stima più precisa della sostanza organica, mediante CHN, è stata condotta dal CNR di Bologna. Le analisi del carbonio sono state fatte, per ogni esperimento, nel giorno di raccolta, che equivale alla tarda fase esponenziale. Dal valore puntiforme della sostanza organica netta, ottenuto sia con la misurazione del peso secco e delle ceneri sia con il CHN, e grazie al conteggio del numero di cellule è stato ricavato il quantitativo di carbonio per cellula (in mg/L) nel giorno di raccolta, e conseguentemente la concentrazione di carbonio negli altri giorni in cui è stato effettuato il conteggio (anch'essa in mg/L). E' stato così possibile visualizzare delle curve di crescita non solo in base alla fluorescenza e al numero di cellule, ma anche in base al quantitativo di carbonio.

2.5.1 METODO DEL PESO SECCO

La biomassa secca è stata misurata, in doppia replica, filtrando sotto vuoto l'acqua di coltura nel giorno di raccolta. Per la filtrazione sono stati utilizzati filtri calcinati GF/F Whatman in microfibrina di vetro con un diametro di 47 mm, che vengono precedentemente pesati con una bilancia elettronica. E' stata prelevata e filtrata una diversa aliquota di acqua di

coltura a seconda delle due specie studiate: 100 ml per *Skeletonema marinoi*, e 150 ml per *Synechococcus elongatus*, essendo questo di dimensioni minori. Dopo la filtrazione il campione viene lavato, per eliminare il sale, con 20 ml di formiato di ammonio ed è poi lasciato in stufa per 24 ore a 60°C. L'esposizione ad una temperatura non troppo elevata permette di disidratare il campione evitando l'eventuale perdita di composti volatili. Il filtro viene posto nell'essiccatore e pesato ogni 30 minuti. Per ogni campione sono state fatte due pesate; la misura del peso finale del campione si ottiene quindi facendo una media delle di quest'ultime. Sottraendo infine al peso finale del campione il peso originale del filtro, e dividendo per i litri di acqua di coltura filtrati, si ottiene il peso della biomassa secca in mg/l.

$$\text{peso secco} = \frac{m}{k} \quad (2.4)$$

Dove m è la media delle due pesate in mg, e k corrisponde ai millilitri di acqua di coltura filtrati.

2.5.2 METODO DELLE CENERI

Il filtro precedentemente utilizzato per calcolare il peso secco viene messo in muffola ad una temperatura di 450°C per quattro ore. Dopo che il campione si è raffreddato a temperatura ambiente, viene posto in un essiccatore sotto vuoto per 30 minuti. Si effettua quindi la prima pesatura, mediante bilancia elettronica. Il filtro è rimesso nell'essiccatore per altri 30 minuti e ripeso nuovamente. Il peso delle ceneri equivale alla media delle due pesate effettuate. La materia organica totale è stata determinata sottraendo al peso secco dei campioni (m), precedentemente trovato, il peso delle ceneri degli stessi (t), e dividendo per i millilitri di acqua di coltura filtrati (k). Si ottiene così, mediante una misurazione indiretta, il peso netto della sostanza organica.

$$\text{peso netto} = \frac{m-t}{k} \quad (2.5)$$

2.5.3 METODO DEL CHN

Sono stati preparati i campioni per la misurazione del carbonio, mediante CHN. Si è prelevata un' aliquota di 50 ml in entrambe le colture algali, conseguentemente filtrata sotto vuoto con filtri GF/F calcinati con un diametro di 25 mm. I campioni vengono seccati in stufa per 24 ore a 60°C. Infine i campioni, avvolti in carta stagnola, sono conservati in freezer a -20°C in attesa di effettuare l'analisi.

2.6 ANALISI DELLA CLOROFILLA

Sono prelevati 100 ml di acqua di coltura, per entrambe le specie algali studiate, e filtrati sotto vuoto, attraverso un filtro Ha Millipore di cellulosa da 0,45 µm con un diametro di 47 mm, per raccogliere l'alga. Dopo la preparazione i campioni vengono conservati, avvolti in carta stagnola, a -20°C per un tempo non superiore ad una settimana. Per effettuare l'analisi è necessaria una soluzione di acetone al 90%, che si ottiene mescolando una piccola dose di Na₂CO₃ anidro all'acetone puro. Si agita vigorosamente la beuta e si lascia decantare finché tutto il carbonato si deposita sul fondo e la soluzione diventa limpida; a questo punto si filtra il solvente con carta da filtro, si pone in un cilindro graduato e lo si diluisce con acqua distillata (10%), così da ottenere la soluzione di acetone al 90%. Dopo questa fase di preparazione si può procedere all'analisi della clorofilla. Il filtro, precedentemente congelato, viene posto in una provetta con 10 ml di soluzione acetonica al 90%; la provetta viene agitata vigorosamente su vortex per ottenere la completa dissoluzione del filtro. Il campione viene incubato al buio per 20 ore a 4°C e dopo la prima ora è agitato una seconda volta con vortex. Al termine del periodo di incubazione il campione va acclimatato al buio a temperatura ambiente per 15 minuti. Si aggiungono

altri 5 ml di soluzione acetonica al 90% e si agita nuovamente. A questo punto i campioni vengono centrifugati a 3000 pm per 10 minuti ad una temperatura di 20°C, al termine vengono tenuti i sopranatanti. Si procede con l'analisi utilizzando uno spettrofotometro UV/VIS Jasco 7800. Si riempiono due cuvette con la soluzione acetonica al 90% e si effettua l'auto-zero, alle lunghezze d'onda di 665 nm e 750 nm, per la misura del bianco (b); a questo punto riempiendo la cuvetta anteriore con il campione (c) si effettuano le due letture a 665 nm e a 750 nm rispetto al bianco. La concentrazione di clorofilla a, espressa in mg/m³, viene infine calcolata con la seguente formula:

$$Chla = 11.9 * ABS_{665} * \frac{V}{V_f * L} \quad (2.6)$$

Dove ABS_{665} è l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 665 nm, la variabile V rappresenta i millilitri di soluzione acetonica (15 ml), V_f è il volume di acqua di coltura filtrato, espresso in litri (100 ml = 0,1 L), e L è il cammino ottico della cuvetta (nel nostro caso = 1 cm).

Nella formula precedente ABS_{665} viene calcolato come:

$$ABS_{665} = (ABS_{665}^c - ABS_{665}^b) - (ABS_{750}^c - ABS_{750}^b) \quad (2.7)$$

Dove c corrisponde al campione esaminato e b al bianco con cui viene effettuato l'auto-zero.

2.7 MISURA DELL'ATTIVITA' FOTOSINTETICA

L'energia assorbita dalla clorofilla può avere tre diversi destini:

- può essere usata per la fotosintesi (fotochimica);
- può essere dissipata come calore;
- può essere riemessa come fotoni di lunghezza d'onda più alta (fluorescenza).

Questi tre processi avvengono in competizione per cui l'aumento di uno porta alla diminuzione degli altri due, pertanto la fluorescenza, proveniente soprattutto dal fotosistema II (PS II) può dare informazioni sull'efficienza della fotochimica. Il principio della misura della fluorescenza si basa sull'osservazione, fatta da Kautsky nel 1930, che le alghe, in seguito ad una leggera illuminazione, mostrano un aumento di fluorescenza da zero ad un livello basso costante, chiamato F_0 . Se l'illuminazione è abbastanza forte la fluorescenza aumenta da F_0 ad un livello massimo, chiamato F_m . La differenza tra F_m e F_0 è rappresentata dalla fluorescenza variabile, F_v . Il fluorimetro PAM (PDA-100, Walz) ha la particolarità di emettere la luce necessaria per misurare la fluorescenza in maniera modulata, cioè accesa e spenta ad elevata frequenza ed il detector è in grado di ricevere solo la fluorescenza stimolata da tale luce. Questo permette di misurare la fluorescenza anche in ambienti con la luce di sfondo e di eseguire misure anche in campo. Con il metodo degli impulsi saturanti è necessario adattare il campione (prelevandone circa 3 ml) al buio per 20 minuti circa, trascorsi i quali la sospensione algale viene posta in una cuvetta e inserita nel fluorimetro. Inizialmente il campione viene illuminato con un raggio di luce (MB) che non è sufficiente a stimolare la fotosintesi ma può promuovere un segnale di fluorescenza. Nel campione adattato al buio la fluorescenza che si ottiene è il livello minimo di fluorescenza (F_0) che si ha quando tutti i centri di reazione sono "aperti", quindi disponibili per la fotosintesi. In seguito viene dato un flash di luce ad alta intensità (luce saturante, SP di circa $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); questo riduce tutti gli accettori del PSII (QA) e la fluorescenza raggiunge il valore massimo (F_m) che si ottiene in assenza di fotochimica.

Da questa misura è possibile ottenere il rendimento quantico massimo ovvero:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad (2.8)$$

che si ha quando tutti i centri di reazione sono aperti e disponibili per la fotosintesi. Per valutare lo stato della coltura in esame si valuta il valore iniziale dato dal rapporto $\frac{F_m - F_0}{F_m}$ (yield); il valore ottenuto può variare a seconda dello stato fisiologico delle cellule. Un valore attorno a 0,600 – 0,700 indica che la coltura è in buone condizioni mentre una diminuzione indica uno stato di sofferenza.

Questi dati sono stati ottenuti dai ricercatori del laboratorio di biologia e fisiologia algale del CIRSA e sono stati utilizzati nel presente studio per calcolare le curve P-E (tasso fotosintetico (P)-intensità luminosa (E)) (fig. 1.3), da cui è stato dedotta la pendenza della curva (α) nella sua parte lineare secondo l'equazione:

$$\alpha = \frac{ETR}{PAR} \quad (2.9)$$

dove ETR è il tasso di trasporto elettronico relativo ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e PAR corrisponde radiazione disponibile per effettuare la fotosintesi ($\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

L'intensità luminosa a cui avviene la saturazione (E_k), è stata misurata per ogni esperimento mediante il rapporto tra il massimo tasso foto sintetico (P_{\max}) e la pendenza della curva (α).

$$E_k = \frac{P_{\max}}{\alpha} \quad (2.10)$$

2.8 ANALISI DEI NUTRIENTI

Le analisi dei nutrienti (fosfati e nitrati) vengono effettuate sull'acqua di coltura filtrata con i filtri utilizzati per le analisi del peso secco e della clorofilla, e raccolta in bottiglie di plastica con capacità di 500 ml, precedentemente lavate con acido cloridrico. Le concentrazioni di fosfati e nitrati, stimate mediante queste analisi, risalgono quindi esclusivamente al giorno di raccolta delle colture. Per avere un confronto sulle concentrazioni iniziali di nutrienti, sono state effettuate le stesse analisi anche sui terreni di partenza, filtrati con filtri Ha 0.45 μm , in cui è stata inoculata la coltura. Questi dati si sono rivelati utili al fine di comprendere il quantitativo effettivo di nutrienti, necessario a soddisfare il fabbisogno delle cellule a determinate condizioni di luce e temperatura. Infatti a seconda dei valori assegnati a questi due parametri ambientali si è verificata una diversa assunzione di nitrati e fosfati.

2.8.1 ANALISI DEI FOSFATI

Vengono posti in cilindri graduati 50 ml di: acqua distillata (bianco), acqua di mare al 35‰ con la quale sono stati inizialmente preparati i terreni, acqua di coltura dei terreni sui quali verrà effettuata l'analisi dei fosfati. Entrambi i terreni di partenza sono stati diluiti, a causa dell'eccessiva concentrazione di fosfati che altrimenti non permetterebbe la misurazione spettrofotometrica. In particolare il terreno con il rapporto di nutrienti pari a 16 è diluito con acqua distillata al 50%, mentre il terreno con N/P pari a 110 è diluito al 10%. I campioni dell'acqua di mare e dell'acqua di coltura sono invece stati analizzati tal quale. Viene preparato un reattivo misto, contenente molibdato ammonico, acido solforico, acido ascorbico e tartrato di potassio e antimonite. I campioni vengono fatti reagire con il reattivo misto, aggiungendo 5 ml di quest'ultimo in ogni cilindro, che vengono infine sigillati con parafilm e agitati vigorosamente. Dopo 10 minuti la reazione tra l'acqua e il reattivo misto fa sì che il campione assuma una colorazione blu, che varia in intensità a seconda della concentrazione di fosfati presenti. Più

è alta la concentrazione di fosfati, più la colorazione della soluzione tenderà al blu. Si procede con l'analisi utilizzando uno spettrofotometro UV/VIS Jasco 7800, ad una lunghezza d'onda di 885 nm. Si riempiono entrambe le cuvette con il campione contenente acqua distillata e si effettua l'autozero. Successivamente viene posto nella cuvetta anteriore il campione di acqua di mare al 35%. Il valore risultante da questa lettura, che corrisponde alla concentrazione di fosfati presente nell'acqua di mare, verrà alla fine sottratto alle concentrazioni ottenute per l'acqua di coltura e per i terreni. Si procede riempiendo la cuvetta anteriore con l'acqua di coltura ed effettuando la lettura a 885 nm. Infine si conclude l'analisi mettendo nella medesima cuvetta il terreno e facendo la relativa lettura spettrofotometrica. Infine sottraendo al valore ottenuto per i terreni, che equivale alla concentrazione di fosfati presente al giorno zero, la concentrazione presente nell'acqua di coltura, cioè nel giorno di raccolta, si ottiene il quantitativo effettivo di fosfati utilizzato dalle cellule durante la fase di crescita.

2.8.2 ANALISI DEI NITRATI

Come per l'analisi dei fosfati, vengono posti in cilindri graduati l'acqua di coltura e i due terreni diluiti con acqua distillata, pari ad un quantitativo totale di 30 ml. A seconda delle due specie algali studiate è stata fatta una diversa diluizione, che è però uguale per quanto riguarda l'acqua di coltura e i terreni di una stessa specie. I campioni relativi a *Skeletonema marinoi* sono stati diluiti 10 volte, mentre l'acqua di coltura e i terreni di *Synechococcus elongatus* sono stati diluiti 6 volte.

L'analisi dei nitrati è stata svolta con il metodo della riduzione con cadmio (Strickland and Parson, 1972), mediante il kit Permachem reagents (HACH), che contiene i reagenti già ripartiti nelle dosi necessarie per lo svolgimento della reazione e suddivisi in due preparati (NitraVer 6 e NitraVer 3). Viene aggiunto al campione da analizzare il primo preparato contenente cadmio metallico ramato (NitraVer 6); il cilindro è subito sigillato con parafilm e agitato per 3 minuti. Dopo due minuti la reazione è avvenuta, il cadmio, che a fine reazione si deposita sul fondo del cilindro, ha

ridotto il nitrato a nitrito. Il contenuto del cilindro viene versato nell'apposita cuvetta da 25 ml, facendo attenzione a non risospendere in soluzione il cadmio. Alla cuvetta viene aggiunta una soluzione di Solfanilammide (SA) e di Naftilendiammina (NEDA) (contenuti nel secondo preparato, NitraVer 3), che danno la colorazione al campione. La cuvetta infine viene chiusa con parafilm e agitata vigorosamente. Dopo 10 minuti la soluzione si colora di rosa, tanto intenso quanto più nitrati sono presenti nel campione analizzato, come si può vedere in figura 2.6. Per tarare lo strumento, vengono aggiunti in una seconda cuvetta 25 ml di campione, anch'esso diluito come il precedente. Questo è il bianco su cui verrà fatta la prima lettura spettrofotometrica a 543 nm. Infine si misura per via spettrofotometrica l'assorbanza del campione in tre repliche.



Fig. 2.6 Analisi dei nutrienti in un campione di acqua di coltura di *Synechococcus elongatus* (a sinistra), medesima analisi sul terreno della stessa coltura (a destra)

3 MATERIALI E METODI

MODELLISTICI

3.1 IL MODELLO DI ECOSISTEMA

I modelli numerici di ecosistema basati sul calcolo delle biomasse (Baretta et al., 2005; Vichi et al., 2006), descrivono la dinamica e la struttura di comunità pelagiche e bentiche in funzione della biologia e fisiologia degli organismi che costituiscono la comunità, delle relazioni ecologiche e biogeochimiche fra le comunità e della variabilità ambientale. In tali modelli la biomassa del gruppo funzionale che rappresenta una comunità è rappresentata in termini di elementi chimici di base (contenuto totale di fosforo, azoto, carbonio, clorofilla). I processi di produzione primaria e secondaria sono descritti da formule empiriche che parametrizzano il tasso netto di crescita di una specifica variabile di stato in funzione di fattori ambientali quali luce, temperatura, disponibilità di sali nutritivi, substrato organico, preda. Nel caso specifico del fitoplancton, le formule empiriche e le loro parametrizzazioni sono in genere dedotte da esperienze controllate di laboratorio condotte su singole specie. In questo lavoro questa metodologia è stata applicata a specie fitoplanctoniche comunemente presenti nel Mar Adriatico al fine di verificare e aggiornare le formule empiriche sopradette.

Il modello numerico a biomassa che è stato utilizzato è il *Biogeochemical Flux Model* (BFM), un'evoluzione dello *European Regional Seas Ecosystem* (ERSEM) (Baretta et al., 1995; Zavatarelli et al., 2000; Vichi et al., 1998; Blackford et al., 2005), attualmente è implementato nel Mar Adriatico in accoppiamento con un modello di circolazione generale avente una risoluzione spaziale di 5 Km (Polimene et al., 2006).

La componente pelagica del BFM (fig. 3.1) descrive l'ecosistema pelagico in termini di processi biogeochimici che regolano i flussi di carbonio, azoto, fosforo, silicio e ossigeno fra i livelli trofici inferiori dell'ecosistema marino, raggruppati nei principali gruppi funzionali (fitoplancton, batteri, micro e mesozooplancton), ulteriormente suddivisi in gruppi funzionali specifici (nel

caso del fitoplancton, ad esempio, il modello risolve le diatomee, i nanoflagellati, il picofitoplancton ed i dinoflagellati).

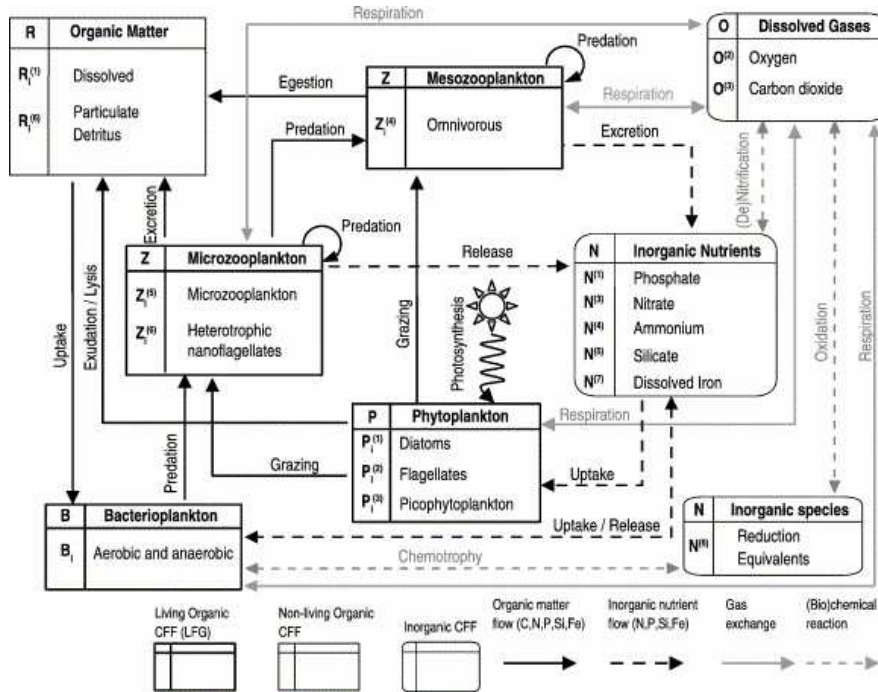


Fig. 3.1 Schema delle variabili di stato e delle interazioni tra le diverse componenti del modello biogeochimico. Da Vichi et al., (2005)

Nel BFM quindi possiamo distinguere, come elementi fondamentali che definiscono la struttura del modello, le famiglie chimiche funzionali (Chemical Functional Families, CFF) ed i gruppi viventi funzionali (Living Functional Group LFG), come definito in Vichi et al. (2005). Le CFF (fig. 3.2) sono suddivise in 3 sottogruppi: inorganico, non-vivente organico e vivente organico, e sono costituite da un composto specifico (ad esempio i sali nutritivi o la clorofilla), oppure dalla quantità di un certo elemento biogeochimico (C, N, P, Si) contenuto in una componente maggiormente complessa (vivente o non vivente) di uno specifico ciclo biogeochimico marino (come ad esempio il contenuto di carbonio nel fitoplancton e nei batteri, oppure il contenuto di azoto nel detrito particolato organico).

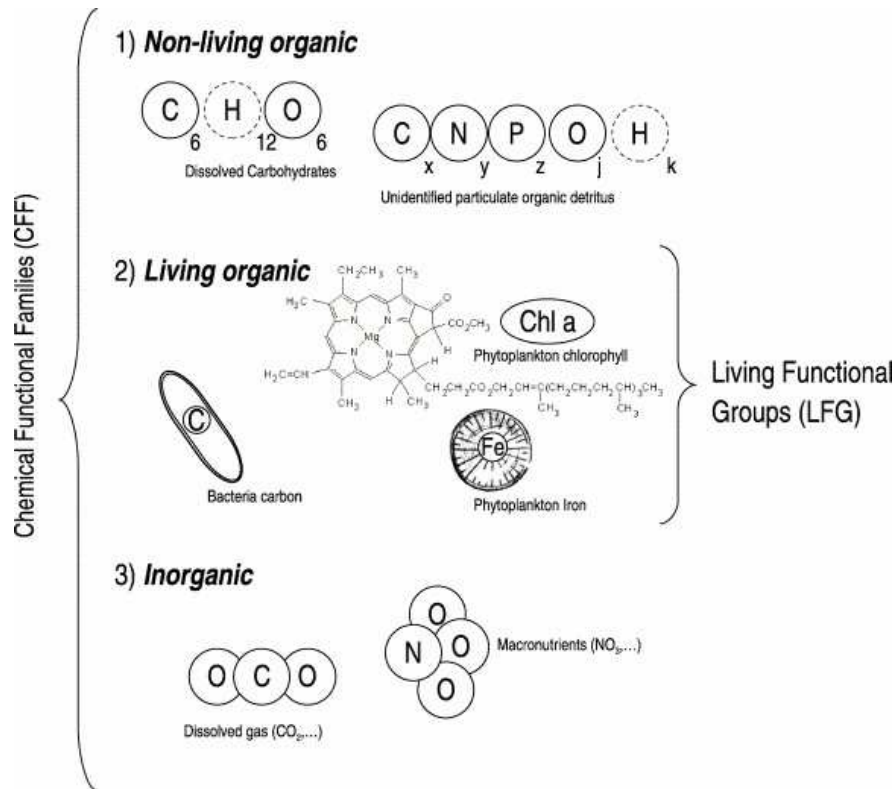


Fig. 3.2 Schema delle diverse famiglie chimiche funzionali (CFF) espresse in termini di elementi biogeochimici. Le CFF viventi organiche sono la base dei gruppi viventi funzionali (LFG). Da Vichi et al., (2005)

Per descrivere il biota vengono definiti tre diverse LFG: produttori (fitoplancton), consumatori (zooplancton) e decompositori (batteri). Le dinamiche di questi gruppi funzionali sono descritte da processi di popolazione (crescita, migrazione, morte), e fisiologici (fotosintesi, ingestione, respirazione, escrezione, egestione). La struttura generica di ciascuna LFG è riconducibile al prototipo di un organismo standard rappresentato in figura 3.3.

