



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E
DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea Magistrale
Di Biologia Marina**

**Caratteristiche ecologiche del "Black Hole" marino
prospiciente Torre del Greco (Mar Tirreno)**

**Ecological characteristics of the marine "Black hole" facing
Torre del Greco (Tyrrhenian Sea)**

Tesi di Laurea Magistrale
di:

Dana Perugini

Relatore
Chiar.mo Prof.

Roberto Danovaro

Correlatori:
Dott. Eugenio Rastelli,

Prof.ssa Cristina Gambi

**Sessione: Estiva Luglio 2024
Anno Accademico 2023/2024**

INDICE

Abstract

1. Introduzione

1.1. Il progetto: il “Black Hole” (Golfo di Napoli)

1.2. Ambienti simili

1.2.1. Grotte sottomarine

1.2.2. “Blue Holes” e “Black Holes”

1.2.3. Ambienti Profondi

2. Obiettivo

3. Materiali e metodi

3.1. Strategia di campionamento e raccolta dei campioni di sedimento

3.2. Materia Organica totale nei sedimenti

3.3. Analisi della Meiofauna (estrazione e analisi dell’abbondanza e biomassa)

3.4. Procarioti abbondanza totale

4. Risultati

4.1. Dati preliminari ottenuti nelle acque di fondo

4.2. Materia Organica

4.3. Meiofauna – Abbondanza

4.4. Meiofauna – Biomassa

4.5. Meiofauna – Diversità

4.6. Procarioti – Abbondanza

4.7. Procarioti – Biomassa

4 Discussione

5 Conclusioni

6 Ringraziamenti

7 Bibliografia

Abstract

L'area di studio indagata in questa tesi è una grotta sottomarina verticale denominata “Black Hole”, situata al largo di Torre del Greco, nel Golfo di Napoli. Nel 2021, un team internazionale, coordinato da esperti della Stazione Zoologica Anton Dohrn ed in collaborazione con altri istituti di ricerca, ha intrapreso un'indagine dettagliata di questo "Black Hole", utilizzando strumenti all'avanguardia ed operatori tecnici subacquei specializzati per acquisire informazioni ambientali e biologiche. L'esplorazione del gruppo di ricerca ha avuto come obiettivo quello di rivelare per la prima volta la struttura, il funzionamento e la biodiversità di questa grotta. La ricerca ha combinato documentazione con immagini ad alta definizione e campionamento della comunità biologica, della colonna d'acqua e dei sedimenti. Le immersioni e le riprese video hanno documentato che procedendo dall'alto verso il fondo della voragine, le condizioni ambientali diventano sempre più estreme, fino alla quasi totale assenza di luce e relativo isolamento della porzione più profonda della grotta. Il campionamento della macro e megafauna bentonica ha rivelato un nuovo ed insolito habitat marino, con una fiorente vita sottomarina, che si sviluppa principalmente verticalmente lungo le pareti della grotta. Nell'ambito di questa tesi, abbiamo raccolto campioni di sedimenti da diversi siti di questa grotta (ovvero, a circa metà della sua profondità – 50 m, ed al fondo – 90 m), analizzandone per la prima volta le concentrazioni di materia organica totale, l'abbondanza, la biomassa e la biodiversità della meiofauna, e l'abbondanza e la biomassa dei procarioti bentonici, per ottenere una prima caratterizzazione ecologica di questo particolare ecosistema bentonico. I risultati ottenuti evidenziano una maggiore concentrazione di materia organica al fondo della voragine, che si rispecchia in più elevati valori di abbondanza della meiofauna e biomassa per i procarioti. Si è inoltre riscontrato che la diversità della meiofauna è notevolmente inferiore al fondo del black hole rispetto a profondità inferiori (50 m), con relativamente pochi taxa e specie di nematodi che si possono ipotizzare essere capaci di sopportare le condizioni inusuali di questo peculiare habitat.