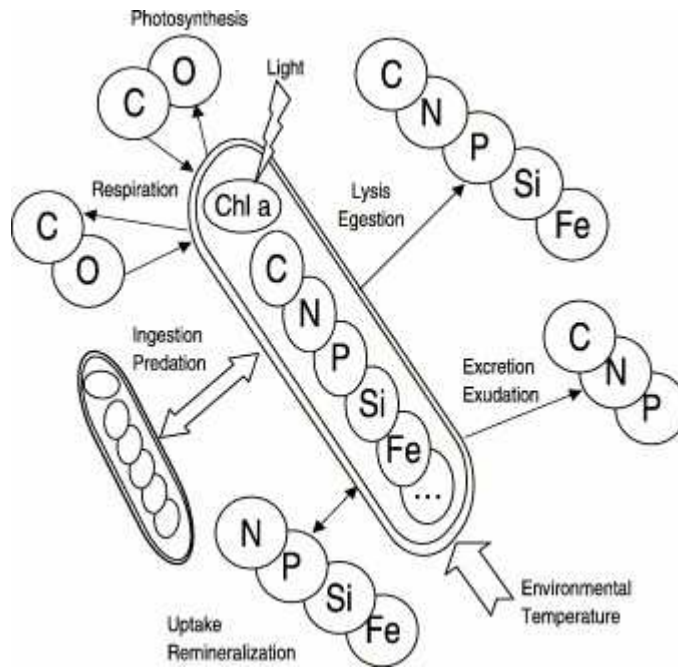


Fig. 3.3 Schema di un organismo standard, che è il prototipo di ogni gruppo vivente funzionale (LFG), e delle relazioni trofiche e fisiologiche con le famiglie chimiche funzionali (CFF). Da Vichi et al., (2005)

Quest'ultimo, la cui biomassa totale è composta dalle CFF viventi organiche, interagisce con le altre famiglie chimiche funzionali, viventi e non viventi, (tab. 3.1) attraverso i processi fisiologici ed ecologici sopra citati:

$$\frac{dP}{dt} = \text{crescita} - \text{essudazione} - \text{lisi} - \text{respirazione} - \text{predazione} \quad (3.1)$$

$$\frac{dZ}{dt} = \text{ingestione} - \text{egestione} - \text{lisi} - \text{respirazione} - \text{predazione} \quad (3.2)$$

$$\frac{dB}{dt} = \text{crescita} - \text{remineralizzazione} - \text{lisi} - \text{respirazione} - \text{predazione} \quad (3.3)$$

P = fitoplancton, Z = zooplankton, B = batteri

Variabili	CFF	Componenti	Descrizione
$N^{(1)}$	IO	P	Fosfato (mmol P m ⁻³)
$N^{(3)}$	IO	N	Nitrato (mmol N m ⁻³)
$N^{(4)}$	IO	N	Ammonio (mmol N m ⁻³)
$O^{(2)}$	IO	O	Ossigeno disciolto (mmol O ₂ m ⁻³)
$O^{(3)}$	IO	C	Anidride carbonica (mg C m ⁻³)
$P_i^{(1)}$	LO	C, N, P, Si, Chl	Diatomee (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$P_i^{(2)}$	LO	C, N, P, Chl	Flagellati (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$P_i^{(3)}$	LO	C, N, P, Chl	Picofitoplancton (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
B_i	LO	C, N, P	Batteri pelagici (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$Z_i^{(4)}$	LO	C, N, P	Mesozooplancton onnivoro (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$Z_i^{(5)}$	LO	C, N, P	Microzooplancton (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$Z_i^{(6)}$	LO	C, N, P	Flagellati eterotrofi (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$R_i^{(1)}$	NO	C, N, P	Detrito organico disciolto (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , Mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)
$R_i^{(6)}$	NO	C, N, P, Si	Detrito organico particolato (mg C m ⁻³ , mmol N-P-Si m ⁻³ , mg Chl- <i>a</i> m ⁻³)

Tab. 3.1 Famiglie chimiche funzionali (Chemical Functional Family CFF) delle variabili di stato, descritte nelle equazioni del modello pelagico.

Legenda: IO = componenti inorganici ; LO = componenti organici viventi;
NO = componenti organici non viventi.

Inoltre può essere definito da una equazione differenziale ordinaria del tipo:

$$\left. \frac{\partial C}{\partial t} \right|_{bio} = \sum_{i=1,n} \sum_{j=1,m} \left. \frac{\partial C}{\partial t} \right|_{V_i}^{e_i} \quad (3.4)$$

Dove al secondo membro sono definiti tutti i processi che descrivono la dinamica di ciascuna CFF. Gli apici e_i sono le abbreviazioni (tab. 3.2) che indicano i processi, il pedice V_i indica la variabile di stato coinvolta in uno specifico processo.

e_i	Descrizione
gpp	Produzione primaria lorda
rsp	Respirazione
prd	Predazione
rel	egestione, escrezione
exu	Esudazione
lys	Lisi
syn	Sintesi biochimica
nit/denit	Nitrificazione, denitrificazione
scv	Scavenging
rmn	Remineralizzazione biochimica
upt	Uptake

Tab. 3.2 Lista delle abbreviazioni utilizzate per indicare i processi fisiologici ed ecologici

In questo studio è stata presa in considerazione solamente la componente fitoplanctonica e in particolare i LFG che rappresentano le diatomee ed il picofitoplancton:

- LFG “Diatomee” $(P_i^{(1)})$

Eucarioti unicellulari racchiusi da un frustolo siliceo, con dimensioni comprese nell’intervallo 20-200 μm .

- LFG “Picofitoplancton” $(P_i^{(3)})$

Organismi procarioti generalmente indicati come batteri autotrofi come *Prochlorococcus* e *Synechococcus*, con dimensioni comprese nell’intervallo 0.2-2 μm .

Con il modello pelagico sono state riprodotte le stesse condizioni di temperatura, intensità luminosa e concentrazione di nutrienti disciolti utilizzate per le colture di laboratorio condotte su *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus*.

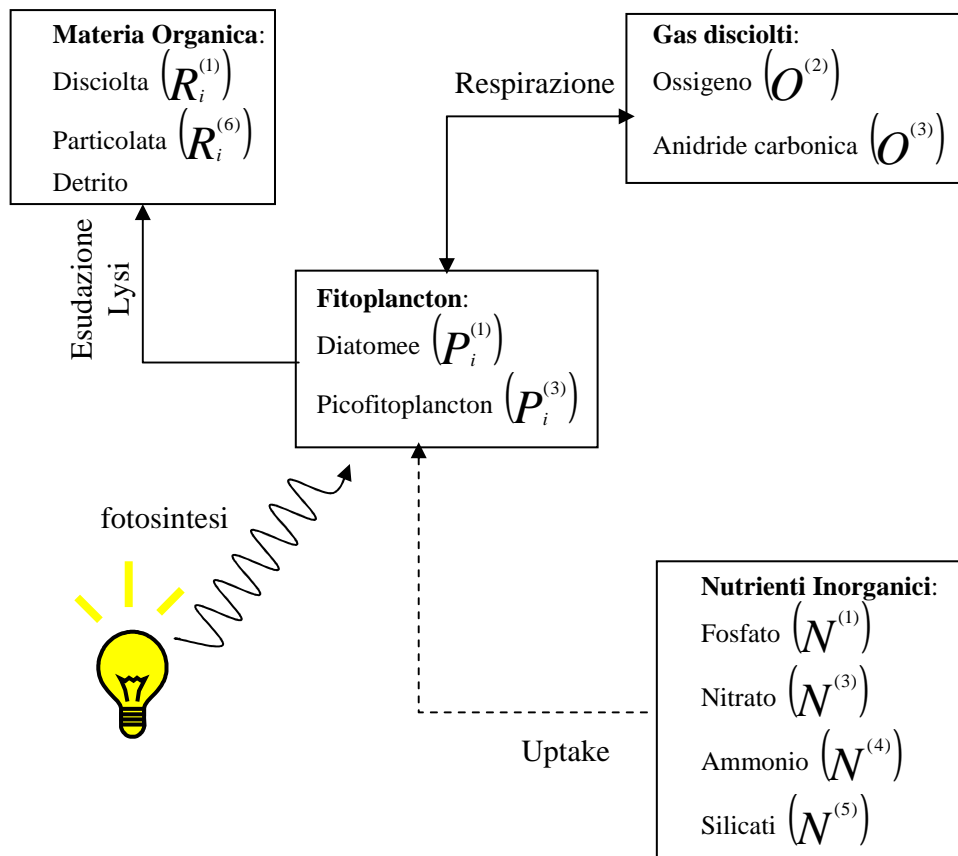


Fig. 3.4 Schema delle variabili di stato e delle interazioni tra alcune componenti del modello biogeochimico, utilizzate nel presente progetto.

La limitazione allo studio di un solo gruppo funzionale fitoplanctonico ha determinato ovviamente una semplificazione della struttura del modello che viene descritta in fig. 3.4.

Nelle equazioni che descrivono la dinamica del fitoplancton non sono quindi state considerate le relazioni trofiche con gli altri LFG, come, ad esempio, la predazione ad opera dello zooplancton. Inoltre, avendo esaminato in ogni esperimento un solo gruppo fitoplanctonico alla volta, è stata, ovviamente, esclusa anche la competizione tra le due specie studiate per le risorse.

Pertanto le equazioni che descrivono la dinamica del fitoplancton, relativamente alle CFF sono le seguenti:

$$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{bio} = \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{O^{(3)}}^{gpp} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{R_c^2}^{exu} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{O^3}^{rsp} - \sum_{j=1,6} \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{R_c^{(j)}}^{lys} \quad (3.5)$$

$$\left. \frac{\partial P_n}{\partial t} \right|_{bio} = \sum_{i=3,4} \left. \frac{\partial P_n}{\partial t} \right|_{N_n^{(i)}}^{upt} - \sum_{j=1,6} \left. \frac{\partial P_n}{\partial t} \right|_{R_n^{(j)}}^{lys} \quad (3.6)$$

$$\left. \frac{\partial P_p}{\partial t} \right|_{bio} = \left. \frac{\partial P_p}{\partial t} \right|_{N_p^{(1)}}^{upt} - \sum_{j=1,6} \left. \frac{\partial P_p}{\partial t} \right|_{R_p^{(j)}}^{lys} \quad (3.7)$$

$$\left. \frac{\partial P_s}{\partial t} \right|_{bio} = \left. \frac{\partial P_s}{\partial t} \right|_{N_s^{(5)}}^{upt} - \left. \frac{\partial P_s}{\partial t} \right|_{R_s^{(6)}}^{lys} \quad (3.8)$$

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{bio} = \left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|^{syn} \quad (3.9)$$

$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{bio}$ descrive il tasso di cambiamento nell'unità di tempo del contenuto in

carbonio del fitoplancton. Allo stesso modo $\left. \frac{\partial P_n}{\partial t} \right|_{bio}$, $\left. \frac{\partial P_p}{\partial t} \right|_{bio}$, $\left. \frac{\partial P_s}{\partial t} \right|_{bio}$, $\left. \frac{\partial P_f}{\partial t} \right|_{bio}$,

$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{bio}$, rappresentano rispettivamente i tassi di cambiamento, all'interno del

fitoplancton, nell'unità di tempo di azoto, fosforo, silicio, ferro e clorofilla.

Inoltre, per convenienza, si definisce l'equazione:

$$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{loss} = \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{exu} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{resp} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{lys} \quad (3.10)$$

che raggruppa i termini di perdita di carbonio dovuti ai processi di essudazione, respirazione e lisi.

Qui di seguito vengono descritte le equazioni per ciascuno dei termini al secondo membro delle equazioni 3.5 e 3.9, che descrivono la dinamica del carbonio e della clorofilla nel fitoplancton. Le costanti utilizzate sono riportate in tab. 3.3

Simboli	<i>Skeletonema</i>	<i>Synechococcus</i>	Descrizione
r_{0_P}	2.5	3.0	Tasso massimo specifico foto sintetico (g^{-1})
Q_{10_P}	2.0	2.0	Coefficiente Q_{10} caratteristico
$h_P^{s(1)}$	0.3	–	Valore di semi saturazione per la limitazione da Si ($mmol Si m^{-3}$)
b_P	0.01	0.1	Tasso specifico di respirazione basale (g^{-1})
γ_P	0.1	0.2	Frazione della respirazione di attività (g^{-1})
β_P	0.05	0.1	Frazione di produzione primaria escreta (g^{-1})
$h_P^{p,n,s}$	0.1	0.1	Stress da nutrienti, valore limite per la lisi (g^{-1})
d_{0_P}	0.01	0.05	Massimo tasso specifico di lisi (g^{-1})
$n_P^{\min}, n_P^{opt}, n_P^{\max}$	$1.26 * 10^{-2} *$ (0.3, 1, 2)	$1.26 * 10^{-2} *$ (0.3, 1, 2)	Quota minima, ottimale e massima di azoto ($mmol N mg C^{-1}$)
$p_P^{\min}, p_P^{opt}, p_P^{\max}$	$7.86 * 10^{-4} *$ (0.25, 1, 2)	$7.86 * 10^{-4} *$ (0.5, 1, 2)	Quota minima, ottimale e massima di fosforo ($mmol P mg C^{-1}$)
α_{chl}^0	$0.7 * 10^{-5}$	$1.5 * 10^{-5}$	Coefficiente di massima utilizzazione della luce ($mg C mg chl^{-1} \mu E m^{-2} s^{-1}$)
θ_{chl}^0	0.05	0.016	Rapporto ottimale chl:C ($mg chl mg C^{-1}$)

Tab 3.3 simboli, valori standard e descrizione dei parametri per *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus*

Tuttavia, prima di procedere alla descrizione è necessario definire i termini che descrivono l'influenza della variabilità ambientale (luce, temperatura e disponibilità di nutrienti) sul fitoplancton.

La radiazione ad onda corta disponibile per la fotosintesi (E_{PAR}), pari circa al 50% della radiazione solare incidente, è la fonte di energia fondamentale per la produzione primaria. Il fattore di regolazione dipendente dalla luce (f_P^E) è definibile seguendo la formulazione di Webb et al. (1974) e Platt et al. (1980) come segue:

$$f_P^E = 1 - \exp\left(-\frac{E_{PAR}}{E_K}\right) \quad (3.11)$$

Dove E_K è detto parametro di saturazione della luce o ‘‘radiazione ottimale’’ ed è definibile come il rapporto tra il massimo tasso specifico fotosintetico (P_{max}^*) e il coefficiente di massima utilizzazione della luce (α^*) (dove il simbolo * indica un valore istantaneo).

$$E_K = \frac{P_{max}^*}{\alpha^*} \quad (3.12)$$

Basandosi sullo studio effettuato da Behrenfeld et al. (2004), si assume:

$$P_m^* = f_P^T f_P^f f_P^s r_P^0 / P_l \quad (3.13)$$

$$\alpha^* = f_P^T f_P^f f_P^s \alpha_{chl}^0 \quad (3.14)$$

Dove α_{chl}^0 è la massima pendenza della curva produzione-irradianza (P-E) alle condizioni ottimali.

Il fattore non dimensionale che regola la luce può quindi essere riscritto come:

$$f_P^E = 1 - \exp\left(-\frac{\alpha_{chl}^0 E_{PAR} P_l}{r_P^0 P_c}\right) \quad (3.15)$$

La temperatura regola tutti i processi fisiologici, ed i suoi effetti sono definiti secondo l'equazione esponenziale:

$$f^T = Q_{10}^{\frac{T-10}{10}} \quad (3.16)$$

Q_{10} è il coefficiente della temperatura caratteristico del gruppo funzionale, che varia a seconda del processo considerato.

Per quanto riguarda la limitazione da nutrienti, il rapporto di Redfield (C:N:P = 106:16:1 in moli) nel modello è definito come valore ottimale, e quindi discrimina tra un ambiente limitato e uno non limitato da nutrienti. Il contenuto intracellulare di N e P nel fitoplancton variano attorno a questo valore. Il rapporto di nutrienti ottimale (rapporto di Redfield) e quello minimo sono indicati come n_p^{opt} n_p^{min} per l'azoto, e P_p^{opt} P_p^{min} per il fosforo. Le equazioni (3.17) e (3.18) regolano l'assunzione di nutrienti da parte del fitoplancton (Droop, (1975)). Il fattore limitante risulta poi dall'applicazione di Liebig.

$$f_P^n = \min\left(1, \max\left(0, \frac{P_n / P_c - n_p^{min}}{n_p^{opt} - n_p^{min}}\right)\right) \quad (3.17)$$

$$f_P^p = \min\left(1, \max\left(0, \frac{P_p / P_c - P_p^{min}}{P_p^{opt} - P_p^{min}}\right)\right) \quad (3.18)$$

$$f_P^{n,p} = \min(f_P^n, f_P^p) \quad (3.19)$$

La limitazione da silicati per le diatomee è definita da una formulazione di Michaelis-Menten, basata sulla concentrazione esterna di silicati:

$$f_{P^{(1)}}^s = \frac{N^{(5)}}{N^{(5)} + h_s} \quad (3.20)$$

La produzione primaria lorda $\left(\frac{\partial P_c}{\partial t} \Big|_{O^{(3)}}^{gpp} \right)$ equivale al tasso di cambiamento del carbonio nel fitoplancton (P_c), dovuto alla fotosintesi che porta ad un'assunzione, da parte del fitoplancton, di anidride carbonica $O^{(3)}$. Questo termine è parametrizzato come segue:

$$\frac{\partial P_c}{\partial t} \Big|_{O^{(3)}}^{gpp} = f_P^T f_P^E f_P^s r_P^0 P_c \quad (3.21)$$

r_P^0 è il tasso massimo specifico fotosintetico in condizioni ottimali di luce e nutrienti alla temperatura di 10°C.

Il tasso di essudazione è descritto da:

$$\frac{\partial P_c}{\partial t} \Big|^{exu} = \omega \frac{\partial P_c}{\partial t} \Big|^{gpp} \quad (3.22)$$

Dove ω è composto da una frazione costante della gpp (β) e da una frazione dipendente dalla limitazione di nutrienti, che è controllata dal rapporto di nutrienti interno, descritto dal fattore $f_P^{n,p}$.

$$\omega = \beta + \left[(1 - \beta) \left(1 - f_P^{n,p} \right) \right] \quad (3.23)$$

La respirazione (3.24) è definita come la somma della respirazione basale, che è indipendente dal tasso di produzione, e dalla respirazione di attività.

La respirazione basale (3.25) è funzione del tasso specifico b_P , e di f^T .

La respirazione di attività (3.26) equivale ad una frazione costante (γ) della produzione primaria lorda dalla quale vengono sottratte le perdite di carbonio dovute ai processi di essudazione.

$$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{resp} = \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{respB} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{respA} \quad (3.24)$$

$$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{respB} = f^T b_P P^C \quad (3.25)$$

$$\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{respA} = \gamma \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{0^{(3)}}^{gpp} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{R_c^{(1)}}^{exu} \right) \quad (3.26)$$

Il carbonio totale dovuto ai processi di lisi è definito da:

$$\sum_{j=1,6} \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{R_c^{(j)}}^{lys} = \frac{1}{f_P^{p,n} + h_P^{p,n}} d_P^0 P^C \quad (3.27)$$

L'equazione che descrive il tasso temporale di sintesi di clorofilla (3.28) è composta da due termini, il primo descrive la sintesi di clorofilla (Geiger et al., 1996, 1997), mentre il secondo termine rappresenta le perdite. Si assume che le cellule in carenza di nutrienti rilascino DOC per regolare il loro

rapporto interno Chl:C. Si può quindi riscrivere l'equazione della clorofilla in dipendenza dal carbonio, come segue:

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{gpp} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{loss} \right) = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{net} \right) \quad (3.28)$$

Il tasso di sintesi di clorofilla è principalmente controllato dal rapporto dinamico Chl:C, indicato come ρ_{chl} (3.29), proposto da Geider et al. (1997), che regola la sintesi di clorofilla nella cellula secondo un rapporto non dimensionale tra il tasso fotosintetico e il massimo potenziale di fotosintesi.

$$\rho_{chl} = \theta_{chl}^0 \frac{f_P^E r_P^0 P_c}{\alpha_{chl}^0 E_{PAR} P_l} \quad (3.29)$$

Dove θ_{chl}^0 indica il rapporto massimo Clorofilla Carbonio.

3.2 NUOVE EQUAZIONI DI STUDIO

Tuttavia, date le incertezze relative alla definizione e parametrizzazione dell'equazione per la sintesi della clorofilla, sono state esaminate e definite delle varianti alle equazioni (3.15), (3.28) e (3.29). In particolare sono stati definiti dieci casi di studio, il primo dei quali (**CASO 1**) corrisponde alla formulazione originale descritta dalle equazioni (3.15), (3.28) e (3.29).

In quasi tutti i dieci casi di studio è stata mantenuta invariata l'equazione per il fattore non dimensionale che regola la luce (3.15). Una nuova equazione per questo fattore è stata introdotta nei casi **7** e **10** (3.36).

Un'altra differenza sostanziale tra i casi analizzati è nelle due nuove formulazioni di ρ_{chl} (rapporto clorofilla carbonio). La prima è introdotta

nei casi **3** e **4** (3.31) mentre la seconda nei casi **7** e **10** (3.37). In tutti gli altri casi questo rapporto è descritto dall'equazione (3.29).

Infine l'equazione che descrive la sintesi di clorofilla nel tempo è stata variata per ciascun caso di studio.

Per completezza si riportano qui sotto le varianti definite per la parametrizzazione della sintesi di clorofilla.

CASO 2

In questo caso di studio la sintesi di clorofilla (3.30) è descritta dalla produzione primaria lorda a cui vengono sottratti i termini di perdita di carbonio moltiplicati per il rapporto istantaneo clorofilla carbonio. La sintesi è dipendente dal ρ_{chl} e dal fattore che regola la limitazione da nutrienti da parte del fitoplancton ($f_p^{n,p}$) (3.19).

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|^{syn} = \rho_{chl} f_p^{n,p} \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|^{gpp} - \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|^{loss} \frac{P_l}{P_c} \right) \quad (3.30)$$

CASO 3

Viene introdotta una nuova formulazione per ρ_{chl} (3.31), in cui il fattore che regola la dipendenza dalla luce (f_p^E) è stato sostituito con f_p^n , che limita la crescita fitoplanctonica in base alla disponibilità di azoto. Poiché r_p^0 è funzione sia della luce che dei nutrienti, ρ_{chl} sarà solo indirettamente legata al fattore f_p^E .

$$\rho_{chl} = \theta_{chl}^0 \frac{r_p^0 P_c f_p^n}{\alpha_{chl}^0 E_{PAR} P_l} \quad (3.31)$$

L'equazione per la clorofilla (3.32) è definita dalla produzione primaria netta alla quale è aggiunto l'uptake di azoto $\left(\frac{\partial P_n}{\partial t}\right)^{upt}$ modulato dalla disponibilità di questo nutriente, al netto delle perdite dovute alla respirazione ed alla lisi.

$$\frac{\partial P_l}{\partial t}\Big|^{syn} = \rho_{chl} \max\left(0, \frac{\partial P_c}{\partial t}\Big|^{net}\right) + f_p^n \max\left(0, \frac{\frac{\partial P_n}{\partial t}\Big|^{upt}}{P_n}\right) \max\left(0, \nu_{chl}^0 - \rho_{chl}\right) - \frac{P_l}{P_c} \left(\frac{\partial P_c}{\partial t}\Big|^{resp} + \frac{\partial P_c}{\partial t}\Big|^{lys}\right) \quad (3.32)$$

CASO 4

In questo caso la formulazione per ρ_{chl} è stata mantenuta analoga a quella del caso precedente (3.31)

L'equazione dinamica per la clorofilla nel fitoplancton è descritta da due termini distinti: la sintesi, controllata da ρ_{chl} e dalla produzione primaria netta definita sempre positiva, e le perdite che equivalgono ad una percentuale costante della clorofilla totale (d_0).

$$\frac{\partial P_l}{\partial t}\Big|^{syn} = \rho_{chl} \max\left(0, \frac{\partial P_c}{\partial t}\Big|^{net}\right) - (d_0 P_l) \quad (3.33)$$

CASO 5

In questo caso il termine che descrive la sintesi di clorofilla dipende dalla produzione primaria lorda limitata dalla disponibilità di azoto, nutriente che maggiormente limita la sintesi di clorofilla (Guerrini et al. 2000), e da ρ_{chl} . Le perdite di clorofilla differiscono dalla formulazione precedente (CASO 4) per la dipendenza dalla temperatura.

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|^{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|^{gpp} f_P^n \right) - \left(d_0 f^T P_l \right) \quad (3.34)$$

CASO 6

Anche in questo caso di studio la sintesi di clorofilla dipende dal fattore che modula la disponibilità di azoto, mentre vengono nuovamente inserite le perdite descritte nel **CASO 2**

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|^{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|^{gpp} f_P^n \right) - \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|^{loss} \frac{P_l}{P_c} \right) \quad (3.35)$$

CASO 7

Rispetto ai casi precedenti viene introdotta una nuova formulazione sia per il fattore che regola la dipendenza dalla luce (3.36), sia per il rapporto clorofilla carbonio (3.37). In entrambe viene inserita la variabile ω descritta dall'equazione (3.23).

$$f_P^E = 1 - \exp \left(- \frac{\alpha_{chl}^0 E_{PAR} P_l}{r_P^0 P_c (1 - \omega)} \right) \quad (3.36)$$

Nell'equazione per ρ_{chl} , oltre alla variabile ω , è stato nuovamente introdotto il fattore che regola la dipendenza dalla luce.

$$\rho_{chl} = \theta_{chl}^0 \frac{f_P^E r_P^0 P_c (1 - \omega)}{\alpha_{chl}^0 E_{PAR} P_l} \quad (3.37)$$

La sintesi di clorofilla è data dalla gpp al netto delle perdite dovute all'essudazione, a cui si sommano i termini di perdita per respirazione e lisi cellulare.

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{gpp} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{exu} \right) - \left(\left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{resp} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{lys} \right) \frac{P_l}{P_c} \right) \quad (3.38)$$

CASO 8

Le equazioni dinamiche per la clorofilla dei tre seguenti casi di studio ((3.39) (3.40) e (3.41)) derivano dai casi **2**, **6** e **7**, ma mostrano una sostanziale differenza rispetto alle formulazioni precedenti per quanto concerne il termine di perdita. E' stata infatti eliminata la perdita di clorofilla dovuta alla respirazione. Il termine di perdita è infatti costituito solo dalla lisi e dall'essudazione.

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{gpp} f_P^{n,p} \right) - \frac{P_l}{P_c} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{lys} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{exu} \right) \quad (3.39)$$

CASO 9

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{gpp} f_P^n \right) - \frac{P_l}{P_c} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{lys} + \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{exu} \right) \quad (3.40)$$

CASO 10

L'equazione (3.41), come già spiegato precedentemente, è una variante dell'equazione (3.38) del **CASO 7**. Si mantengono le equazioni per f_P^E (3.36) e per ρ_{chl} (3.37) descritte nel **CASO 7**.

Nell'equazione della clorofilla (3.41), oltre ad eliminare le perdite di clorofilla dovute alla respirazione, come nei casi **8** e **9**, sono state aggiunte le perdite dovute alla sola respirazione di attività (3.26) nel termine di sintesi della clorofilla.

$$\left. \frac{\partial P_l}{\partial t} \right|_{syn} = \rho_{chl} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{gpp} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{exu} - \left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{respA} \right) - \frac{P_l}{P_c} \left(\left. \frac{\partial P_c}{\partial t} \right|_{lys} \right) \quad (3.41)$$

Poiché è stata osservata nelle simulazioni una tendenza generale alla sovrastima dei dati stimati durante l'esperienza di laboratorio, in particolar modo alle alte temperature, e di una sottostima a 10°C, il modello è stato forzato ad assumere valori arbitrari di f^T più restrittivi (tab. 3.4), rispetto a quelli ottenuti con la formulazione originale (3.16). Infatti mentre l'equazione Q_{10} (3.16) (Vichi et al., 2007), mostra una forte dipendenza dei processi fisiologici dalla temperatura con una crescita esponenziale all'aumentare di quest'ultima, con i nuovi valori di f^T la crescita aumenta più lentamente e raggiunto un valore soglia vicino ad 1 si stabilizza. In particolare si è scelto di assegnare un valore di f^T alla temperatura di 10°C uguale a quello ottenuto con la formulazione Q_{10} , così che gli effetti sulla crescita fitoplanctonica fossero i medesimi.

Temperatura (°C)	Valori di f^T secondo la formula Q_{10}	Valori di f^T assegnati
10	1.00	1.00
15	1.41	1.02
20	2.00	1.03
25	2.83	1.05

Tab. 3.4 Valori assunti dalla funzione che descrive la dipendenza dei processi fisiologici dalla temperatura (f^T) secondo la formulazione originale del Q_{10} e valori assegnati arbitrariamente.

4 RISULTATI

4.1 RISULTATI DI LABORATORIO

L'andamento della crescita delle due specie rappresentative delle comunità fitoplanctoniche del nord Adriatico, *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus*, è studiato in questa tesi al fine di estrarre leggi empiriche per la modellistica numerica al variare di temperatura, radiazione luminosa e nutrienti disciolti. La crescita algale è valutata in termini di contenuto di clorofilla e di carbonio organico, variabili di stato simili a quelle del modello numerico. Per la clorofilla sono stati usati due metodi, quello della fluorescenza e quello del conteggio delle cellule. Per *Skeletonema marinoi* i due metodi utilizzati presentano un andamento simile, mentre per *Synechococcus elongatus*, la misurazione effettuata con la fluorescenza dà risultati inferiori rispetto al conteggio. Questo può essere dovuto all'elevato numero di cellule nelle beute raggiunto dopo pochi giorni, che fa sì che le cellule si schermino a vicenda, ottenendo una fluorescenza risultante minore. Di seguito sono riportate le curve di crescita per ognuna delle due specie algali, raggruppate in funzione della temperatura (fig. 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8). Questo sembra essere il fattore ambientale che principalmente influisce sulla crescita.

In fig.4.1 sono rappresentate le curve di crescita di *Skeletonema marinoi* alla temperatura di 10 °C, alle diverse condizioni di luce e nutrienti. Le colture cresciute a bassa intensità luminosa ($30 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) presentano una crescita più lenta, sono state infatti calcolate velocità di crescita pari a 0.39 e 0.37 g^{-1} rispettivamente per la coltura con nutrienti in rapporto di Redfield e per quella con $\text{N/P} = 110$. Mentre si rilevano andamenti simili con velocità di crescita maggiori (tabella 4.1) per le colture mantenute a maggiore intensità luminosa (75 e $125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a tutte le condizioni di nutrienti.

Anche a 15°C le condizioni a bassa intensità luminosa sono caratterizzate da una minore crescita algale. Mentre in condizione di maggiore luminosità la fase stazionaria viene raggiunta precocemente, in particolar modo nelle colture cresciute con una concentrazione di nutrienti sbilanciata, a causa

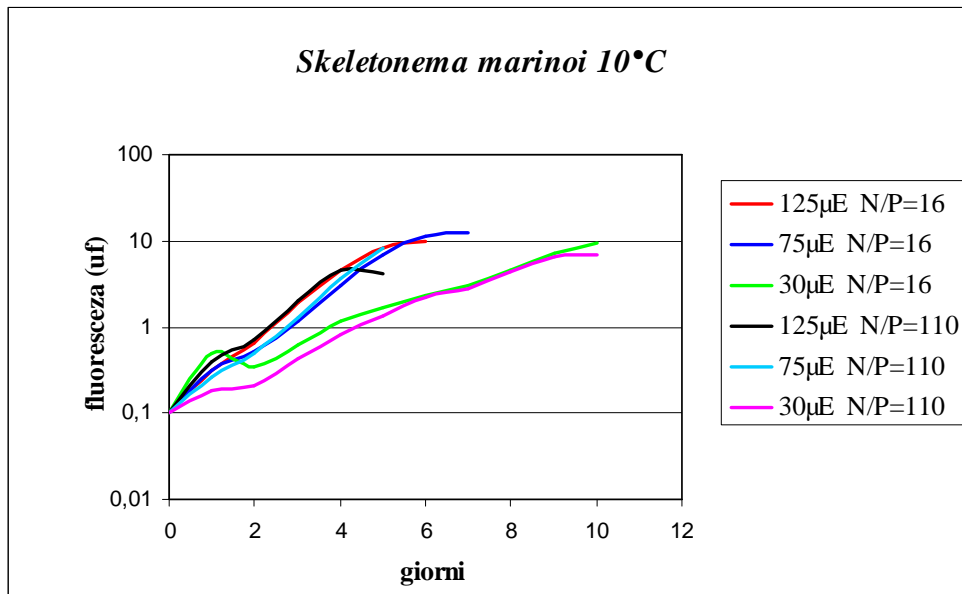
della carenza di fosforo che viene velocemente esaurito, come riportato in tabella 4.2.

Le condizioni ottimali per *Skeletonema marinoi* risultano essere quelle alla temperatura di 20°C, dove presenta una crescita rapida e regolare per tutte le condizioni di luce e nutrienti. Le velocità di crescita raggiungono il valore massimo di 1.88 g⁻¹ in condizione di nutrienti bilanciati e ad alte intensità luminose (450 e 225 μE m⁻² s⁻¹). Si osserva una minore crescita in carenza di fosforo con 125 μE m⁻² s⁻¹.

Alla temperatura più alta (25°C) si rivelano essere favorite le colture cresciute ad una condizione di luce intermedia (225 μE m⁻² s⁻¹). Per entrambi gli esperimenti condotti ad un'intensità di 450 μE m⁻² s⁻¹ la crescita è minore e la fase di acclimatazione è molto più lunga, a causa dell'inibizione dovuta alla luce troppo intensa.

Dalle curve P/I effettuate con il fluorimetro PAM, che consente una stima dello stato fisiologico della coltura in esame, *Skeletonema marinoi* risulta essere foto-inibita, in particolar modo alle alte temperature, in maniera concorde a quanto osservato anche nelle curve di crescita. Dai dati ottenuti infatti si è riscontrata la presenza di foto-inibizione negli esperimenti effettuati a 20 e 25°C a tutte le condizioni di luce (450,225 e 125 μE m⁻² s⁻¹) e nutrienti (N/P = 16, 110) analizzate (dati non mostrati).

(a)



(b)

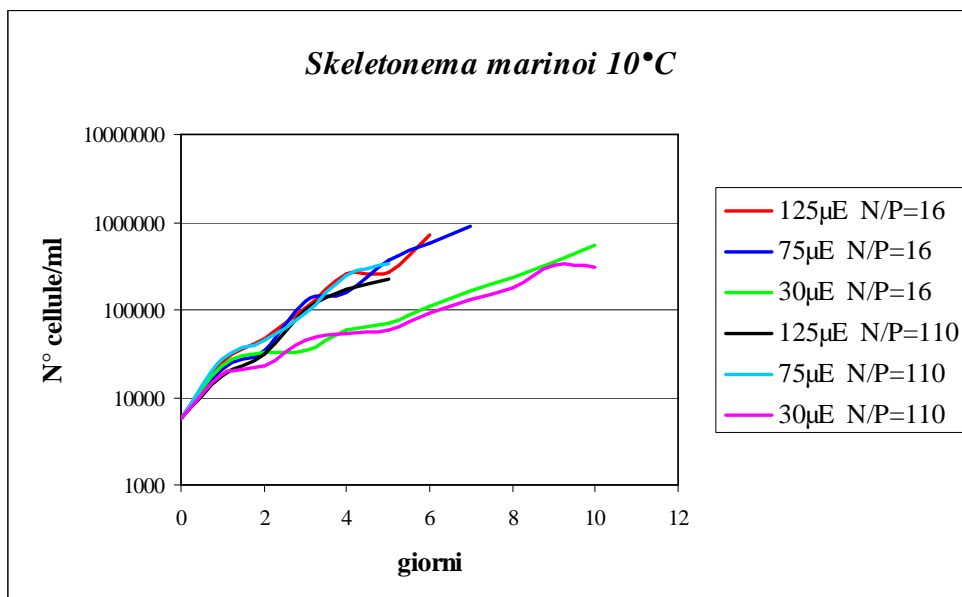
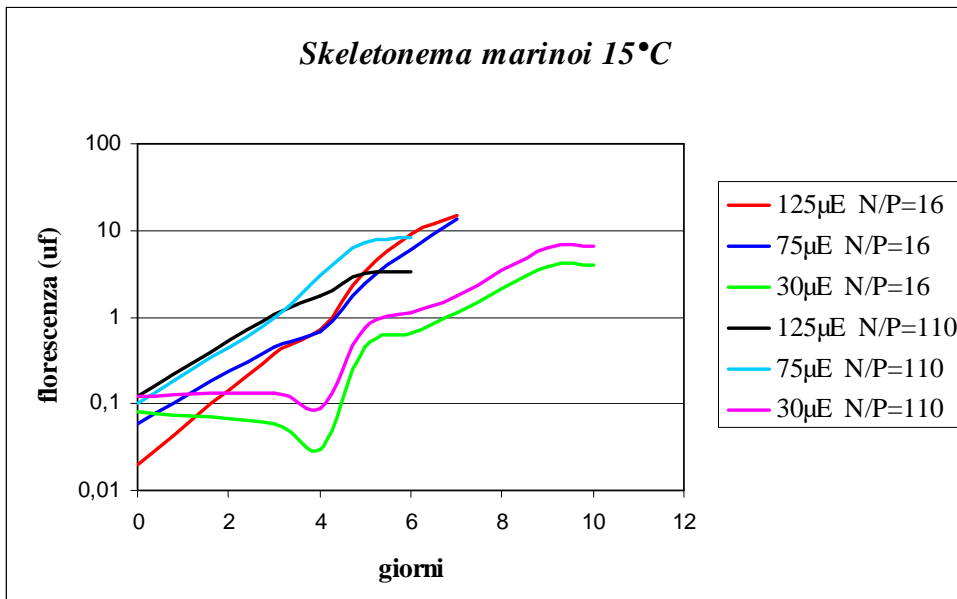


Fig. 4.1 curve di crescita per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 10°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

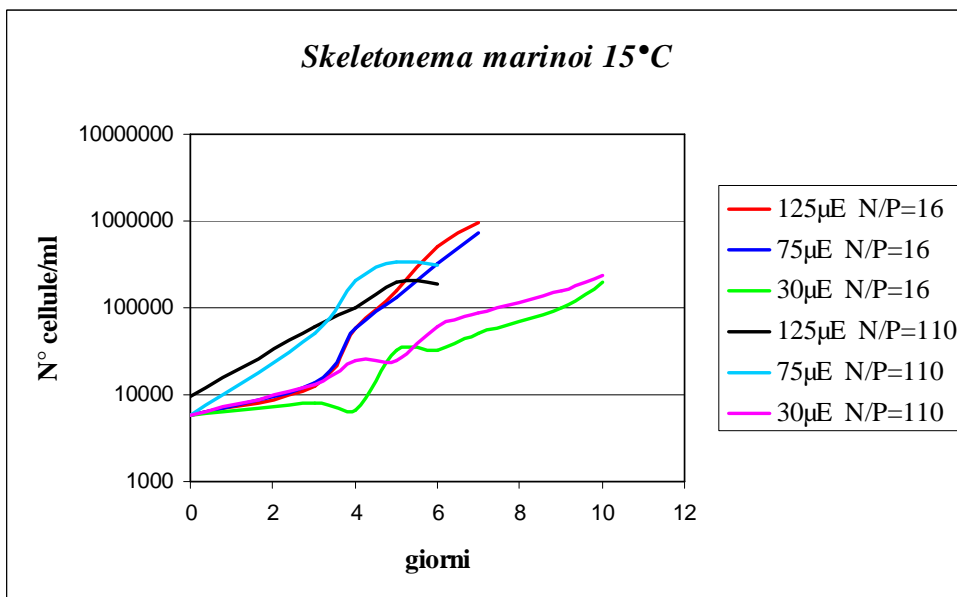
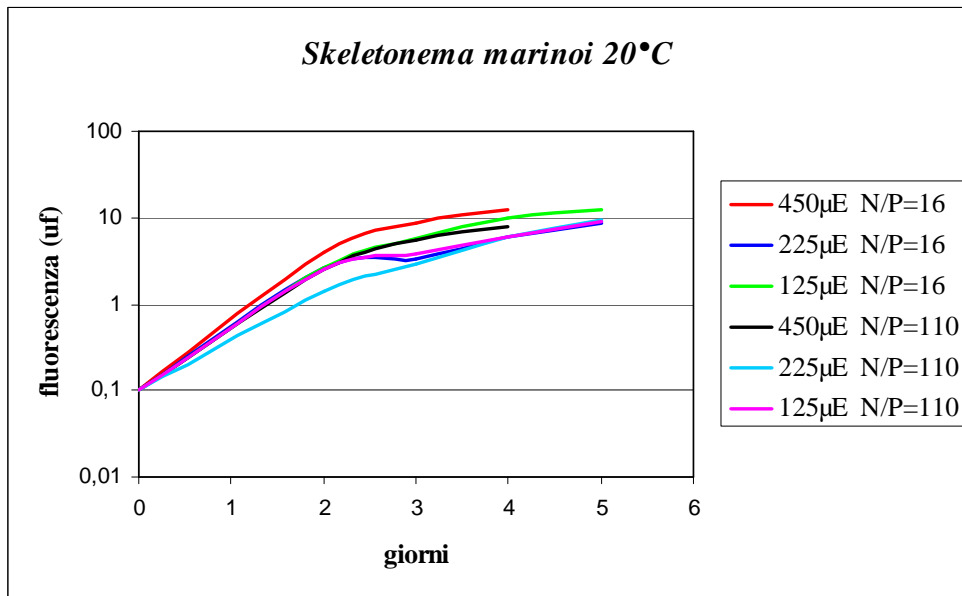


Fig. 4.2 curve di crescita per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 15°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

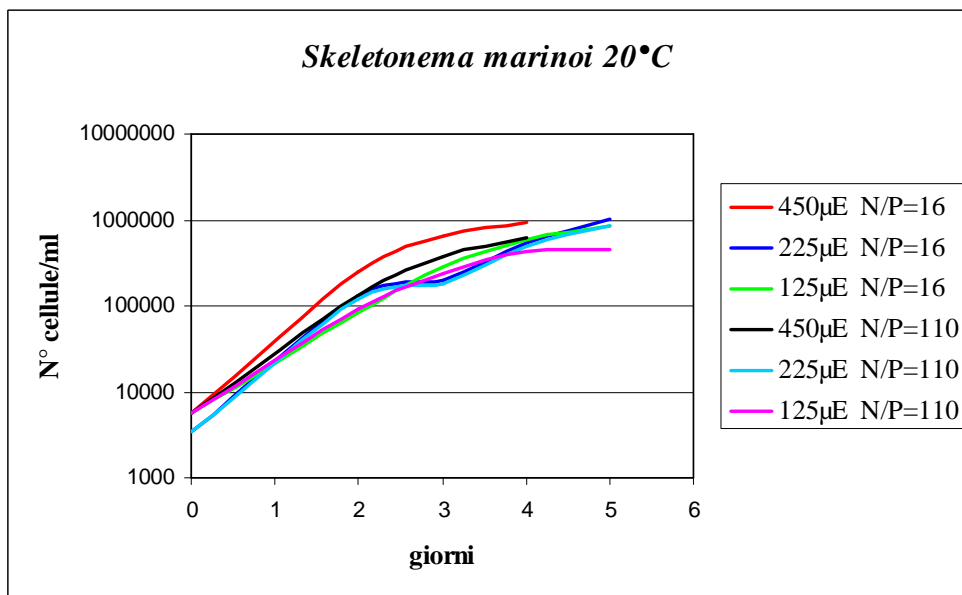
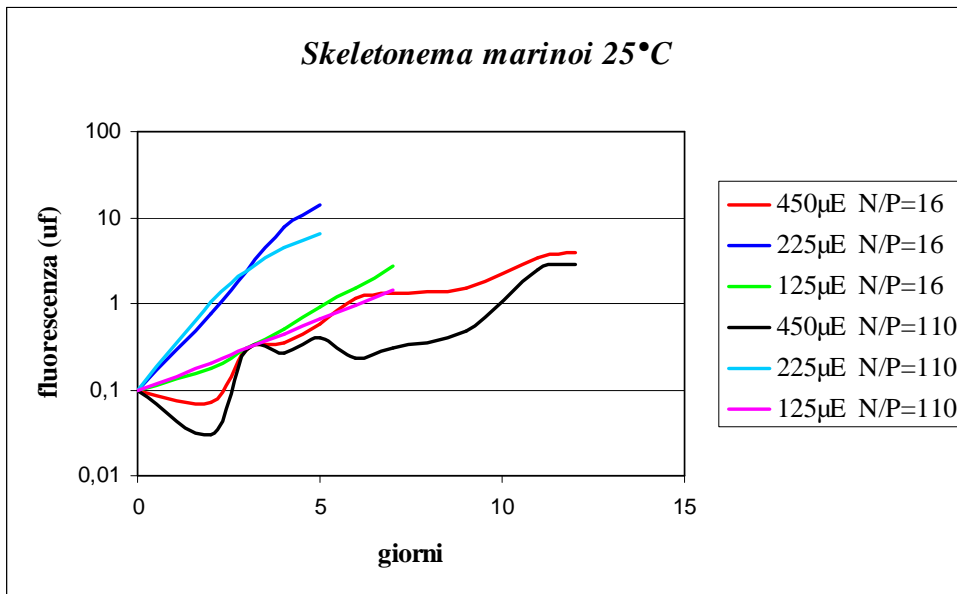


Fig. 4.3 curve di crescita per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 20°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

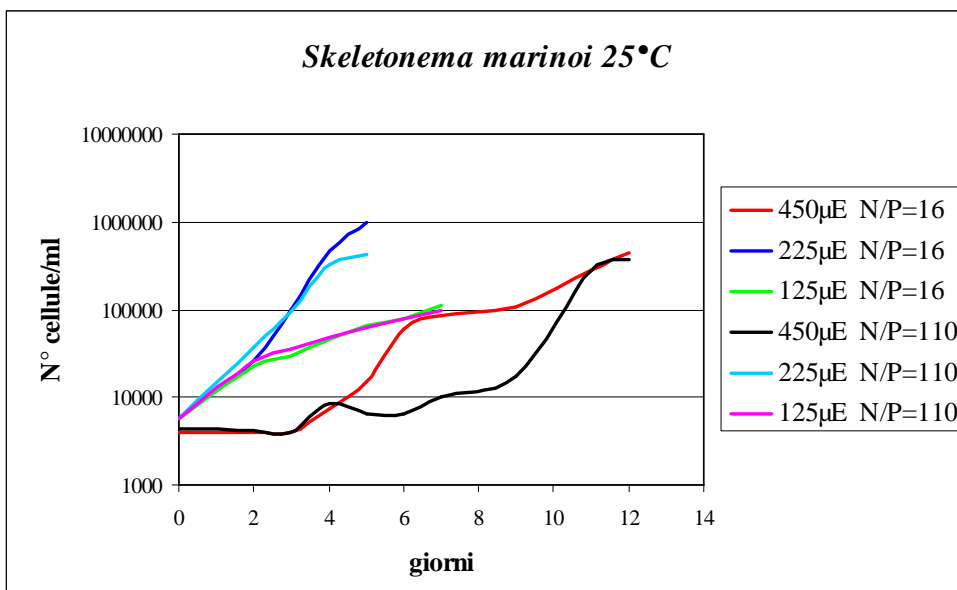


Fig. 4.4 curve di crescita per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 25°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

Synechococcus elongatus, rispetto a *Skeletonema marinoi*, sembra essere ancora più limitato dalle basse temperature. Non cresce in nessuna delle condizioni di luce e nutrienti condotte alla temperatura di 10 °C, come si può osservare dalle curve di crescita in fig.4.5. Un' ulteriore conferma sono i dati ottenuti con il fluorimetro PAM, da cui traspare uno stato fisiologico delle cellule in sofferenza.