1 INTRODUZIONE

1.1 Il progetto: caratterizzazione della grotta sottomarina denominata “Black Hole” (Golfo di Napoli)

L’ area di studio oggetto della presente tesi è una grotta sottomarina denominata “Black Hole”, situata al largo di Torre del Greco (Golfo di Napoli) (Figura 1). Nel gennaio 2019, gli scienziati della Stazione Zoologica Anton Dohrn di Napoli (SZN), in sinergia con il team di geologi del CNR di Napoli, hanno avviato attività di esplorazione e ricerca all’interno di tale grotta.



Figura 1. Sito campionato nella presente Tesi (grotta sottomarina denominata “Black Hole”, situata al largo di Torre del Greco (Golfo di Napoli).

Nel 2021, in collaborazione con Andromède Océanologie, è stata avviata l'indagine più dettagliata condotta fino ad oggi dal team, che ha impiegato subacquei scientifici di alto livello e strumenti all'avanguardia per l'acquisizione di dati ambientali nel “Black Hole”. L'esplorazione del gruppo di ricerca mira a svelare la struttura, il funzionamento e la biodiversità della grotta, utilizzando tecnologie all'avanguardia. Grazie al supporto di subacquei e documentaristi professionisti, gli scienziati stanno conducendo ricerche multidisciplinari per rispondere alle numerose domande ancora irrisolte su questa misteriosa formazione sottomarina. La ricerca abbina documentazione con immagini ad alta definizione e campionamento della comunità biologica, della colonna d'acqua e dei sedimenti.

Grazie ad immersioni mirate, sono stati prelevati campioni di roccia e sedimenti, sia dal fondo che dalle pareti della struttura. L'analisi di questi campioni mira a svelare l'origine e le caratteristiche di questa peculiare struttura sottomarina tramite opportune analisi chimiche, mineralogiche e petrografiche. Inoltre, si stanno anche svolgendo analisi per valutare le forme di vita macro e microscopiche insediate in questo sistema.

Dalle ricerche preliminari si è scoperto che la grotta si sviluppa verticalmente a partire dal fondale marino. La voragine interrompe bruscamente il monotono fondale fangoso a 40 m di profondità e si allarga sotto la fessura d'ingresso in una stanza conica che si estende verticalmente fino a 95 m sotto la superficie.

Le dimensioni ridotte dell'apertura della grotta (circa dodici metri di diametro), la presenza massiccia di reti e altre attrezzature da pesca abbandonate, nonché la tendenza alla risospensione di sedimento fine all'interno della cavità, rendono praticamente impossibile l'accesso con mezzi subacquei filoguidati. Di conseguenza, pur essendo conosciuta da tempo dalla popolazione locale, la grotta è rimasta a lungo inesplorata.

Le riprese video ed il campionamento mirato della fauna bentonica hanno rivelato un nuovo insolito habitat marino con una rigogliosa vita sottomarina, sviluppatasi soprattutto verticalmente lungo le pareti della grotta.

Procedendo dalla sommità verso il fondo della voragine, le condizioni ambientali diventano sempre più estreme, fino alla pressoché totale assenza di luce e relativo isolamento della porzione più profonda della grotta.

Le analisi effettuate in ambito geologico e geomorfologico non hanno ad oggi permesso di comprendere in modo esaustivo i fenomeni che hanno portato alla genesi di questa struttura, e risulta quindi ancora difficile distinguere se la sua origine sia dovuta a processi di erosione oppure di degasaggio legato all'attività distale del complesso Somma-Vesuvio.

Il gruppo di Oceanografia della Stazione Zoologica ha inoltre installato una ADCP ed una sonda CTD al fondo della grotta, per monitorare le principali variabili in colonna d'acqua (quali corrente, torbidità, temperatura, salinità e concentrazione di ossigeno disciolto). Come verrà descritto più in dettaglio nella sezione dei risultati, i dati a disposizione sono ad ora molto limitati a causa delle difficoltà tecniche di installazione e recupero delle sonde, non permettendo allo stato attuale di comprendere in modo esaustivo le dinamiche idrogeologiche di questo complesso sistema.