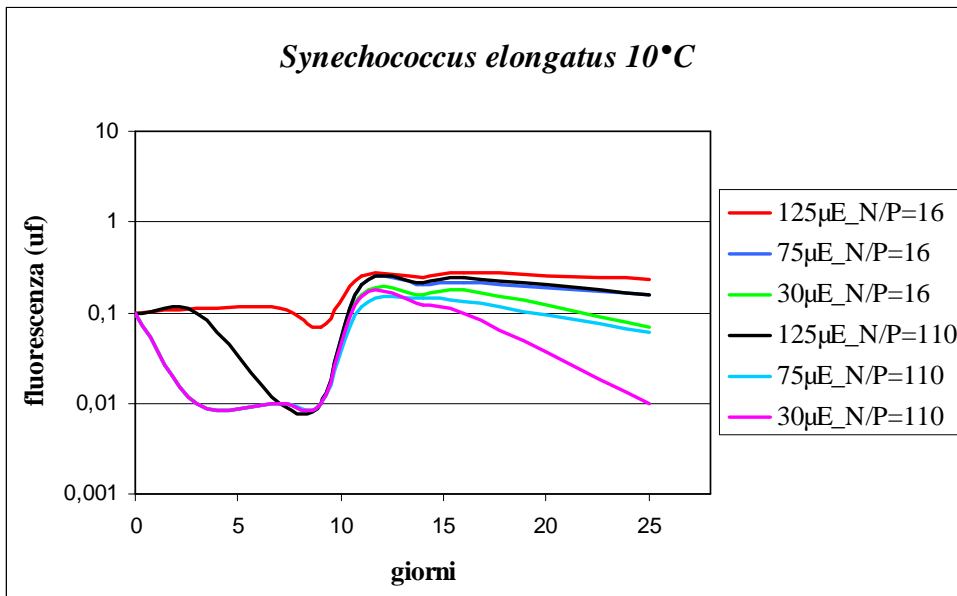
Alla temperatura di 15°C presenta la crescita più elevata quando è sottoposto alla massima radiazione luminosa ($125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) con entrambe le concentrazioni di azoto e fosforo. Si osservano tassi di crescita pari a 0.23 g^{-1} per la condizione con $\text{N/P} = 16$ e 0.24 g^{-1} per quella con un rapporto di nutrienti sbilanciato (Tabella 4.1). Inoltre, come si vede dagli andamenti in figura 17, la velocità di crescita è inferiore con il diminuire della intensità luminosa.

Come per *Skeletonema marinoi* anche per *Synechococcus elongatus* le condizioni ottimali risultano essere quelle alle alte temperature. In particolare a 20°C e luce bassa ($125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) si osservano velocità di crescita corrispondenti a 1.27 e 1.00 g^{-1} , rispettivamente, con condizioni di nutrienti bilanciate ed in carenza di fosforo. Mentre per le colture adattate alla stessa temperatura ma con maggiore luminosità si sono stimate velocità di crescita inferiori a 1 (tabella 4.1).

La massima velocità di crescita per *Synechococcus elongatus* (1.75 g^{-1}) è stata stimata a 25°C in condizioni di massima intensità luminosa, pari a $450 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con entrambe le condizioni di nutrienti utilizzate.

A differenza di *Skeletonema marinoi*, per *Synechococcus elongatus* non si è riscontrata alcun tipo di foto-limitazione in nessuno degli esperimenti effettuati.

(a)



(b)

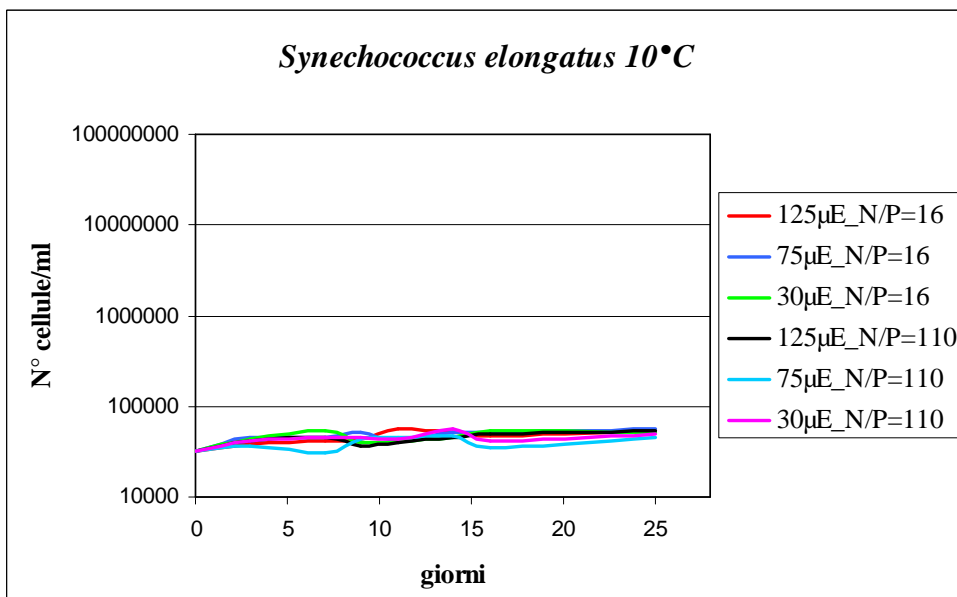
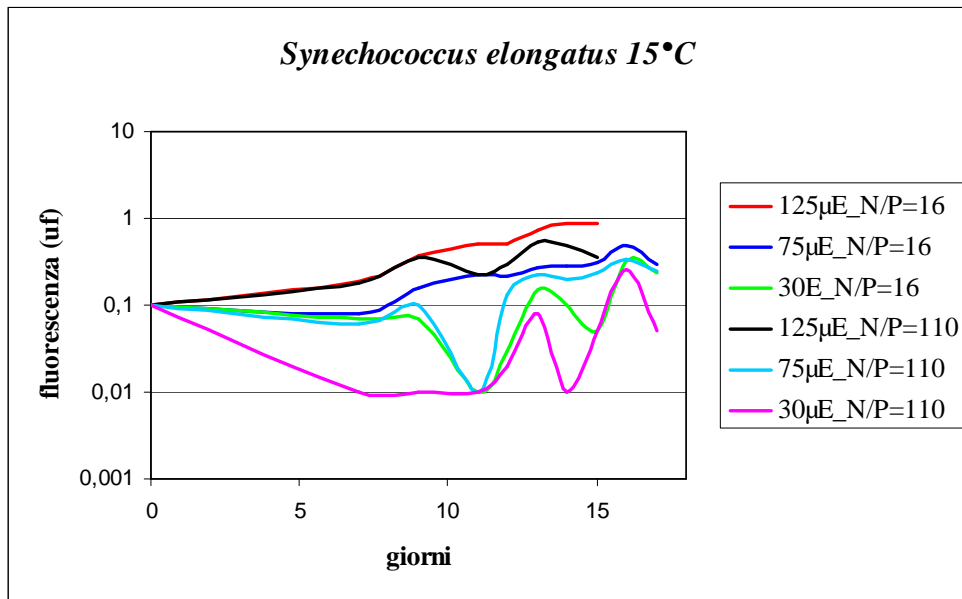


Fig. 4.5 curve di crescita per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 10°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

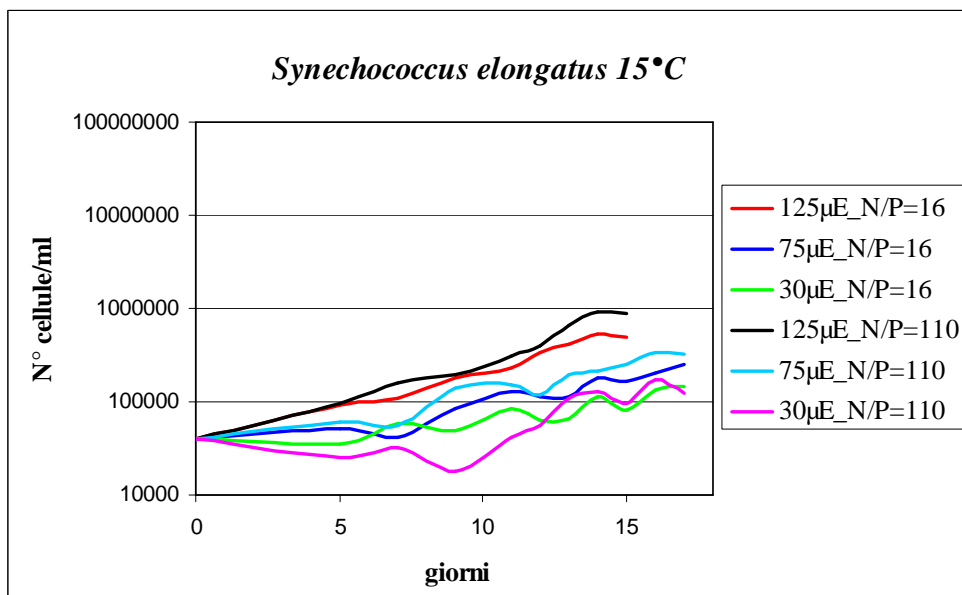
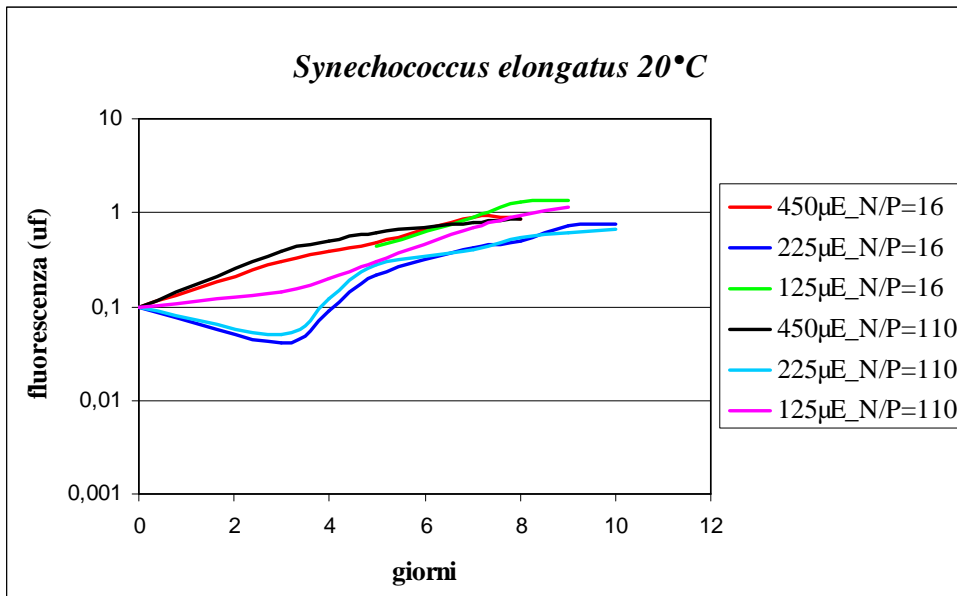


Fig. 4.6 curve di crescita per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 15°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

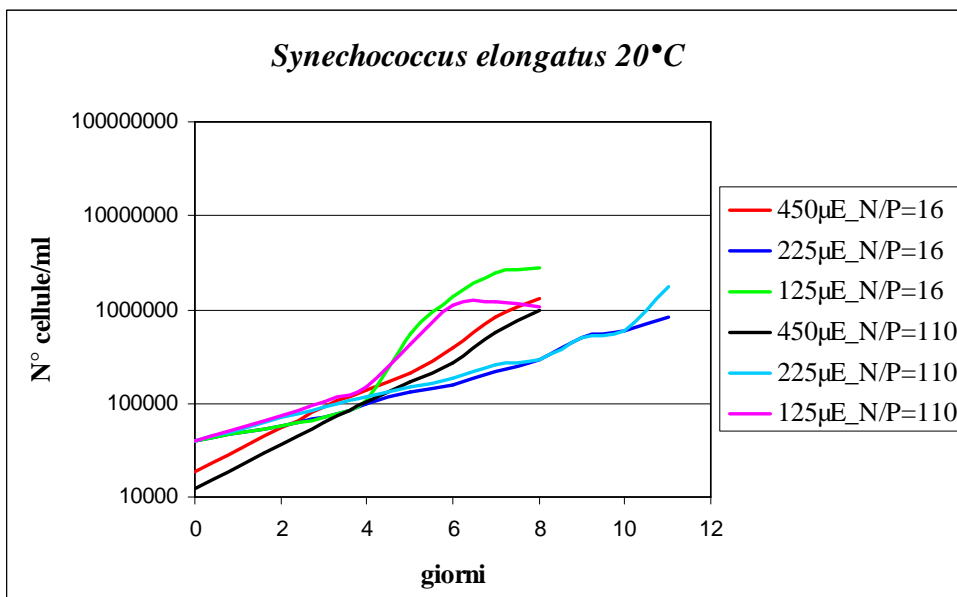
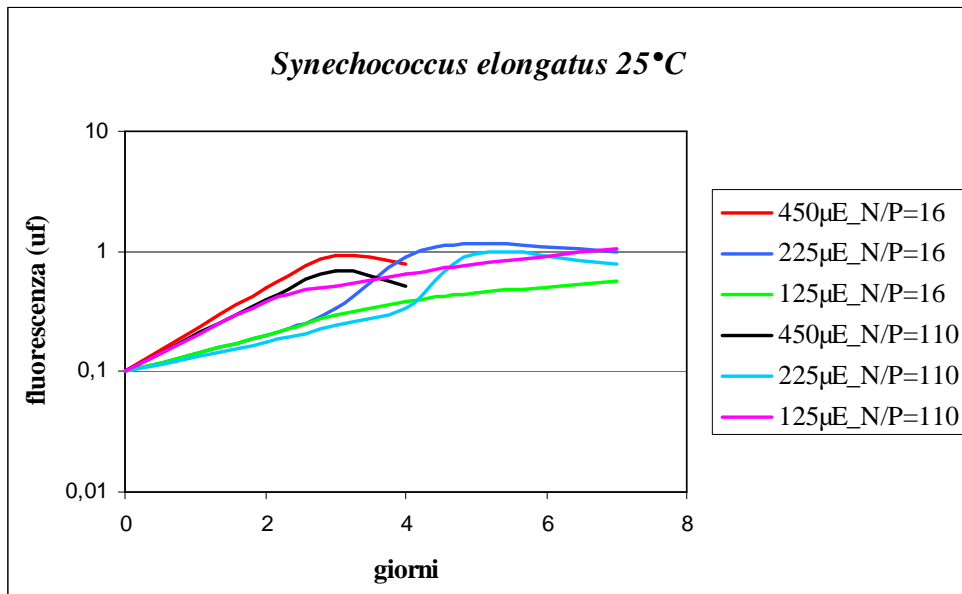


Fig. 4.7 curve di crescita per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 20°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

(a)



(b)

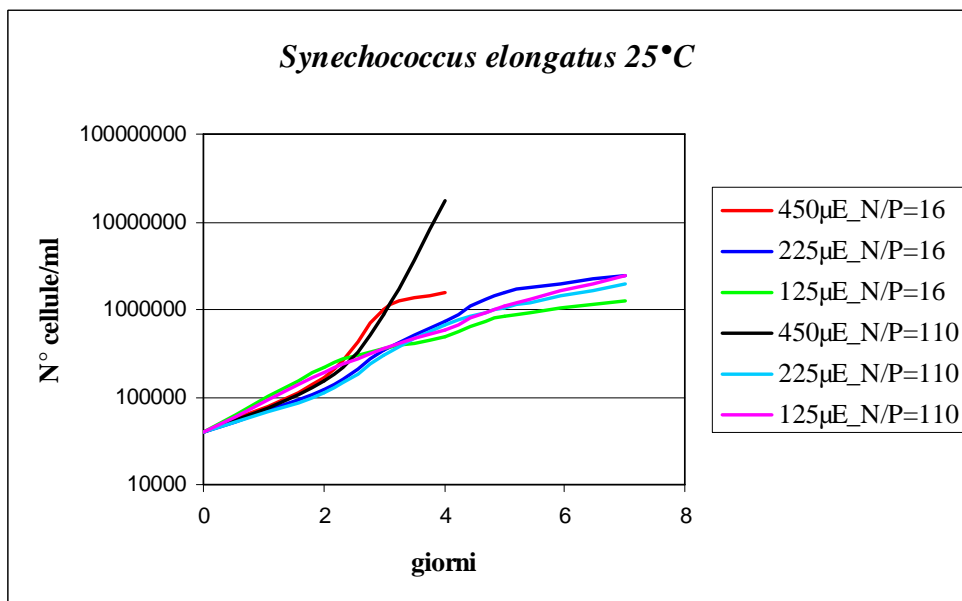


Fig. 4.8 curve di crescita per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 25°C, ottenute mettendo in relazione il tempo (in giorni) con la fluorescenza (UF) (a), e con il numero di cellule (b)

Temp (°C)	N/P	Luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Growth rate <i>Skeletonema marinoi</i> (g^{-1})	Growth rate <i>Synechococcus elongatus</i> (g^{-1})
10 °C	16	125	0.87	0.05
		75	0.79	0.01
		30	0.39	0.02
	110	125	0.77	0.01
		75	0.85	0.02
		30	0.37	0.03
15°C	26	125	1.23	0.23
		75	1.05	0.18
		30	0.46	0.12
	110	125	0.60	0.24
		75	0.93	0.14
		30	0.42	0.13
20°C	16	450	1.88	0.61
		225	1.82	0.31
		125	1.31	1.27
	110	450	1.57	0.56
		225	1.77	0.27
		125	1.39	1.00
25°C	16	450	0.53	1.75
		225	1.45	0.85
		125	0.32	0.45
	110	450	0.53	1.75
		225	1.08	0.90
		125	0.27	0.58

Tab. 4.1 Tassi di crescita (giorni^{-1}) di *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus* alle diverse condizioni di temperatura (°C), luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentrazione di nutrienti

In tabella 4.1 sono riportate le velocità di crescita (g^{-1}) stimate per *Skeletonema marinoi* e per *Synechococcus elongatus* alle diverse condizioni di temperatura (°C), luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentrazione di nutrienti.

Per consentire un confronto grafico e per riassumere i risultati già evidenziati nelle curve di crescita, per ognuna delle due specie, sono stati eseguiti dei grafici in 3D riportando le velocità di crescita rilevate alle diverse intensità luminose, per le temperature invernali (fig. 4.9 e 4.11) e per quelle estive (fig. 4.10 e 4.12).

Come si può osservare in figura 4.9, alle basse temperature *Skeletonema marinoi* presenta velocità di crescita che seguono lo stesso andamento con il variare della luce. Sia a 10 che a 15° C le maggiori velocità di crescita vengono raggiunte nella condizione con più alta intensità luminosa ($125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e nutrienti bilanciati (N/P = 16). Tuttavia alla temperatura di 15° C risulta più evidente l'effetto dei nutrienti. A $125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ infatti si nota una maggiore differenza tra le due condizioni di nutrienti. In particolare è stata calcolata una velocità di crescita pari a 1.23 g^{-1} per l'esperimento con i nutrienti in rapporto di Redfield, contro un valore pari a 0.60 g^{-1} per quello in carenza di fosforo (Tabella 4.1).

Skeletonema marinoi raggiunge la sua massima velocità di crescita, pari a 1.88 g^{-1} , alla temperatura di 20° C, sottoposto ad alta intensità luminosa e nutrienti bilanciati (fig. 4.10). L'andamento differisce con l'aumentare della temperatura: a 25°C la velocità di crescita diminuisce all'aumentare dell'intensità luminosa. Questo è dovuto ad una forte foto-inibizione, che si verifica per entrambe le condizioni di nutrienti.

Come già riscontrato dalle curve di crescita e da quelle P/I, anche le velocità di crescita dimostrano per *Synechococcus elongatus* una crescita molto inferiore alla temperatura di 10 °C rispetto a quella raggiunta a 15°C (fig.4.11).

Le massime velocità di crescita sono state ottenute negli esperimenti effettuati alla temperatura di 25 °C, ad alta intensità luminosa ($450 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e per entrambe le condizioni di nutrienti (fig.4.12). Inoltre si osserva un'alta velocità di crescita, pari a 1.75 g^{-1} , a 20 °C con un'irradianza pari $125 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ed in condizione di nutrienti sbilanciati.

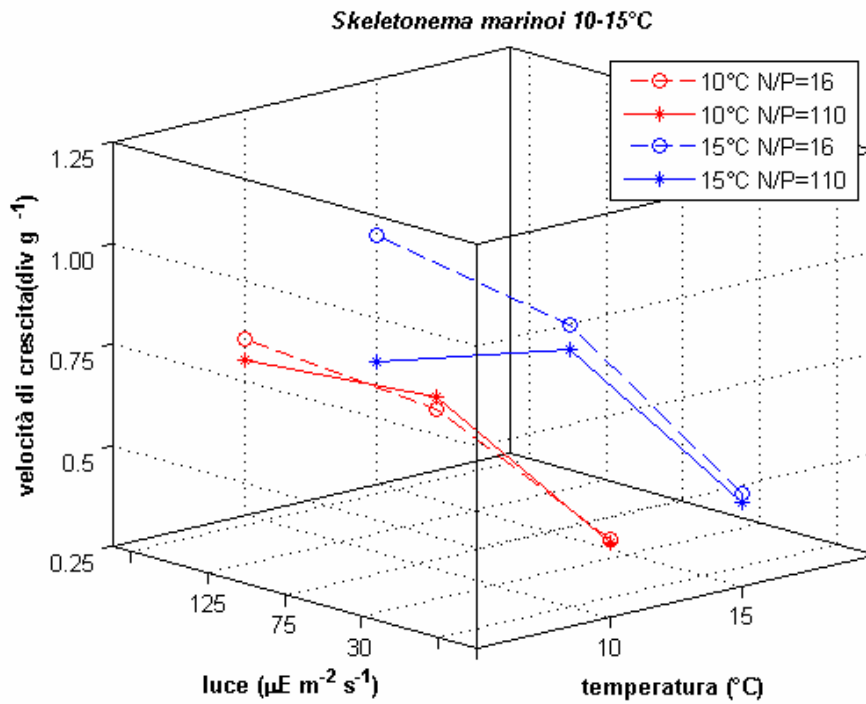


Fig. 4.9 velocità di crescita (giorni⁻¹) di *Skeletonema marinoi* alle temperature di 10 e 15°C, con intensità luminosa pari a 30, 75 e 125 μE m⁻² s⁻¹

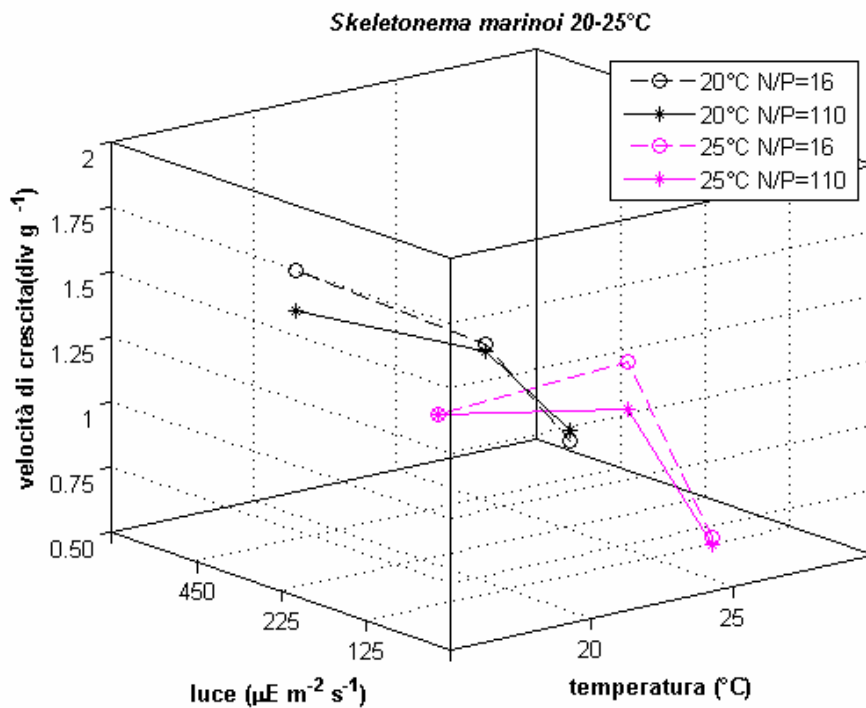


Fig. 4.10 velocità di crescita (giorni⁻¹) di *Skeletonema marinoi* alle temperature di 20 e 25°C, con intensità luminosa pari a 125, 225 e 450 μE m⁻² s⁻¹

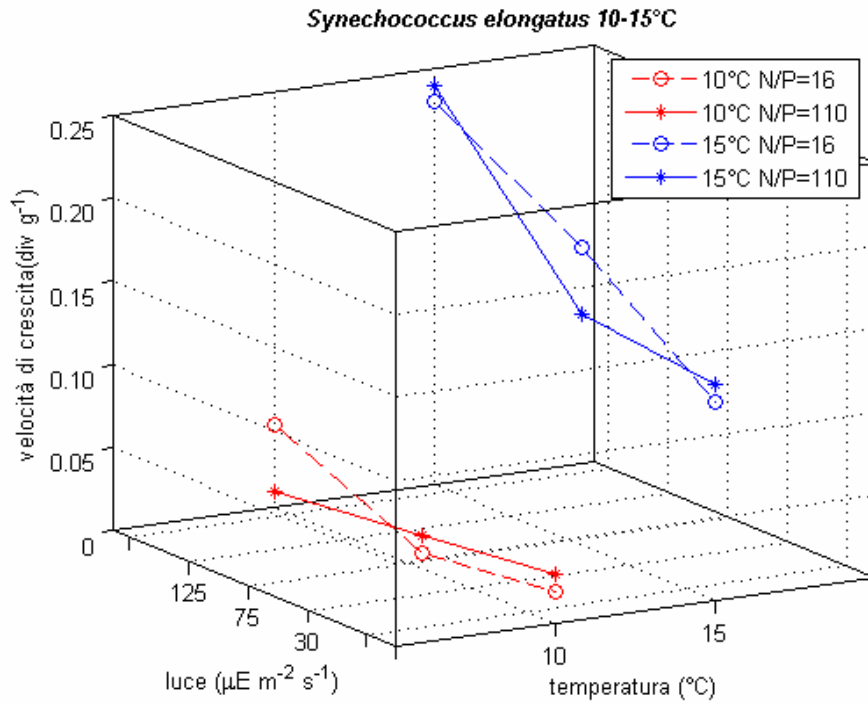


Fig. 4.11 velocità di crescita (giorni^{-1}) di *Synechococcus elongatus* alle temperature di 10 e 15°C, con intensità luminosa pari a 30, 75 e 125 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$

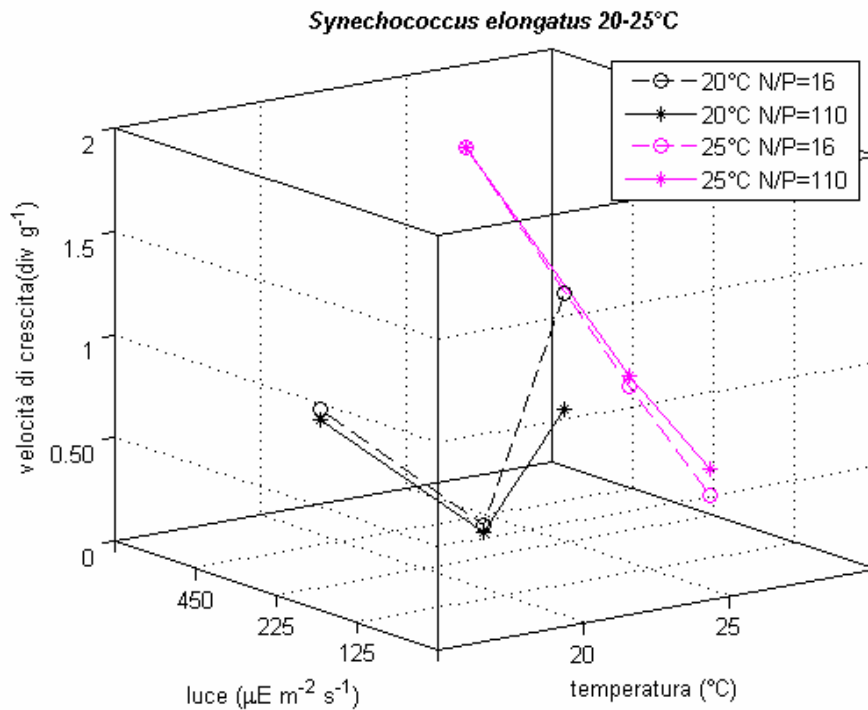


Fig. 4.12 velocità di crescita (giorni^{-1}) di *Synechococcus elongatus* alle temperature di 20 e 25°C, con intensità luminosa pari a 125, 225 e 450 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$

I dati del PAM sono stati utilizzati per calcolare le curve P-E (fig. 1.3), da cui è stato dedotta la pendenza della curva (α) e l'intensità luminosa a cui avviene la saturazione (E_k) (Tab.4.2).

Temp (°C)	N/P	Luce ($\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$)	<i>Skeletonema marinoi</i>		<i>Synechococcus elongatus</i>	
			α	E_k	α	E_k
10 °C	16	125	0.13	103.13	-	-
		75	0.14	107.81	-	-
		30	0.14	132.82	-	-
	110	125	0.12	303.99	-	-
		75	0.15	102.27	-	-
		30	0.14	109.32	-	-
15°C	16	125	0.12	105.15	0.13	306.81
		75	0.16	112.05	0.10	274.28
		50	0.13	133.03	0.10	313.26
	110	125	0.02	187.15	0.06	250.46
		75	0.07	99.28	0.10	276.53
		50	0.14	107.60	0.10	299.58
20°C	16	450	0.06	75.24	0.10	288.82
		225	0.11	90.38	0.13	263.88
		125	0.09	52.30	0.10	251.77
	110	450	0.03	104.55	0.11	268.16
		225	0.03	143.05	0.09	250.72
		125	-	-	0.06	245.55
25°C	16	450	0.06	127.00	0.09	307.88
		225	0.08	73.01	0.07	294.41
		125	0.08	93.52	0.08	342.48
	110	450	0.01	154.83	0.04	306.82
		225	0.00	407.40	0.02	293.70
		125	0.02	238.27	-	-

Tab. 4.2 Pendenza delle curve P-E (α) e intensità luminosa a cui avviene la saturazione (E_k) per gli esperimenti effettuati su *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus*

Il tasso fotosintetico aumenta linearmente con l'intensità luminosa fino a raggiungere un plateau, che corrisponde, sull'asse delle ordinate, al valore massimo del tasso fotosintetico (P_{max}).

In figura 4.13 è riportato un esempio di curva P-E per *Skeletonema marinoi*. Questa rappresenta l'andamento della fotosintesi in funzione di varie intensità luminose per la coltura cresciuta alla temperatura di 20°C, con luce pari a 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ed in condizione di nutrienti bilanciati. Come si vede dall'andamento della curva, viene raggiunto un plateau e poi decresce oltre i 300 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$; indice del fatto che *Skeletonema marinoi* cresciuta alle temperature estive (20 e 25°C) risulta essere foto-inibita se sottoposta ad alte intensità luminose.

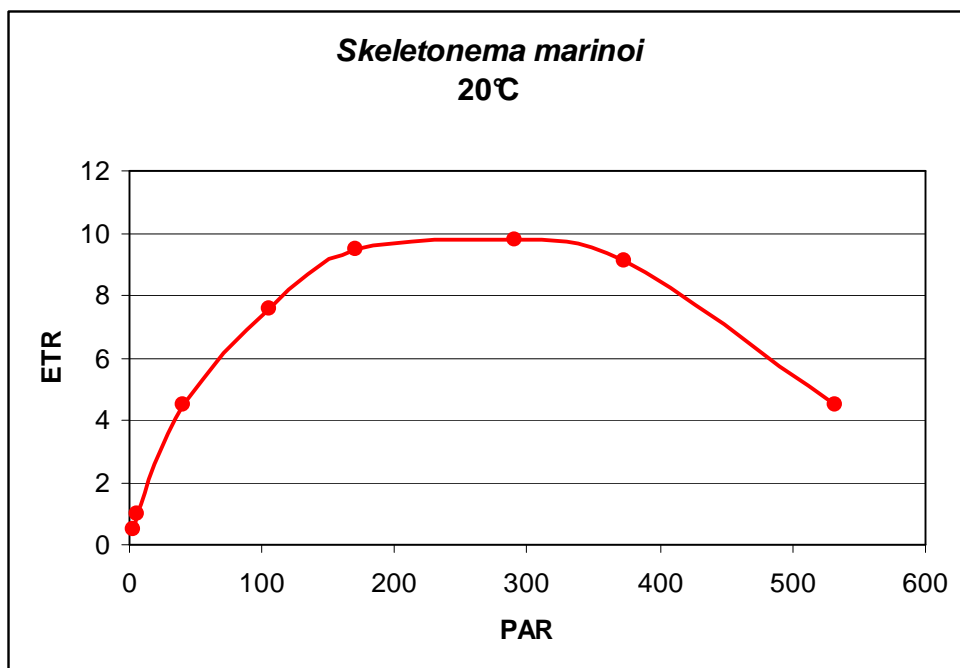


Fig. 4.13 curva P-I per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* effettuato alla temperatura di 20°C con luce pari a 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e N/P=16

Synechococcus elongatus cresciuto alle stesse condizioni di temperatura, luce e nutrienti, non presenta foto inibizione, anche se esposto ad alte intensità luminose (fig. 4.14)

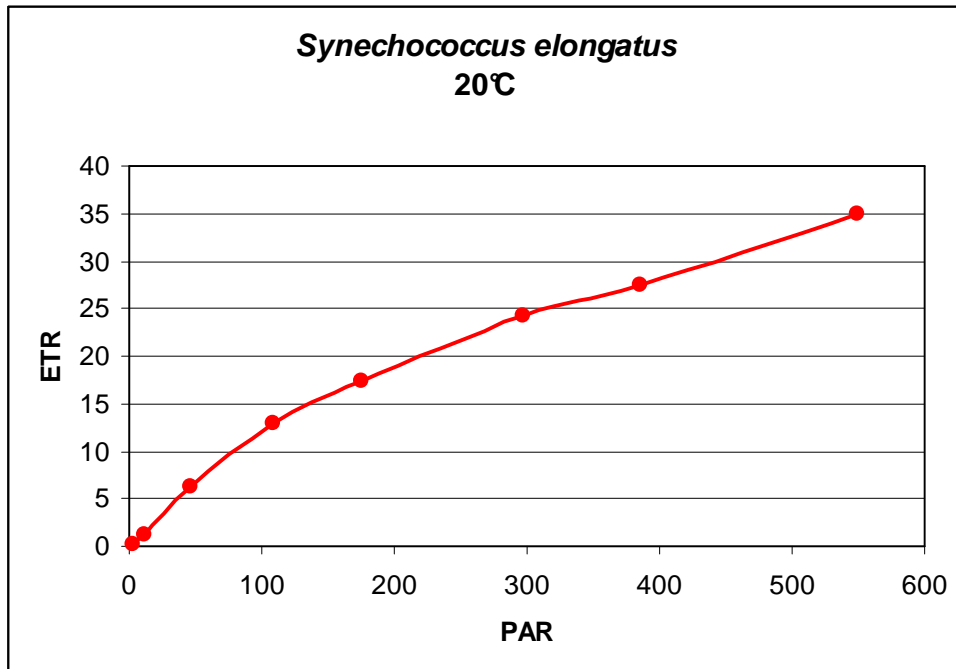


Fig. 4.14 curva P-E per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* effettuato alla temperatura di 20°C con luce pari a $225 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e N/P=16

Nelle tabelle 4.3 e 4.4 sono riportate le concentrazioni di nutrienti (nitrati e fosfati) in mmol/m^3 presenti nel terreno di coltura il primo giorno di esperimento (nitrati e fosfati iniziali) e nel giorno di raccolta (nitrati e fosfati finali), rispettivamente per *Skeletonema marinoi* e per *Synechococcus elongatus*.

Per entrambe le specie algali i fosfati vengono utilizzati in maniera molto maggiore rispetto ai nitrati che non vengono mai esauriti fino al giorno di raccolta. La presenza, in alcuni casi, di valori finali di nutrienti superiori a quelli iniziali può essere attribuito o 1) al fatto che essendo il valore iniziale rappresentato dal valore teorico, non si è tenuta in considerazione la presenza di una certa quantità di nutrienti nell'inoculo di alghe iniziale o 2) al fatto che tali colture hanno mostrato una crescita molto minore e alcune cellule possono essersi rotte e lisate rilasciando nutrienti nel mezzo.

Temp (°C)	N/P	Luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Nitrati Iniziali (mmol/m^3)	Nitrati Finali (mmol/m^3)	Fosfati Iniziali (mmol/m^3)	Fosfati Finali (mmol/m^3)
10 °C	16	125	116.43	95.24	7.40	0.00
		75	116.43	85.71	7.40	0.44
		30	116.43	114.29	7.40	2.11
	110	125	116.43	157.14	1.24	0.00
		75	116.43	142.86	1.24	4.06
		30	116.43	92.86	1.24	0.11
15°C	16	125	116.43	78.57	7.40	0.15
		75	116.43	100.00	7.40	2.59
		50	116.43	171.43	7.40	8.88
	110	125	116.43	135.71	1.24	0.41
		75	116.43	157.14	1.24	0.33
		50	116.43	128.57	1.24	Fuori scala
20°C	16	450	116.43	35.71	7.40	0.09
		225	116.43	35.71	7.40	0.07
		125	116.43	50.00	7.40	0.06
	110	450	116.43	42.86	1.24	0.13
		225	116.43	50.00	1.24	0.08
		125	116.43	71.43	1.24	0.05
25°C	16	450	116.43	52.38	7.40	0.00
		225	116.43	57.14	7.40	0.00
		125	116.43	85.71	7.40	1.18
	110	450	116.43	111.90	1.24	0.00
		225	116.43	85.71	1.24	0.07
		125	116.43	100.00	1.24	0.06

Tab. 4.3 concentrazioni di nutrienti (nitrati e fosfati) iniziali e finali (in mmol m^{-3}) per gli esperimenti di *Skeletonema marinoi*

Temp (°C)	N/P	Luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Nitrati Iniziali (mmol/m^3)	Nitrati Finali (mmol/m^3)	Fosfati Iniziali (mmol/m^3)	Fosfati finali (mmol/m^3)
15°C	16	125	116.43	85.71	7.40	0.24
		75	116.43	107.14	7.40	1.87
		30	116.43	128.57	7.40	3.58
	110	125	116.43	85.71	1.24	0.41
		75	116.43	92.86	1.24	0.10
		30	116.43	98.57	1.24	0.19
20°C	16	450	116.43	10.71	7.40	0.22
		225	116.43	31.43	7.40	0.13
		125	116.43	12.86	7.40	0.25
	110	450	116.43	40.00	1.24	0.20
		225	116.43	40.00	1.24	0.22
		125	116.43	38.57	1.24	-
25°C	16	450	116.43	8.57	7.40	0.07
		225	116.43	8.57	7.40	0.07
		125	116.43	8.57	7.40	0.00
	110	450	116.43	34.29	1.24	0.00
		225	116.43	21.43	1.24	0.39
		125	116.43	8.57	1.24	0.11

Tab. 4.4 concentrazioni di nutrienti (nitrati e fosfati) iniziali e finali (in mmol m^{-3}) per gli esperimenti di *Synechococcus elongatus*

Nelle Tabelle 4.5 e 4.6 sono riportati i valori di clorofilla a, peso secco, sostanza organica e carbonio organico misurati nelle colture alla fine dell'esperimento. I valori di clorofilla a e C organico sono stati utilizzati per i confronti con i modelli teorici effettuati successivamente.

Temp °C	N/P	Luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Chl a (mg/L)	Peso Secco (mg/L)	Sost. Organica (mg/L)	Carbonio organico (mg/L)
10 °C	16	125	0.12	237.75	65.25	8.14
		75	0.17	202.25	53.25	8.15
		30	0.95	208.75	65.75	2.67
	110	125	0.60	289.00	89.50	3.34
		75	0.90	161.50	52.50	3.48
		30	0.09	172.00	24.00	2.37
15 °C	16	125	0.20	261.25	73.75	10.35
		75	0.18	211.25	51.75	6.70
		50	0.06	239.75	57.75	3.03
	110	125	0.03	249.33	59.33	5.19
		75	0.11	256.00	72.50	7.13
		50	0.08	254.75	52.25	3.29
20 °C	16	450	0.09	92.00	63.50	11.70
		225	0.10	109.25	80.25	10.13
		125	0.12	75.25	51.50	9.91
	110	450	0.06	110.50	76.75	10.16
		225	0.07	105.50	75.25	10.51
		125	0.05	52.75	34.50	6.56
25 °C	16	450	0.02	73.50	50.00	7.51
		225	0.12	70.50	50.00	10.70
		125	0.03	51.00	38.00	4.14
	110	450	0.02	63.75	48.25	3.45
		225	0.05	58.75	42.25	5.62
		125	0.02	49.00	33.50	2.79

Tab. 4.5 concentrazioni di Clorofilla, peso secco sostanza organica (misurata mediante metodo delle ceneri) e carbonio organico (misurato tramite CHN) (in mg/L) per gli esperimenti con *Skeletonema marinoi*

Temp (°C)	N/P	Luce ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Chl a (mg/L)	Peso secco (mg/L)	Sost. Organica (mg/L)	Carbonio organico (mg/L) CHN
15°C	16	125	0.08	40.33	35.33	8.80
		75	0.04	30.00	21.00	5.50
		50	0.04	22.00	16.67	2.49
	110	125	0.03	37.33	30.67	9.07
		75	0.05	28.67	24.33	6.09
		50	0.04	19.67	14.33	2.87
20°C	16	450	0.10	110.19	96.31	15.48
		225	0.07	55.67	46.67	11.48
		125	0.22	101.83	89.33	18.46
	110	450	0.06	66.00	52.67	12.88
		225	0.05	61.83	51.00	9.80
		125	0.14	70.00	56.50	11.85
25°C	16	450	0.16	86.83	72.17	18.48
		225	0.20	90.50	77.50	21.98
		125	0.12	60.33	49.67	7.71
	110	450	0.08	56.83	47.67	11.34
		225	0.12	59.83	59.83	13.75
		125	0.20	64.67	55.33	14.34

Tab. 4.6 concentrazioni di Clorofilla, peso secco sostanza organica (misurata mediante metodo delle ceneri) e carbonio organico (misurato tramite CHN) (in mg/L) per gli esperimenti con *Synechococcus elongatus*

4.2 RISULTATI NUMERICI

E' stato effettuato un confronto sia quantitativo che qualitativo tra i dati di carbonio e clorofilla dedotti sperimentalmente in laboratorio con le simulazioni condotte con il modello numerico.