Nel presente lavoro di tesi, abbiamo raccolto campioni di sedimenti superficiali da diversi siti di questa grotta, ed abbiamo analizzato per la prima volta le concentrazioni di sostanza organica totale, l'abbondanza, la biomassa e la biodiversità della meiofauna, e l'abbondanza e la biomassa dei procarioti bentonici, per ottenere una preliminare caratterizzazione ecologica di questo particolare ecosistema bentonico.

1.2 Ambienti similari

Sebbene la particolare conformazione della grotta sottomarina studiata nella presente tesi sia inusuale, essa può essere confrontata con altre tipologie di sistemi che possono mostrare punti di similarità, quali altre grotte sottomarine riportate in letteratura, oltre ai cosiddetti “blue holes”, i “black holes”, nonché agli ambienti marini profondi. Nei successivi paragrafi vengono dunque forniti spunti per il confronto con queste tipologie di sistemi, in modo da individuare le caratteristiche che differenziano la grotta marina sottomarina studiata nella presente tesi, da altri sistemi descritti in letteratura.

1.2.1 Grotte sottomarine

Il termine "grotta" è comunemente usato per descrivere un'apertura in una cavità naturale sotterranea o subacquea, sufficientemente grande da consentire l'ingresso di un essere umano (Gunn 2004, Romero 2009).

Le grotte possono essere orizzontali, verticali, oblique e/o variabili nella loro orientazione e conformazione lungo il loro percorso, e la loro dimensione longitudinale (cioè, lunghezza o profondità) è maggiore delle dimensioni della sezione trasversale all'ingresso (Gunn 2004, Gerovasileiou et al. 2016a). Si formano attraverso diversi processi in vari tipi di roccia, come la dissoluzione del substrato roccioso da parte dell'acqua che circola attraverso fessure e pori ("grotte di soluzione" o "grotte carsiche"), fratturazione o erosione. Nelle grotte marine (dette anche 'litorali') può essere importante anche l'azione meccanica delle onde (Riedl 1966, Colantoni 1978, 1994, Gunn 2004.)

Pertanto, esistono diversi schemi di classificazione e terminologie per quanto riguarda la loro origine e processo di formazione (speleogenesi), il tipo di roccia ospite ed il regime idrico (Suriy et al. 2010).

Le coste rocciose del Mar Mediterraneo sono particolarmente ricche di grotte marine (Hofrichter 2002, Giakoumi et al. 2013), la cui geologia, biologia ed ecologia sono studiate da diversi decenni (Riedl 1966, Cattaneo & Pastorino 1974, Harmelin et al 1985, Bianchi et al. 1996; Gerovasileiou et al., 2021).

In tutto il mondo, le grotte marine costituiscono hotspot di biodiversità che supportano comunità ricche di specie di grande valore ecologico, scientifico e conservazionistico (Gerovasileiou et al., 2016, 2021). L'assenza di luce, un apporto inadeguato di nutrienti, aloclini più repentini, presenza di solfuri, pH fluttuante, concentrazioni altamente variabili di nutrienti e carico organico sono alcune delle caratteristiche estreme di una grotta sottomarina (D'Angeliet al.,2019, Zeppilliet al., 2018).

Numerose valutazioni della biodiversità della mega, macro e meiofauna hanno rivelato che le grotte marine del Mediterraneo ospitano una biodiversità eccezionalmente elevata (>2000 taxa appartenenti a 58 principali gruppi tassonomici), tra cui diverse specie rare e protette (Gerovasileiou & Voultsiadou, 2012, 2014; Gerovasile-iou et al., 2015). Tra gli organismi bentonici più abbondanti e rilevanti nelle grotte sottomarine troviamo inoltre i taxa della meiofauna, quali Nematodi, Policheti, Copepodi, Foraminiferi, Tardigradi, Gastrotrichi, Kinorinchi, Ostracodi, ecc. (Fichez, 1990; Sandulliet al2014; Todaroet al., 2006). Al contrario, le conoscenze attuali sulla componente microbica in queste tipologie di sistemi sono molto limitate (Canganella et al., 2007; Gerovasileiou et al., 2021).