Gli errori delle simulazioni sono stati valutati utilizzando due indici espressi in percentuale: il BIAS percentuale (errore medio) e l'RMSE percentuale (Root Mean Square Error, errore quadratico medio).

Il BIAS percentuale o errore medio è definito come:

$$BIAS = \frac{1}{N} \sum \left(\frac{V_{p_i} - V_{o_i}}{V_{o_i}} \right) * 100 \quad (4.1)$$

Ed è una media aritmetica degli scarti riportati in percentuale tra i valori osservati (colture di laboratorio), e di quelli ottenuti dalle simulazioni numeriche. Poiché gli scarti positivi e negativi si compensano, in assenza di una tendenza sistematica a sovrastimare o a sottostimare il valore previsto, il BIAS dovrebbe essere pari a zero. Un BIAS positivo indica una prevalenza di scarti positivi tra valore simulato ed osservato e quindi una tendenza ad una sovrastima; viceversa un BIAS negativo indica una tendenza del modello numerico a sottostimare le osservazioni.

L'RMSE è definito come:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum \left(\frac{V_{p_i} - V_{o_i}}{V_{o_i}} \right)^2} * 100 \quad (4.2)$$

È un altro indicatore dell'accuratezza delle stime, che basandosi sui quadrati degli scarti, amplifica scostamenti dei valori simulati da quelli osservati di natura più estemporanea e localizzata nel tempo.

Questi due indici sono stati misurati per tre casi di studio (**CASO 1**, **CASO 2** e **CASO 7**) in tutti gli esperimenti e per entrambe le specie algali studiate (fig.2.2 e 2.3) e per le diverse formulazioni di f^T (tabella 3.4). Sono stati

inoltre calcolati i BIAS e i RMSE per tutte le condizioni di temperatura considerate, con una media pesata sulle intensità luminose (fig. 4.16, 4.18). Quest'ultimi consentono una visualizzazione complessiva di tutte le simulazioni effettuate. In tabella 4.7 sono riportate le osservazioni disponibili per il carbonio e la clorofilla negli esperimenti condotti considerando le quattro condizioni di temperatura e per entrambe le condizioni di nutrienti.

Temp (°C)	<i>Skeletonema marinoi</i>				<i>Synechococcus elongatus</i>			
	N° osservazioni		N° osservazioni		N° osservazioni		N° osservazioni	
	N/P = 16		N/P = 110		N/P = 16		N/P = 110	
	C	Chl	C	Chl	C	Chl	C	Chl
10°C	23	23	19	20	0	0	0	0
15°C	15	17	15	15	28	23	27	20
20°C	11	11	11	11	18	14	19	14
25°C	14	13	13	13	8	7	13	13

Tab. 4.7 numero di osservazioni effettuate negli esperimenti per clorofilla e carbonio, per le due specie algali

In figura 4.16 sono rappresentati i BIAS e gli RMSE percentuali per gli esperimenti condotti su *Skeletonema marinoi*. Risulta subito evidente il passaggio da valori simulati sottostimati a valori sovrastimati in relazione all'aumentare della temperatura. La sovrastima è particolarmente forte per le simulazioni condotte a 25°C.

Per consentire un migliore confronto in figura 4.17 sono riportati i BIAS e gli RMSE percentuali stimati alle temperature di 10, 15 e 20°C. Per entrambe le condizioni di nutrienti i tre casi di studio condotti utilizzando un

f^T maggiormente restrittivo presentano errori quadratici medi di gran

lunga inferiori rispetto ai medesimi casi con la formulazione Q_{10} , tranne che per il carbonio alla temperatura di 15°C e la clorofilla a 25°C, stimati in condizioni di limitazione da fosforo (fig. 4.16(b) e 4.17(b)). Inoltre, in

condizioni di nutrienti bilanciati, il modello numerico tende a sovrastimare i dati osservati, sia il carbonio che la clorofilla, alle temperature di 15, 20 e 25°C, mentre a 10°C si ha una sottostima. In condizioni di nutrienti sbilanciati il trend generale è di una sottostima del carbonio ed una sovrastima della clorofilla. Differisce da questo andamento il carbonio alla temperatura di 25°C, che come già detto viene nettamente sovrastimato, e la clorofilla a 10°C che presenta un BIAS negativo.

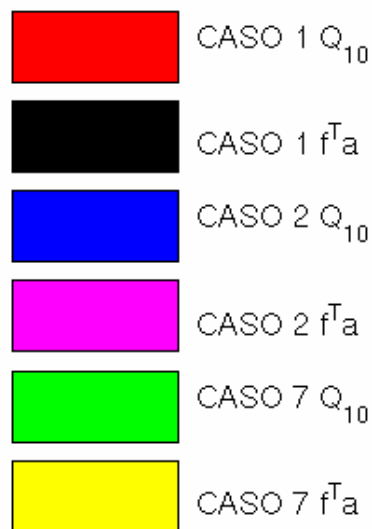


Fig .4.15 legenda per tre casi di studio con la formulazione Q_{10} (CASO 1 Q_{10} , CASO 2 Q_{10} , CASO 7 Q_{10}), e con i valori di f^T assegnati (CASO 1 f^T_a , CASO 2 f^T_a , CASO 7 f^T_a)

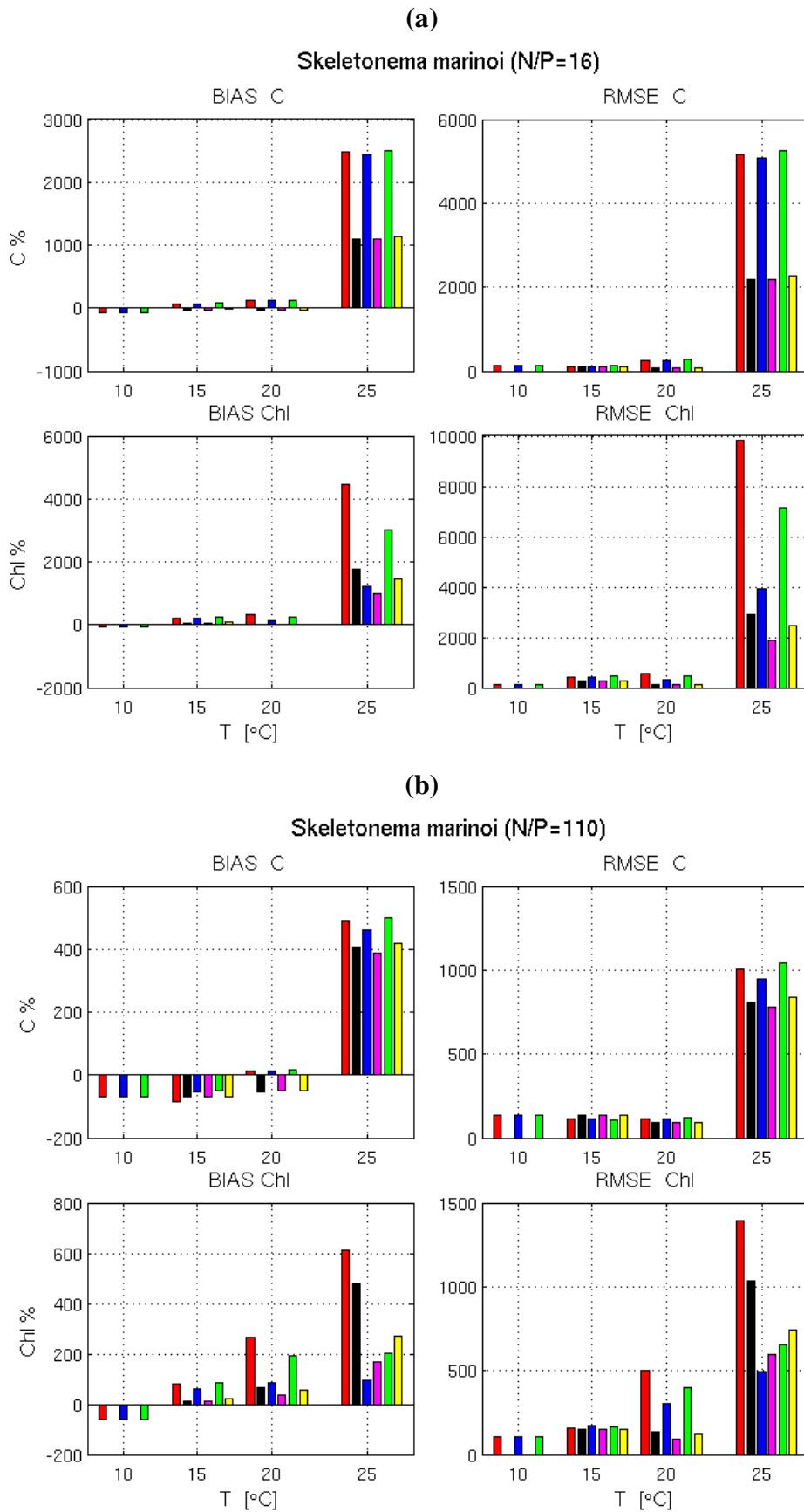


Fig. 4.16 BIAS e RMSE percentuale per carbonio e clorofilla, negli esperimenti di *Skeletonema marinoi* effettuati alle 4 temperature con N/P=16 **(a)** e N/P = 110 **(b)**

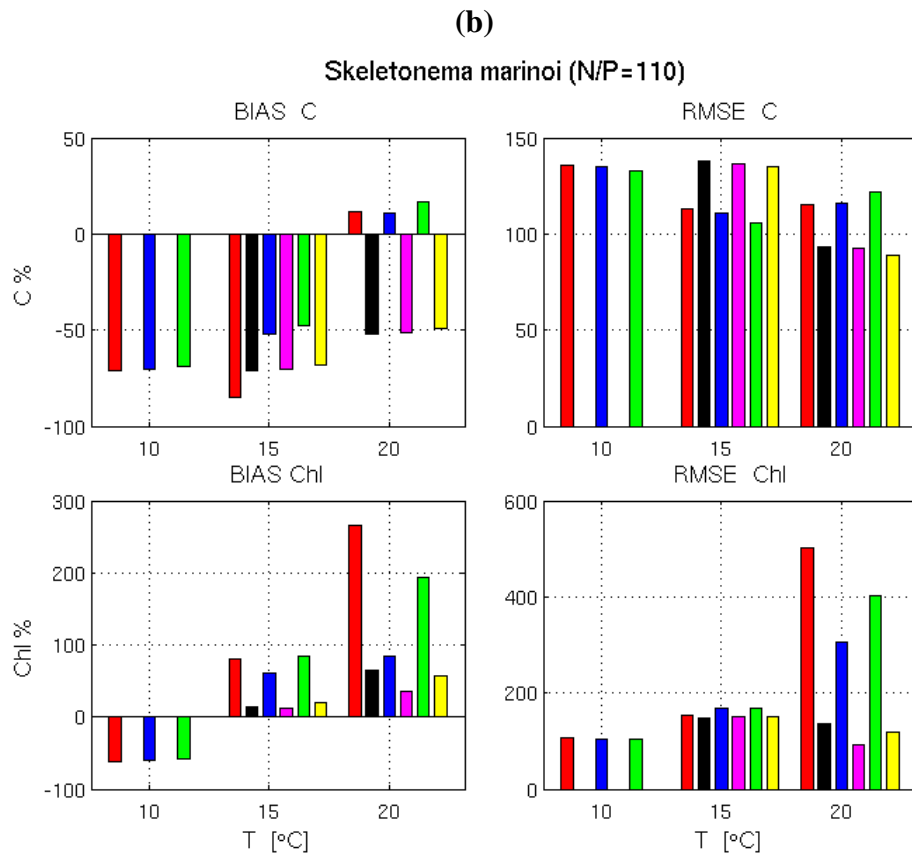
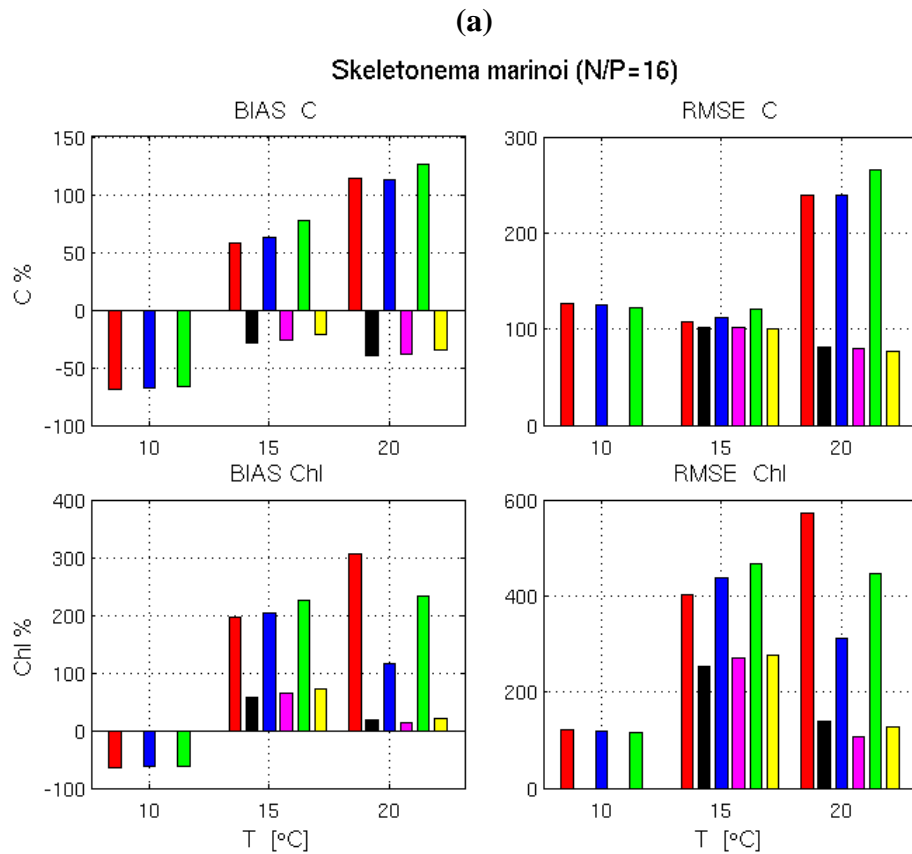


Fig. 4.17 BIAS e RMSE percentuale per carbonio e clorofilla, negli esperimenti di *Skeletonema marinoi* effettuati alle temperature di 10, 15 e 20°C con N/P=16 (a) e N/P = 110 (b)

Per *Synechococcus elongatus* (fig. 4.18) la simulazione con il minore errore quadratico medio, che quindi si avvicina maggiormente ai dati osservati, è quella condotta a 25°C. Negli esperimenti con un rapporto N/P = 16 (fig. 4.18 (a)), sono stati calcolati, come per *Skeletonema marinoi*, BIAS positivi, il modello mostra quindi la tendenza a sovrastimare i dati osservati. La clorofilla alla temperatura di 25 °C viene sottostimata. In condizione di limitazione da fosforo è stata ottenuto un BIAS positivo solo per il carbonio alla temperatura di 20 °C e per la clorofilla solo nel caso di studio **1**. Anche in questa condizione, come per *Skeletonema marinoi*, il modello tende a sottostimare. Effettuando un confronto tra le simulazioni che seguono la formulazione Q_{10} e quelle con i valori di f^T , imposti a priori, quest'ultime, in entrambe le condizioni di nutrienti, raggiungono RMSE minori.

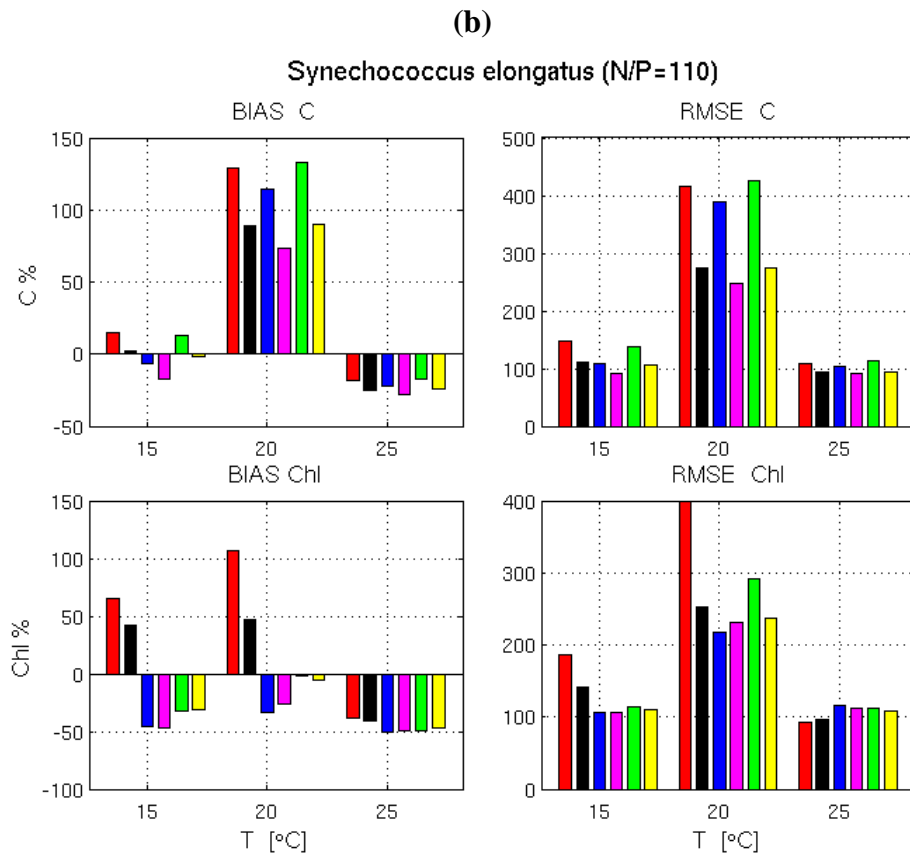
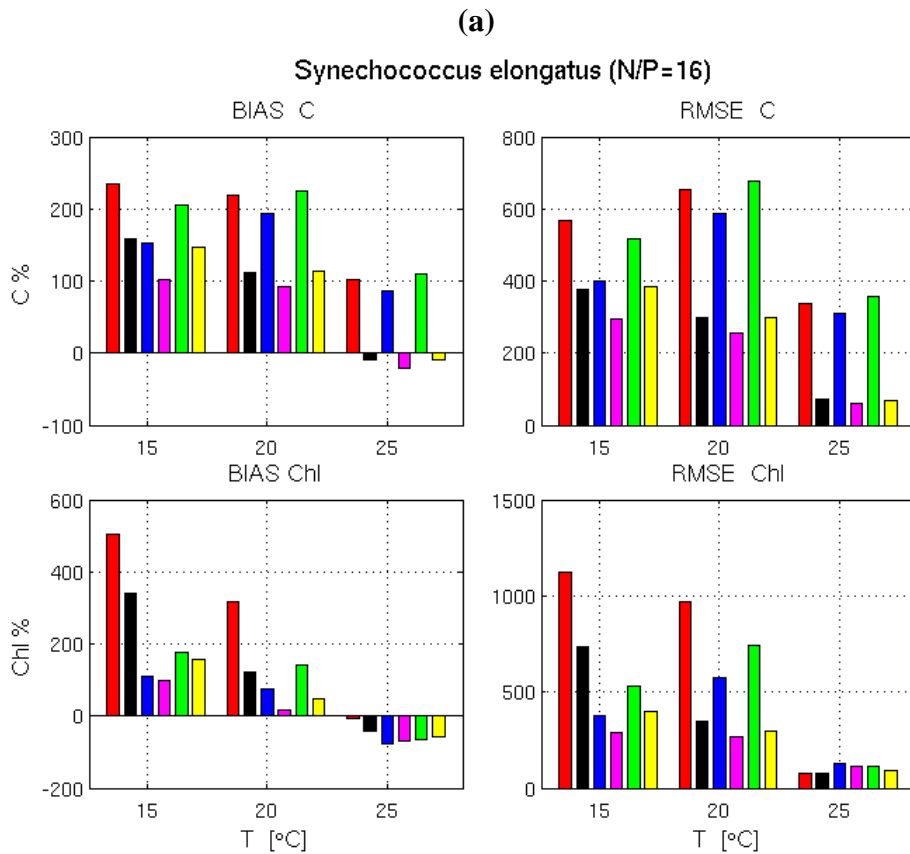


Fig. 4.18 BIAS e RMSE percentuale per carbonio e clorofilla, negli esperimenti di *Synechococcus elongatus* effettuati alle temperature di 10, 15 e 20°C con N/P=16 (a) e N/P = 110 (b)

Nella figura 4.19 sono rappresentati i BIAS e gli RMSE percentuali calcolati per entrambe le specie algali alla temperatura di 15°C in condizioni di nutrienti bilanciati ($N/P = 16$), per le tre intensità luminose esaminate (30, 75 e 125 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Sia per *Skeletonema marinoi* (fig. 4.19 (a)) che per *Synechococcus elongatus* (fig. 4.19 (b)) si osserva la tendenza generale ad una sovrastima da parte del modello, che con i valori di f^T più restrittivi si avvicina maggiormente ai dati osservati. Negli esperimenti con intensità luminosa più bassa (30 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) il modello raggiunge RMSE minori, salvo che per la clorofilla di *Skeletonema marinoi* (fig. 4.19 (a)) che ha un errore minore a 75 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

(a)

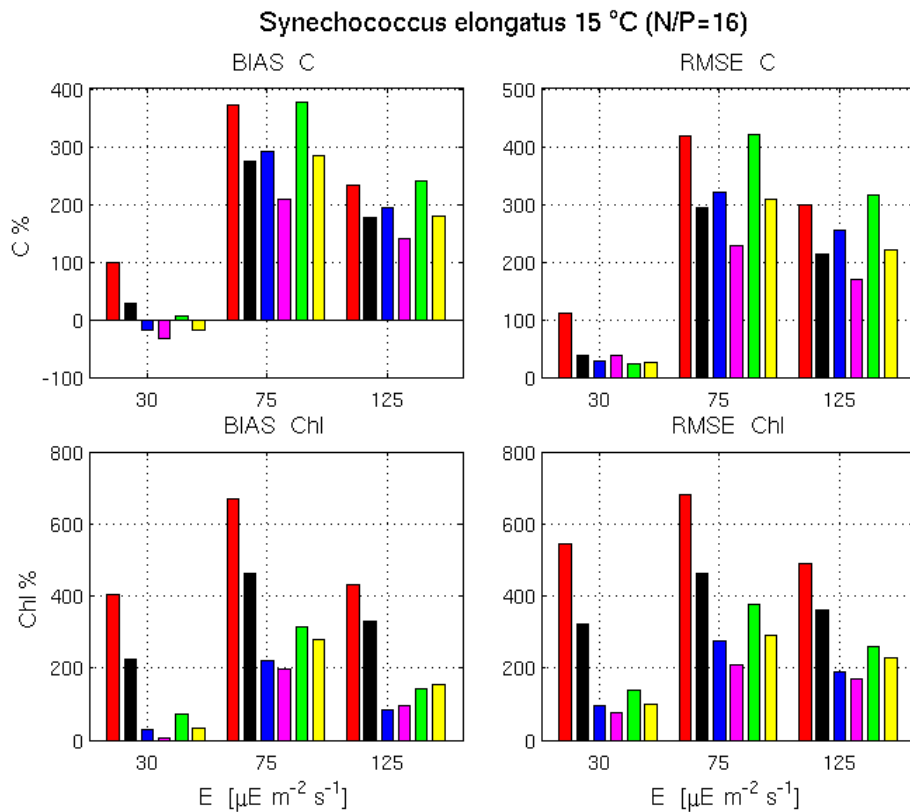
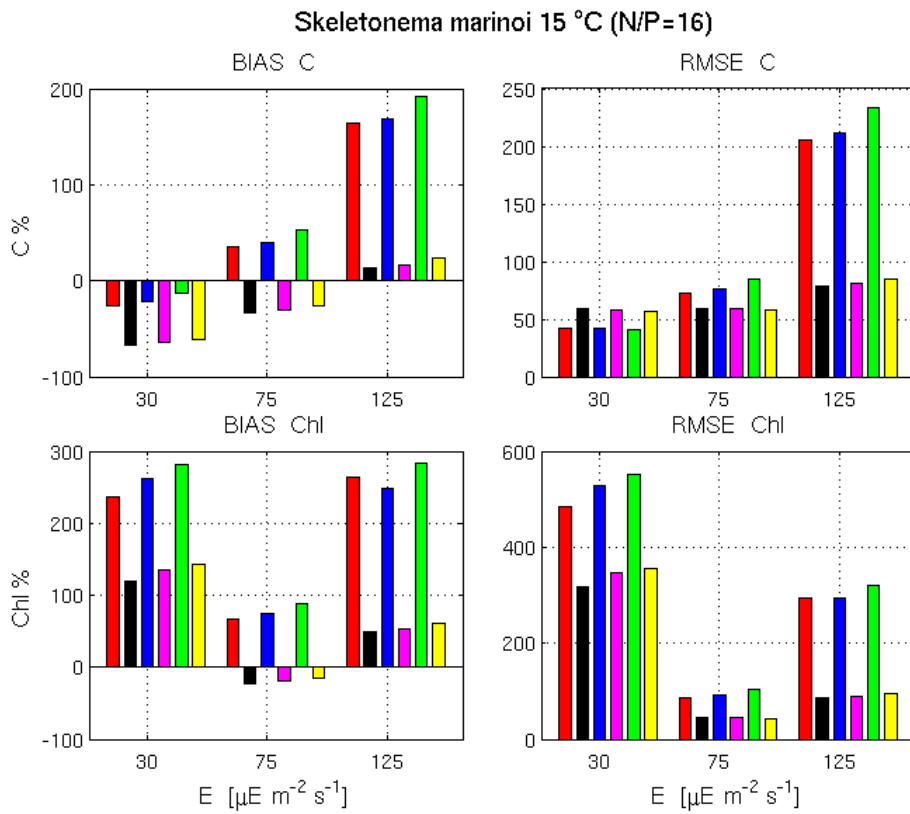


Fig. 4.19 BIAS e RMSE percentuale per carbonio e clorofilla alla temperatura di 15°C e con N/P = 16, per le tre condizioni di luce. *Skeletonema marinoi* (a) e *Synechococcus elongatus* (b)

Per effettuare un confronto di tipo qualitativo tra le simulazioni numeriche ed i dati di carbonio organico e clorofilla a dedotti dalle analisi di laboratorio, riportiamo di seguito gli andamenti dei diversi casi di studio per alcuni esperimenti condotti.

In figura 4.20 sono rappresentati gli andamenti dei dieci casi di studio effettuati con il modello numerico per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* alla temperatura di 10°C, in condizione di nutrienti bilanciati e con un'intensità luminosa pari a 125 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Come si può osservare dal grafico, sia per il carbonio (a) che per la clorofilla (b), tutti i casi di studio riescono a riprodurre l'andamento dei dati. E' confermata la tendenza generale del modello alla temperatura di 10°C, come mostrato in figura 4.15, a sottostimare i dati osservati, in particolar modo per quanto riguarda il carbonio. Mantenendo la temperatura costante ma diminuendo la luce fino a 30 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con lo stesso rapporto di nutrienti (fig. 4.21), la sottostima del modello si accentua, tranne che nei casi di studio **3** e **4**, che come spiegato nel capitolo 3.2, presentano una dipendenza indiretta nella formula di ρ_{chl} dal fattore della luce f_P^E . Tuttavia, nonostante la sottostima, anche a basse intensità luminose il modello riesce a riprodurre il trend dei dati.

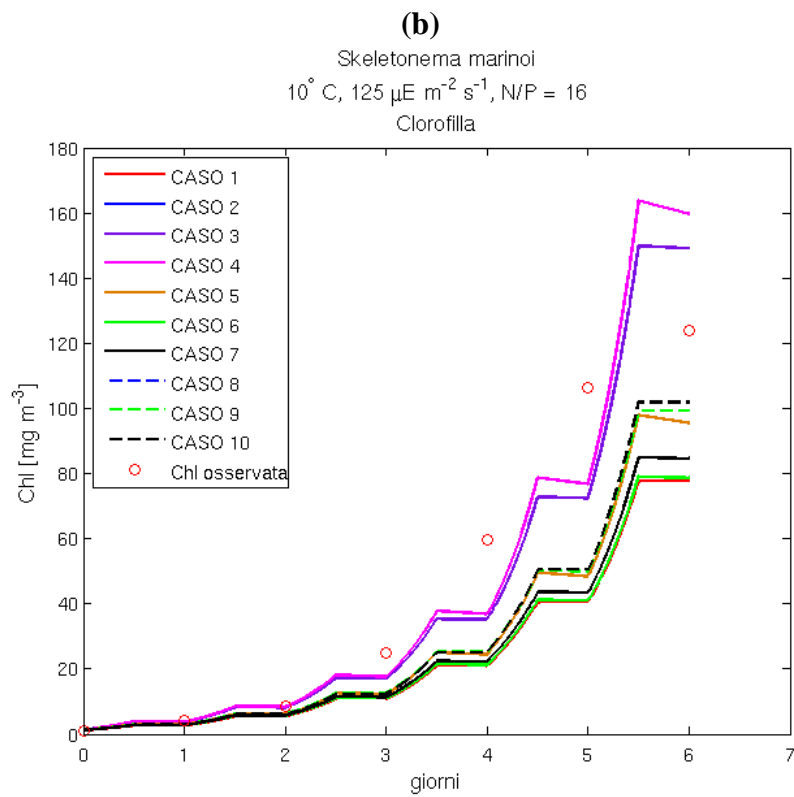
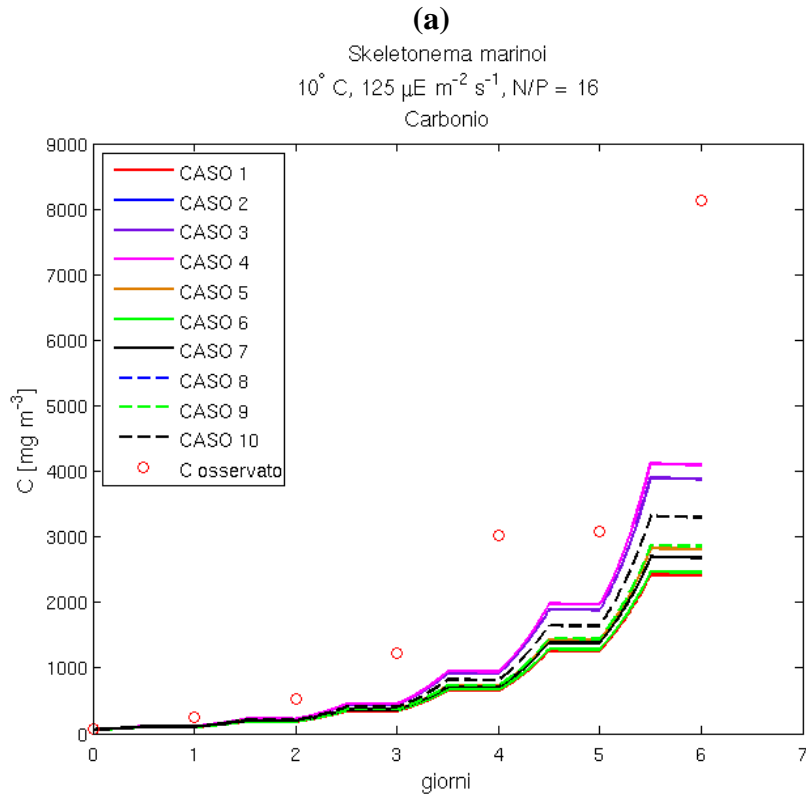


Fig. 4.20 confronto tra gli andamenti dei 10 casi di studio simulati con il modello numerico ed i dati di carbonio **(a)** e clorofilla **(b)** per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 10°C , con luce pari a $125\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ed $\text{N/P} = 16$

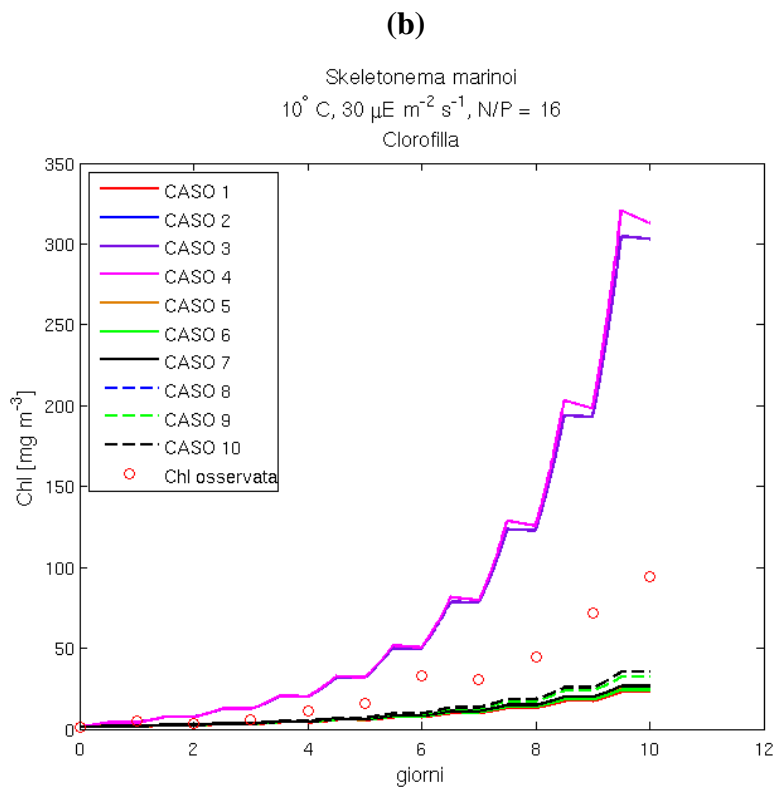
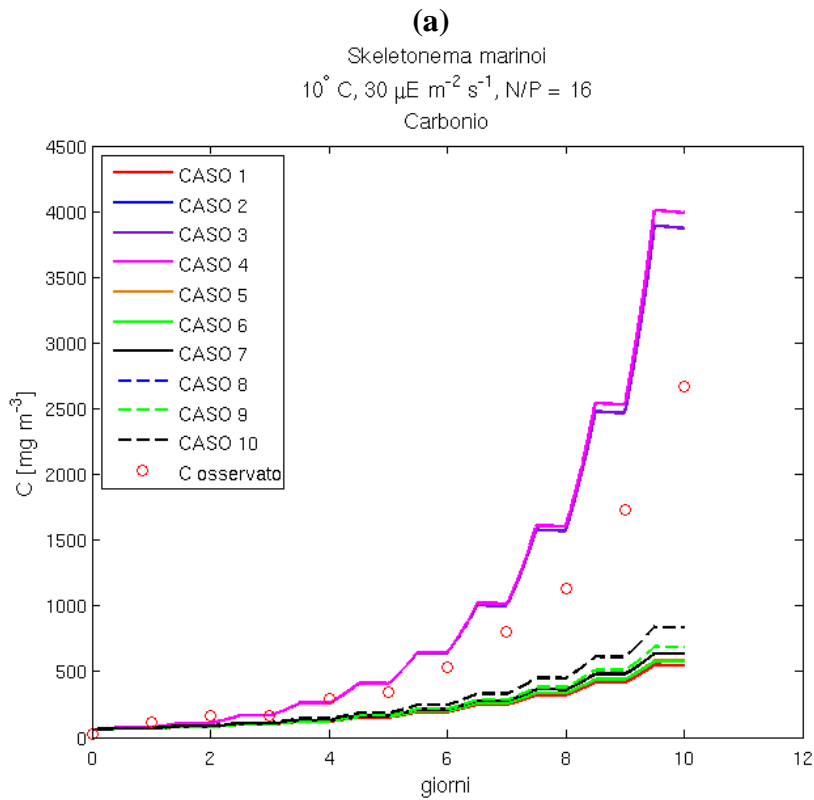


Fig. 4.21 confronto tra gli andamenti dei 10 casi di studio simulati con il modello numerico ed i dati di carbonio **(a)** e clorofilla **(b)** per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 10°C , con luce pari a $30\ \mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ed N/P = 16

In figura 4.22 è rappresentato l'esperimento per *Skeletonema marinoi* a 15°C, in carenza di fosforo, con luce pari a $75 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ per i dieci casi di studio con la formulazione del Q_{10} e per i tre casi con i valori più restrittivi assegnati alla funzione f^T . Anche in questo caso tutte le simulazioni riescono a riprodurre l'andamento dei dati sia per il carbonio che per la clorofilla. Si è riscontrata una notevole sottostima del carbonio, probabilmente dovuta alla condizione di limitazione da fosforo. Per quanto riguarda la clorofilla tutte le simulazioni sono confrontabili sia qualitativamente che quantitativamente con i dati campionati. Inoltre i tre casi con la nuova dipendenza della temperatura presentano uno scarto molto maggiore rispetto ai dati.

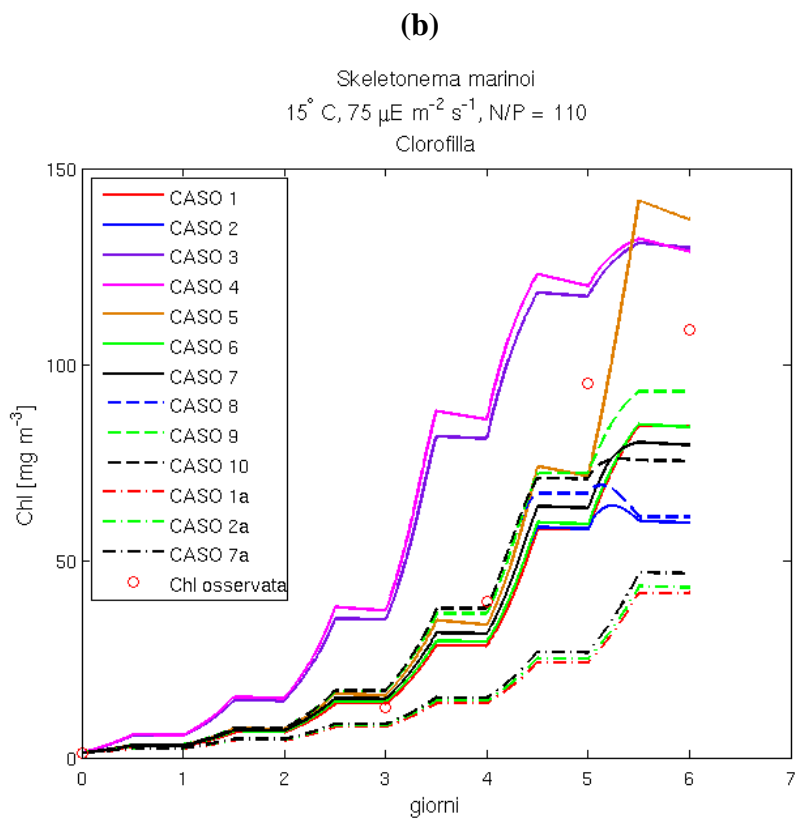
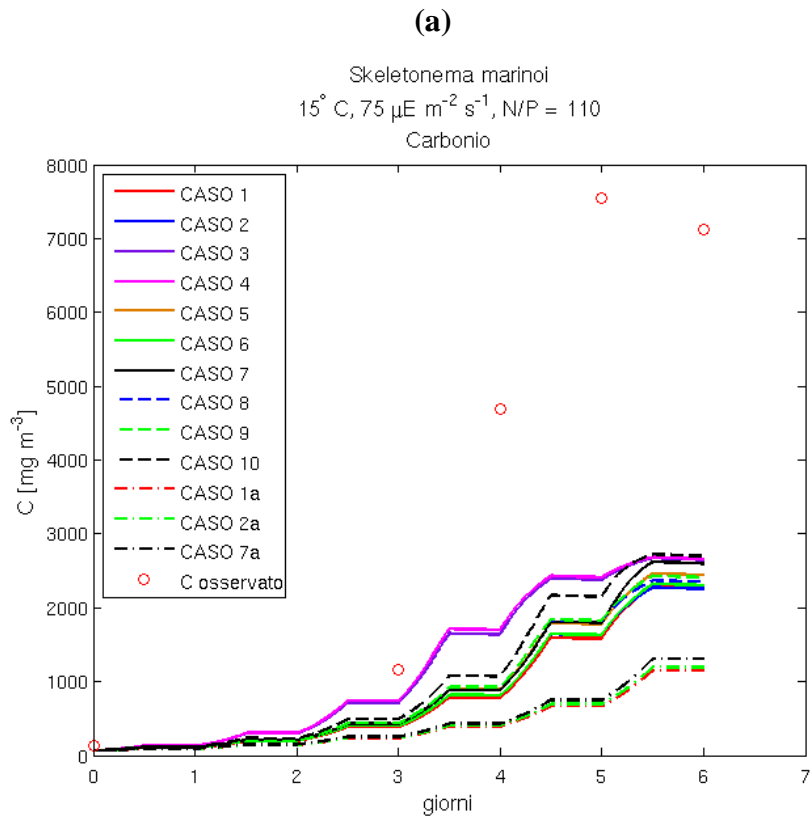


Fig. 4.22 confronto tra gli andamenti dei 10 casi di studio simulati con il modello numerico ed i dati di carbonio **(a)** e clorofilla **(b)** per l'esperimento di *Skeletonema marinoi* a 15°C, con luce pari a 75 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ed N/P = 110

Riportiamo infine gli andamenti simulati per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 20°C, con intensità luminosa di 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e nutrienti bilanciati per le temperature di 20°C (fig. 4.23) e 25°C (fig. 4.24). I casi di studio simulati a 20°C non riescono a riprodurre correttamente l'andamento dei dati, anche se quantitativamente raggiungono valori confrontabili. Mentre per il carbonio (fig. 4.23(a)) tutti i casi di studio presentano lo stesso andamento, per la clorofilla (fig. 4.23(b)) si osserva nei casi **1**, **4** e **5** una sovrastima dei dati, mentre negli altri casi, dopo un picco di crescita nei primi giorni di coltura, si ha un calo repentino dovuto all'esaurimento dei nutrienti. Questo si osserva in particolar modo per il caso **10** che esaurisce completamente i nutrienti dopo l'ottavo giorno.

Aumentando la temperatura e mantenendo costante l'intensità luminosa e la concentrazione di nutrienti (fig. 4.24) il modello simula l'andamento dei dati con una sottostima per carbonio (fig. 4.24(a)). Sia per il carbonio che per la clorofilla gli andamenti nel tempo sono compatibili con quelli dell'esperimento a 20°C.

Utilizzando la dipendenza della temperatura con i valori più restrittivi, per entrambi gli esperimenti, la crescita fitoplanctonica simulata diventa maggiormente comparabile con quella dei dati, soprattutto nei primi giorni di crescita.