1.2.2 “Blue Holes” e “Black Holes”

Gli “holes” marini sommersi sono una tipologia particolare di grotte sottomarine, che mostrano numerose similarità ecologiche con il peculiare sistema analizzato nella presente tesi. Essi sono descritti in letteratura come strutture geologiche sviluppatesi all'interno di piattaforme carbonatiche che portano a complessi sistemi di grotte sotto il livello del mare (Myloie, 2008; Myloie, 2013; van Hengstum et al., 2011; Little et al., 2021).

I cosiddetti "*Blue Holes*" sono fenomeni carsici sottomarini, sistemi che possono svilupparsi orizzontalmente in modo molto esteso e apparire blu in superficie, a causa di una combinazione del riflesso del cielo azzurro con la sabbia bianca carbonatica depositata nella grotta (Smart et al. 1988; Mylroie et al. 1995; Schwabe et al. 1997; Marano-Briggs 2000; Colantoni et al. 2003; Canganella et al. 2004). La maggior parte di questi siti sono stati trovati e descritti alle Bahamas e alle Hawaii (Canganella F. 2007; Schwabe & Herbert 2004).

Un'altra tipologia di sistemi di caverne sottomarine è conosciuta come "*Black Holes*" e sono caratterizzati dalla assenza di passaggi e collegamenti laterali e sono stati descritti inizialmente nelle regioni interne delle isole più grandi delle Bahamas, in zone di transizione tra terre emerse e sommerse (Schwabe & Herbert 2004). La maggior parte dei Black Hole noti si trova nella parte centro-occidentale dell'isola di South Andros alle Bahamas, sebbene uno sia stato trovato sulla costa settentrionale di transizione dell'isola di Grand Bahama.

Si tratta di sistemi di grotte verticali che si sviluppano dalla superficie verso il basso e sembrano non avere alcun collegamento diretto con il mare se non attraverso piccole fessure e porosità nella roccia (Schwabe 1998; Schwabe & Herbert 2004).

In entrambi i sistemi, poiché lo scambio d'acqua è fortemente limitato, i gradienti fisico-chimici sono molto marcati e possono svilupparsi anche condizioni anaerobiche severe con notevoli concentrazioni di solfuri al fondo (fino a >6 mM H_2S).

A differenza delle grotte sottomarine mediterranee, i blue e black holes sono stati maggiormente studiati dal punto di vista microbiologico, e vari studi riportano una notevole e peculiare biodiversità di procarioti e microeucarioti, fortemente influenzata dai gradienti ambientali che caratterizzano ciascun sistema o porzione di ciascun sistema (Canganella et al., 2007; Gonzalez et al., 2011; Li et al., 2020; Zhang et al., 2021; Zhou et al., Patin et al., 2021; Chen et al., 2023; Sun et al., 2023).

1.2.3 Ambienti profondi

Un'ulteriore tipologia di sistema marino che mostra somiglianze con la grotta sottomarina oggetto della presente tesi è rappresentata dagli ambienti marini profondi, in primo luogo poiché questi ecosistemi condividono condizioni di pressoché totale assenza di luce.

Gli ecosistemi marini profondi coprono circa il 65% della superficie terrestre e svolgono un ruolo fondamentale nella produzione di biomassa e nei cicli biogeochimici su scala globale, sono ambienti oscuri ed estremi, in cui non avviene produzione primaria di tipo fotosintetico; dipendono dall'apporto di materia organica dalla superficie degli oceani e sono perciò generalmente caratterizzati da una forte limitazione da nutrienti organici. Nonostante ciò, i sedimenti marini, data la loro estensione, sono la principale riserva di carbonio organico e nutrienti degli oceani (Gage et al. 1991; Danovaro, 2013). Lo studio degli ambienti marini profondi, per la loro complessità ed inaccessibilità, è una delle ultime frontiere della ricerca scientifica e dell'esplorazione del nostro Pianeta (Danovaro, 2013).

Nei sedimenti marini profondi, i gruppi di organismi più abbondanti e rilevanti in termini di biomassa sono i procarioti e la meiofauna (Rex et al., 2006; Wei et al., 2010). Mentre la biomassa degli organismi di maggiori dimensioni diminuisce esponenzialmente all'aumentare della profondità nella colonna d'acqua (Rex, 2006), la biomassa della meiofauna appare diminuire meno marcatamente, e la biomassa procariotica non mostra tendenze di diminuzione, mantenendo valori elevati anche alle maggiori profondità oceaniche (Wei et al., 2010).

In generale, è possibile ipotizzare che esistano similarità nei pattern di distribuzione e diversità di organismi (includendo taxa della mega-, macro- e meiofauna e taxa microbici) tra ambienti profondi e grotte sottomarine, ed in particolare con i sistemi marini profondi relativamente isolati e che ricevono in maniera intermittente rilevanti apporti di materiale organico alloctono (come le fosse adali oceaniche) (Jamieson et al., 2010; Liu et al., 2018).

2 OBIETTIVI

Il presente lavoro ha lo scopo di fornire una prima caratterizzazione ecologica della grotta sottomarina prospiciente Torre del Greco, denominata “Black Hole”. In particolare, verranno raccolti campioni di sedimento da diversi siti lungo il percorso della grotta sottomarina e verranno analizzate le concentrazioni di materia organica totale, nonché l’abbondanza, biomassa e diversità della meiofauna e l’abbondanza e biomassa dei procarioti bentonici, per verificare se vi sia accumulo di materia organica al fondo della struttura sottomarina, e come questo possa influenzare le componenti microbiche e della meiofauna a livello locale. Inoltre, si cercherà di ripetere il campionamento a distanza di mesi, per verificare la variabilità temporale di questo peculiare sistema.

3 MATERIALI E METODI

3.1 Strategia di campionamento e raccolta dei campioni di sedimento

Grazie ad immersioni mirate da parte di operatori tecnici subacquei specializzati, nel mese di aprile (2021) sono stati prelevati a mano tramite tubi falcon sterili campioni di sedimento dalla porzione più profonda della grotta (90 m di profondità) e da circa metà della sua profondità (50 m). Inoltre, a settembre dello stesso anno, sono stati prelevati nuovamente sedimenti superficiali dalla porzione più profonda della grotta (sempre a 90 m di profondità). I sedimenti sono stati subito portati in superficie e congelati per le successive analisi, come descritto nei successivi paragrafi.

Inoltre, per ottenere una caratterizzazione idrogeologica della cavità sottomarina e comprendere il suo grado di connessione con l'ambiente marino esterno, il gruppo di oceanografia della SZN ha posizionato una ADCP ed una sonda CTD, monitorando la corrente al fondo, la torbidità e le principali variabili in colonna d'acqua (temperatura, salinità e ossigeno disciolto) per un periodo di 4 mesi durante i suddetti campionamenti.

3.2 Materia organica totale nei sedimenti

Per quantificare la materia organica totale contenuta nei sedimenti campionati, è stata resa omogenea una aliquota di 50-100 mg di sedimento umido posizionandolo in un recipiente di alluminio precedentemente pesato. Il campione è stato poi essiccato a 60°C per 24 ore, e poi ripeso per ottenere per differenza il peso del sedimento secco. Il campione di sedimento secco è stato poi sottoposto a procedura di calcinazione in muffola per 4 ore a 450°C, ed in seguito ripeso. Il contenuto totale di sostanza organica (in mg) si è ottenuto per differenza tra il peso del sedimento secco e quello calcinato (in mg). I valori sono poi stati normalizzati dividendo ciascun valore per il rispettivo peso secco del sedimento di partenza, esprimendo il valore finale come totale di materia organica in mg, per grammo di sedimento secco.