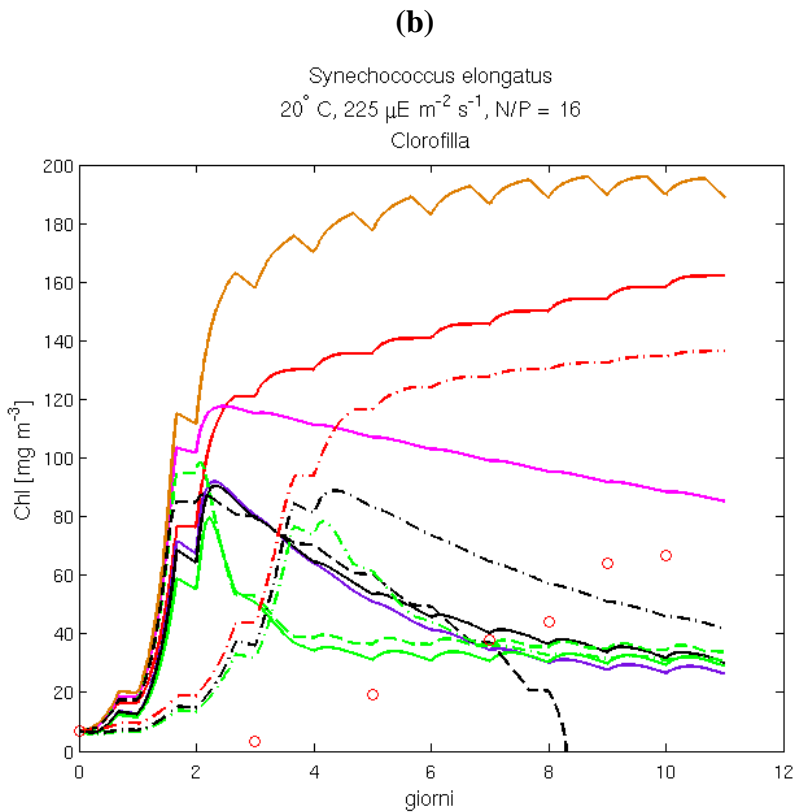
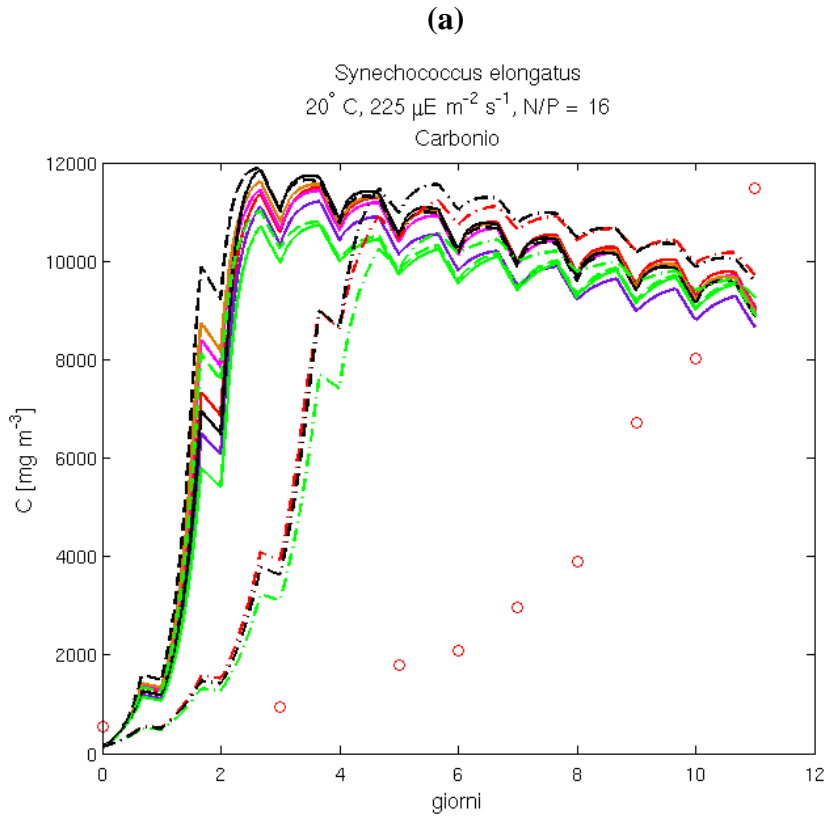


Fig. 4.23 confronto tra gli andamenti dei 10 casi di studio simulati con il modello numerico ed i dati di carbonio **(a)** e clorofilla **(b)** per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 20°C, con luce pari a 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ed N/P=16

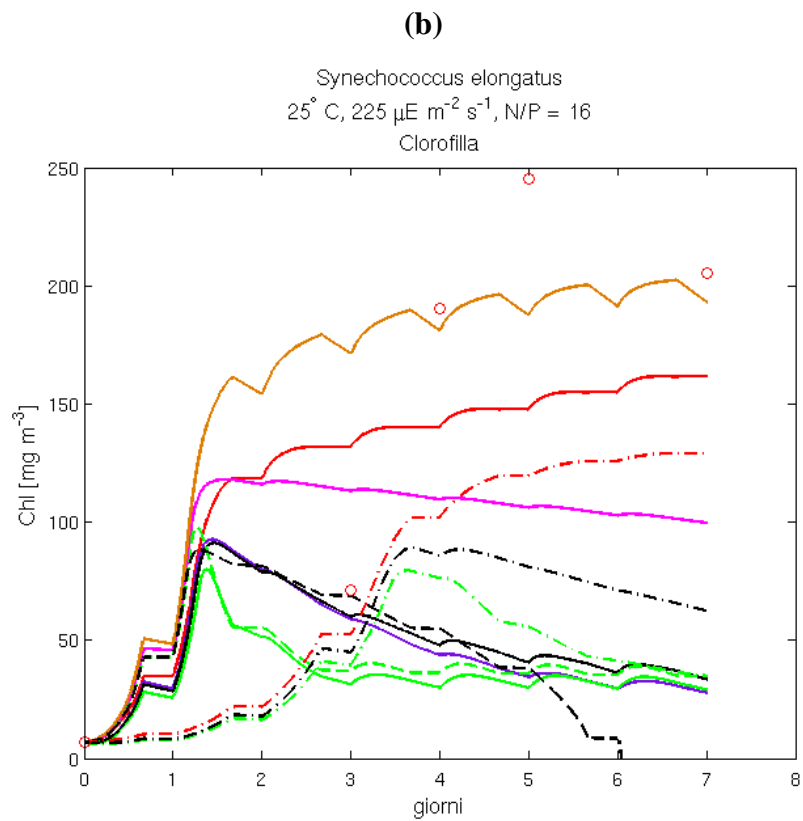
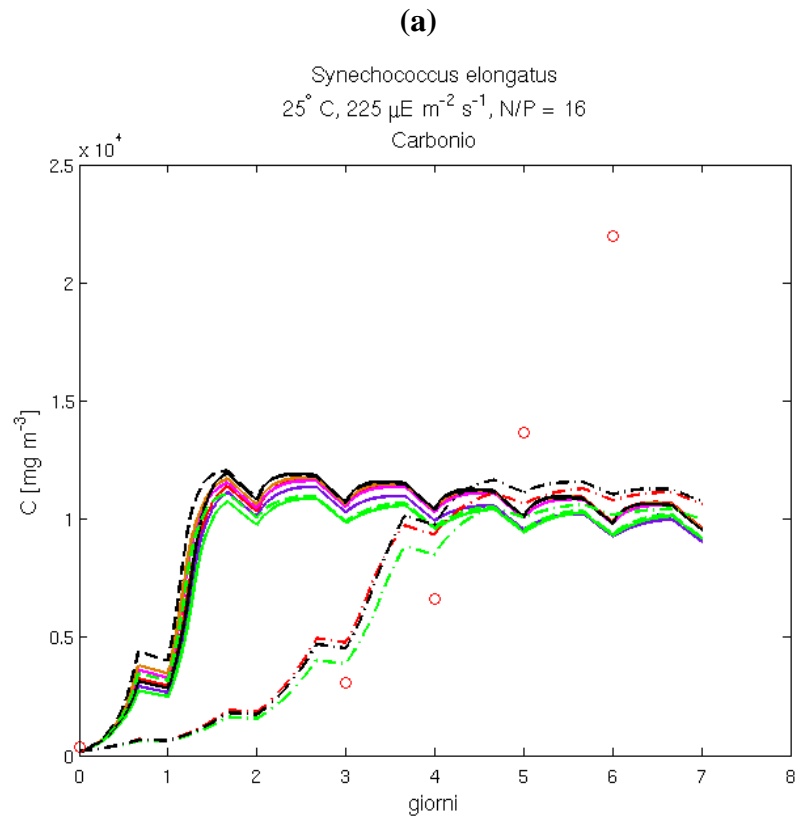


Fig. 4.24 confronto tra gli andamenti dei 10 casi di studio simulati con il modello numerico ed i dati di carbonio **(a)** e clorofilla **(b)** per l'esperimento di *Synechococcus elongatus* a 25°C, con luce pari a 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ed N/P=16

5 CONCLUSIONI

Le colture di laboratorio condotte su *Skeletonema marinoi* e *Synechococcus elongatus* variando luce, temperatura e concentrazione di nutrienti indicano chiaramente che il principale fattore ambientale che influenza l'evoluzione temporale delle due specie fitoplanctoniche è la temperatura. Infatti a parità di intensità luminosa e concentrazioni di nutrienti le velocità di crescita per entrambe le specie studiate crescono progressivamente con l'aumentare della temperatura. *Synechococcus elongatus* è ancora più limitato dalle basse temperature. Non cresce infatti in nessuna delle condizioni di luce e nutrienti condotte alla temperatura di 10 °C,

Skeletonema marinoi alle temperature invernali (10 e 15°C) presenta una crescita molto maggiore e più rapida rispetto a *Synechococcus elongatus*, che raggiunge le sue condizioni ambientali ottimali alle alte temperature (in particolar modo a 25°C). Inoltre alle temperature estive (20 e 25°C) i dati sull'efficienza fotosintetica hanno indicato che *Skeletonema marinoi* risulta essere foto-inibita; questo fenomeno si traduce in una minore produzione di sostanza organica in condizioni di luce elevata.

Per quanto riguarda le simulazioni, anch'esse hanno indicato il ruolo molto significativo della temperatura nell'influenzare la dinamica fitoplanctonica. Inoltre la progressiva sovrastima dei valori osservati al crescere della temperatura sembra confermare questa conclusione.

Utilizzando un f^T maggiormente restrittivo è stata ottenuta una minore sovrastima che però permane per le simulazioni condotte ad elevata intensità luminosa.

Pertanto è possibile concludere che il modello numerico necessita di una parametrizzazione degli effetti della temperatura maggiormente limitante rispetto a quella ottenuta utilizzando l'equazione (3.16).

Per quanto riguarda la luce, la definizione di f^E può essere ritenuta soddisfacente, ma la parametrizzazione di tale formula risulta ancora influenzata da una notevole incertezza, specialmente per quanto riguarda la scelta dei parametri (tab. 3.3), che non sono facilmente desumibili dalla letteratura scientifica.

Negli esperimenti effettuati con *Skeletonema marinoi* cresciuto in carenza di fosforo, il modello numerico tende a sottostimare il carbonio, eccetto che alla temperatura di 25°C, dove sia il carbonio che la clorofilla sono nettamente sovrastimati. Inoltre il modello riesce a riprodurre, sia quantitativamente che qualitativamente, il trend stagionale invernale (10 e 15°C) della crescita fitoplanctonica. Il minore RMSE è stato osservato alla temperatura di 10°C, dove viene effettuata una sottostima in entrambe le condizioni di nutrienti.

Anche per *Synechococcus elongatus* in condizioni di nutrienti sbilanciati si osserva una generale sottostima. Il modello tende invece a sovrastimare a 20°C, dove si è ottenuto il massimo RMSE per questa specie algale. Le simulazioni hanno mostrato alcune difficoltà nel riprodurre l'andamento dei dati nella classe dimensionale del pico-fitoplancton.

In conclusione, è possibile affermare che questa tesi ha iniziato con successo la messa a punto di una metodologia integrata per lo studio dell'ecosistema marino, sia di laboratorio che di modellistica numerica, di tipo innovativo e che le misure ottenute mostrano l'importanza di consolidare un metodo sperimentale di laboratorio per la formulazione delle leggi empiriche da utilizzarsi nella modellistica numerica.

6 BIBLIOGRAFIA

- Anning T., MacIntyre H.L., Pratt S.M., Sammes P.J., Gibb S., Geider R.J., (2000) Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum*, *Limnol. Oceanogr.*, 45(8), 1807-1817
- Baretta J., Ebenhöh W., and Ruardij P., (1995), The European Regional Seas Ecosystem Model, a complex marine ecosystem model, *J. Sea Res.* **33** (3–4), pp. 233–246
- Baretta J., and Rasmussen E., (1995), The microbial food web in the European Regional Seas Ecosystem Model, *J. Sea Res.* **33** (3–4), pp. 363–379.
- Behrenfeld M.J., Prasil O., Babin M., Bruyant F., (2004), In search of a physiological basis for covariation in light-limited and light-saturated photosynthesis, *J. Phycol.* 40, 4-25
- Blackford J.C., Allen J.I., and Gilbert F.J., (2004), Ecosystem dynamics at six contrasting sites: a generic modelling study, *J. Mar. Syst.*, 52, 191-215
- Boni L., Ceredi A., Guerrini F., Milandri A., Pistocchi R., Poletti R., Pompei M., (2001), Toxic *Protoceratium reticulatum* (Peridiniales, Dinophyta) in the North-Western Adriatic Sea (Italy) in: Harmful Algal Blooms 2000. Hallegraeff G.M., Blackburn S.I., Bloch C.J., Lewis R.J. (eds.), Intergov. Oceangr. Comm., Paris., p.137-40
- Brown S.L., Landry M.R., Barber R.T., Campbell L., Garrison D., Gowing M.M. (1999) Picophytoplankton dynamics and production in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon, *Deep-Sea Research II*, 46, 1745-1768
- Ciminiello P., Dell'Aversano C., Fattorusso E., Forino M., Magno S., Tartaglione L., Cangini M., Pompei M., Guerrini F., Boni L., Pistocchi R., (2006), Toxin profile of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) from the Northern Adriatic Sea revealed by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon* 47:597-604
- Droop M.R., (1973), Some thoughts on nutrient assimilation in algae, *Journal of Phycology* 9, 264-272

- Droop M.R., (1975), The nutrient status of algal cells in batch cultures, *Journal of Marine Biology Association the United Kingdom* 54, 835-855
- Montagnes D.J.S., Franklin D.J., (2000), Effect of temperature on diatom volume, growth rate, and carbon and nitrogen content: Reconsidering some paradigms, *Limnol. Oceanogr.* 46(8), 2008-2018
- Geider R.J., MacIntyre H.L., Kana T.M., (1996), A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.*, 41(1), 1-5
- Ghirardelli E., (1981), *il nostro universo La vita nelle acque*, Utet
- Giordani P., Hammond D.E., Berelson W.M., Montanari G., Poletti R., Milandri A., Frignani M., Langone L, Ravaioli M., Rovatti G., Rabbi E., (1992), Benthic fluxes and nutrient budgets for sediments in the Northern Adriatic Sea: burial and recycling efficiencies, *Total Environ.* 251-275
- Glover H.E., Keller M.D., Guillard R.R.L., (1986), Light quality and oceanic ultraphytoplankters, *Nature (Lond)*, 319, 142-143
- Goldman J.C., and Peavey D.G., (1979), Steady-state growth and chemical composition of the marine chlorophyte *Dunaliella tertiolecta* in nitrogen-limited continuous culture, *appl. Environ. Microbiol.*, 38, 894-901(1990) Vertical and horizontal structure in the picoplankton communities of a coastal upwelling system, *Mar. Biol.*, 106, 465-471
- Guerrini F., Cangini M., Boni L., Trost P., Pistocchi R., (2000), Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (bacillariophyceae) to nutrient limitation, *J. Phycol.* 36,882-890
- Heatcote P., Wyman M., Carr N.G., Beddard G.S., (1992), Partial uncoupling of energy transfer from phycoerythrin in the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH 7803, *Biochimica et Biophysica acta*, 1099, 267-270
- Johnson P.W., Sieburth J.McN., (1979), Chroococcoid cyanobacteria in the sea: an ubiquitous and diverse phototrophic biomass, *Limnol. Oceanogr.*, 24,928-935

- Goldman J.C., Carpenter E.J., (1974), A kinetic approach to the effect of temperature on algal growth, *Limnol. Oceanogr.*, v.19(5)
- MacIasaac E.A., Stockner J.G., (1993), Enumeration of Phototrophic Picoplankton by Autofluorescence Microscopy. In: Kemp P.F., Sherr, B.F., Sherr E.B. and Cole J.J., *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*, Lewis Publishers, 187-197
- MacIntyre H.L., Kana T.M., Anning T., Geider R., Photoacclimation of Photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria, *J. Phycol* 38, 17-38 (2002)
- Marchigiani M., Mirra M., (1988), *Vita e microrganismi*, vol.I, Piccin
- Marshall W., Darley, (1982), *Algal biology: physiological approach*, Blackwell
- Modigh M., Saggiorno V., Ribera d'Alcalà M., (1996), Conservative features of picoplankton in a Mediterranean eutrophic area, the Bay of Naples, *J. Plankton Res.* 18, 87-95
- Moreira-Turq P.F., Cauwet G., martin J.M., (2001), Contribution of flow cytometry to estimate picoplankton biomass in estuarine system, *Hidrobiologia* 462 (1-3): 157-168
- Murphy L.S., Haugen E.M., (1985), The distribution and abundance of phototrophic ultraplankton in the North Atlantic, *Limnol. Oceanogr.*, 30: 47-58
- Paerl H.W., (1984), Cyanobacterial carotenoids: their roles in maintaining optimal photosynthetic production among aquatic bloom forming genera, *Oecologia*, 61, 143-149
- Pistocchi R., Cangini M., Totti C., Urbani R., Guerrini F., Romagnoli T., Sist P., Palamidesi S., Boni L., Pompei M., (2005), Relevance of the Dinoflagellate *Gonyaulax fragilis* in mucilage formations of the Adriatic Sea. *Sci Tot Env* 307-316
- Platt T., Gallegos C.L., and Harrison W.G., (1980), Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton, *J. Mar. Res.*, 38: 687-701

- Polimene L., Pinardi N., Zavatarelli M., and Collela S., (2006), The Adriatic Sea ecosystem seasonal cycle: Validation of a three-dimensional numerical model, *J. Geophys. Res.*, III, C03S19, doi:10.1029/2005JC003260
- Pugnetti A., Bastianini M., Acri F., Bernardi Aubry F., Bianchi F., Boldrin A., Socal G., (2000), *Comunità fitoplanctoniche e climatologia nell'Adriatico Settentrionale*, Istituto di Scienze Marine, CNR, Venezia, Italia
- Radic J., (2006), Picoplankton and nanoplankton along the Po-Rovignj transect between 1990 and 2001, M.Sc Thesis, University of Zagreb, Zagreb, p 106
- Revelante N., Gilmartin M., (1995), The relative increase of larger phytoplankton in a subsurface chlorophyll maximum of the northern Adriatic Sea, *J. Plankton Res.*, 17, 1535-1462
- Russo A., Artegiani A., (1996), Adriatic Sea hydrography, *Sci. Mar.*, 60: 33-43
- Sakshaug E., Bricaud A., Dandonneau Y., Falkowski P.G., Kiefer D.A., Legendre L., Morel A., Parslow J., and Takahashi M., (1997), Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results, *Journal of Plankton Research*, vol.19,no 11,1637-1670
- Stockner Y.G., Antia N.J., (1986), Algal picoplankton from marine and freshwater ecosystem. A multidisciplinary prospective. *Can. J. Fish. Acquatic. Sci.*, 43, 2472-2503
- Strickland J.D.H., Parson T.R., *A practical Handbook of seawater analysis*, (1972), Fisheries Research Board of Canada. Bulletin N.167, 310 pp.Ottawa
- Sun J., Liu D., (2003), Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton, *Journal of plankton research*, v.25(11), 1331-1346
- Tett P., Cottrell J.C., Trew D.O., Wood B.J.B., (1975), Phosphorus quota and the chlorophyll: carbon ratio in marine phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.*, v.20(4)

- Vanucci S., Acosta Pomar M.L.C., Maugeri T.L., (1994), Seasonal Pattern of Phototrophic Picoplankton in the Eutrophic Coastal Waters of the Northern Adriatic Sea. *Botanica Marina*, 37, 57-66
- Venturelli E.F., Virli L., (1995), *Invito alla botanica*, ZANICHELLI
- Vichi M., Pinardi N., Masina S., (2007), A generalized model of pelagic biogeochemistry for the global ocean eco system. Part I: Theory, *Journal of Marine System* 64, 89-109
- Vichi M., Masina S., Navarra A., (2007), A generalized model of pelagic biogeochemistry for the global ocean eco system. Part II: Numerical simulations, *Journal of Marine System* 64, 110-134
- Vichi M., Zavatarelli M., and Pinardi N., (1998), Seasonal modulation of microbial mediated carbon fluxes in the northern Adriatic Sea: A model study, *Fish. Oceanogr.*, 7, 182-190
- Webb W.L., Newton M., and Starr D., (1974), Carbon dioxide exchange of *alnus rubra*: a mathematical model. *Ecologia*, 17: 281-291
- Zavatarelli M., Baretta J.W., Baretta-Bekker, Pinardi N., (2000), The dynamics of the Adriatic Sea ecosystem. An idealized model study, *Deep-sea Research I* 47, 937-970
- Zubkov M.V., Sleigh M.A., Tarran G.A., Burkill P.H., Leakey J.G., (1988), Picoplanktonic community structure on a Atlantic transect from 50°N to 50°S, *Deep-Sea Research I*, 45, 1339-1355

RINGRAZIAMENTI

Solo ora che sono arrivata alla conclusione di questo percorso mi rendo conto di quanto sia stato importante ed entusiasmante il periodo trascorso nel laboratorio SiNCEM ed in quello di fitobiologia algale, e perché no anche divertente. Eppure sono stati numerosi gli ostacoli e le delusioni affrontate durante il cammino, ma tutto questo è stato spazzato via in un attimo dalla soddisfazione provata per ogni piccolo passo avanti...una vera conquista! Come dimenticare la prima analisi fatta, o l'emozione provata vedendo il modello 'girare' per la prima volta! E forse è proprio questo il bello di fare ricerca...Ma la cosa che mi rende più orgogliosa, ripensando a tutto il lavoro svolto, è quella di avere lavorato al fianco di persone ineguagliabili nel loro settore, che mi hanno saputo trasmettere tutte le conoscenze che attualmente possiedo in questo ambito.

Grazie alla Prof.ssa Pinardi che mi ha sempre proposto dei progetti meravigliosi (tirocinio, tesi triennale e specialistica), riuscendo a capire i miei interessi ed indirizzandomi verso di essi. Grazie a Zavatarelli, sempre disponibile nel momento del bisogno, che mi ha seguito dalla tesi triennale e con immensa pazienza mi ha introdotto alla modellistica. Grazie alla Prof.ssa Pistocchi che mi ha dato la possibilità di lavorare in laboratorio e conoscere un mondo per me nuovo. Grazie a Franca, Silvana e Manuela per tutti i vostri insegnamenti e per avermi fatto sentire fin dall'inizio parte dello 'staff'. A Luca, Nico, Gelso, Simona e Mario sempre pronti a dare una mano nel momento del bisogno. Grazie perché con gli scherzi e le battute mi avete fatto ridere anche nelle difficoltà, grazie perché mi avete aiutato a rialzarmi quando ero a terra. Un ringraziamento speciale va al mio correlatore a distanza Luca Polimene che è stato sempre presente e mi ha aiutato a superare numerosi ostacoli.

Alla Baby che ha sentito tutti i miei sfoghi da un anno a questa parte, grazie perché come per magia sei sempre riuscita a sdrammatizzare e ridimensionare tutti quei problemi che sembravano insormontabili. Grazie alla mia amica Ale che per tutto questo tempo è rimasta al mio fianco pronta a soccorrermi quando avevo bisogno di aiuto, e a festeggiare quando raggiungevo il mio obiettivo. A Giulia, Laura, Micol, Cesare,

Davide e Ciano che non mi hanno mai fatto mancare una parola di conforto e di incoraggiamento. Grazie alla Ram, Marty e Carla perché con voi ho vissuto un clima di gioia ed armonia, grazie perché mi avete fatto sentire a casa!

Grazie infinite ai miei genitori che hanno fatto enormi sacrifici perché potessi proseguire la mia strada e nonostante tutti gli sforzi e le difficoltà, con il sorriso sulle labbra, mi hanno sempre incoraggiata ad andare avanti e a concretizzare tutto ciò che mi realizzava. Grazie perché senza di voi tutto questo non sarebbe esistito. Grazie ai miei fratelli, sempre in prima fila nei momenti per me davvero importanti. Alla Silvia che mi ha insegnato a contare, e ad Ale che è stata la prima persona a farmi ridere. Grazie alla persona che con la sua fantasia e il suo carisma mi ha insegnato a sognare, la mia zia Lella. Grazie alla Cri che nonostante il continuo lavoro mi ha sempre seguito in ogni passo. Grazie ai miei fantastici parenti abruzzesi: il nonno Guido, gli zii Angelo e Stefania, la cuginetta Simona, zia Maria, zia Giuseppina e Prassede, perché siete la mia isola di pace; con voi sono sempre riuscita a svagarmi e ricaricarmi di tutte le energie perdute.

Un grazie grande come il mare ad Andrea che instancabile ha camminato sempre al mio fianco, 'con l'acqua o con i sole', nelle delusioni come nelle vittorie, che mi ha sempre spronato nei momenti più difficili a stringere i denti e proseguire il cammino. Perché a questa meta siamo arrivati insieme!