3.3 Analisi della Meiofauna (estrazione e analisi dell'abbondanza e biomassa)

Inizialmente il campione di sedimento è stato trattato con ultrasuoni (tre trattamenti di un minuto ciascuno con intervalli di 30 secondi tra un trattamento ed il successivo), per coadiuvare il distacco di tutti gli organismi dalle particelle di sedimento. Il campione è stato raccolto su un filtro di maglia 20 µm e trasferito in una falcon da 50 ml. Il materiale così raccolto veniva risospeso con il Ludox HS40 e sottoposto a centrifugazione per 10 minuti a 3000 rpm. Tale operazione è stata ripetuta 3 volte per ciascun campione per ottenere un'efficienza di estrazione superiore al 90%. Al termine di ogni centrifugazione il sovrantante veniva raccolto su un filtro da 20µm e dopo essere stato con acqua deionizzata per eliminare i residui di Ludox, è stato messo in una falcon.

Il conteggio ed il riconoscimento degli organismi sono stati effettuati allo stereomicroscopio, dopo aver posto il campione in una cuvetta di Delfuss. Questo tipo di cuvetta è suddivisa internamente in 200 “cellette” (5 x 5 mm) in modo da facilitare il conteggio. Sono stati utilizzati ingrandimenti 16-40X (Heip et al., 1985; Danovaro, 2010).

La biomassa dei nematodi è stata calcolata dal biovolume, utilizzando la formula di Andrassy (1956) ($V = L \times W^2 \times 0.063 \cdot 10^{-5}$, in cui V volume è espresso in nL (10^{-9} L), L lunghezza del corpo e W larghezza sono espressi in µm).

Per poter misurare i nematodi, occorre pescare casualmente 100 individui per ogni campione e montarli sui vetrini permanentemente. La tecnica secondo il protocollo proposto da Seinhorst (1959) consta di tre passaggi da effettuarsi in tre giorni consecutivi e in cui si utilizzano soluzioni contenenti formalina, glicerina ed etanolo per poter disidratare gli animali. I vetrini sono stati quindi sigillati con paraffina e osservati al microscopio ottico, munito di micrometrica, ad ingrandimento 40X. La lunghezza e la larghezza dei nematodi sono state ricavate attraverso un coefficiente di conversione per cui una tacca è pari ad 2.5µm, tali valori sono stati poi utilizzati per il calcolo dei volumi.

Ogni volume è stato moltiplicato per la densità media (1.13 g cm^{-3}) per ottenere la biomassa (mg DW: mg WW = 0.25; Wieser, 1960) e il contenuto di carbonio è stato considerato pari al 40% del peso secco (Feller e Warwick, 1988).

3.4 Abbondanza procariotica totale

L'abbondanza procariotica totale è stata determinata mediante microscopia a epifluorescenza come descritto in Danovaro (2010). In dettaglio, i campioni di sedimento sono stati trattati mediante ultrasuoni (Branson Sonifier 2200, 60W) con cicli di 1 minuto per tre volte, dopo aggiunta di una soluzione di pirofosfato tetrasodico prefiltrata da $0,2 \mu\text{m}$ (concentrazione finale, 5 mM). I sedimenti sono stati quindi opportunamente diluiti prima della filtrazione su filtri neri Nuclepore di dimensione dei pori da $0,2 \mu\text{m}$ (Whatman). I filtri sono stati poi colorati con SYBR Green I (Sigma Chemicals) aggiungendo su ciascun filtro $20 \mu\text{l}$ di soluzione (diluendo 1:20 la soluzione madre con acqua Milli-Q prefiltrata mediante filtri a siringa di porosità di $0,2 \mu\text{m}$). I filtri colorati sono poi stati lavati due volte con 3 ml di acqua Milli-Q sterile, e montati su vetrini per microscopio. I filtri sono stati analizzati utilizzando la microscopia a epifluorescenza (Nicon eclipse, ingrandimento $1.000\times$), osservando almeno 20 campi ottici per filtro. Per la determinazione della biomassa procariotica, il biovolume cellulare stimato sulla base della determinazione dalla dimensione delle cellule procariotiche contate è stato convertito in contenuto di carbonio assumendo $310 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Danovaro, 2010).

4 RISULTATI

4.1 Dati preliminari ottenuti nelle acque di fondo

I dati acquisiti dal gruppo di oceanografia della SZN, una volta recuperata la sonda ADCP posta per circa 4 mesi al fondo della cavità analizzata nella presente tesi, hanno evidenziato una corrente verticale molto debole durante il periodo di campionamento tra aprile 2021 e settembre 2021. I dati CTD hanno rilevato una tendenza all'aumento della temperatura al fondo di soli pochi decimi di grado nei 4 mesi di osservazione, ed una lieve tendenza di diminuzione della salinità (anche in questo caso solo di pochi decimi di unità). Per quanto riguarda la concentrazione di ossigeno disciolto, questa è risultata invece variare nel tempo in modo sostanziale tra 1 e 4 mL/L, con una temporalità ancora non ben chiara.

4.2 Materia organica totale

Si è confrontata la concentrazione della Materia Organica Totale (TOM) a 90 m e 50m di profondità e nei periodi di aprile e settembre da questi ricaviamo tali risultati a 90 m si hanno delle TOM di $97,28 \pm 6,88$ mg/g nel mese di aprile e di $95,71 \pm$ mg/g, con una deviazione standard di 17,36 mg/g nel mese di settembre. Mentre alla profondità di 50 m si hanno solo i risultati del campione di aprile, la cui TOM è di $33,26 \pm 6,40$ mg/g.

Da questi dati possiamo osservare che la concentrazione di TOM a 90 metri di profondità è rimasta relativamente stabile tra aprile e settembre. Al contempo è da notare che nello stesso periodo di tempo (aprile) c'è un incremento di TOM tra la profondità di 50m e quella di 90m (fig.2).

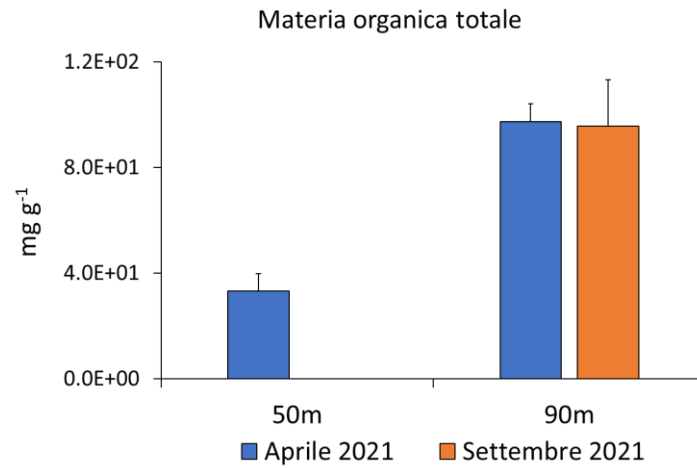


Figura 2. Materia Organica Totale

4.3 Meiofauna-Abbondanza

Per quanto riguarda le abbondanze della meiofauna come mostrato in figura (Fig.3) possiamo dire che considerando la stessa profondità (90m) ma in periodi diversi l'abbondanza tra il mese di aprile e quello di settembre e risultano confrontabili. Se confrontiamo lo stesso periodo (aprile) l'abbondanza aumenta con l'aumentare della profondità (da 50m a 90m).

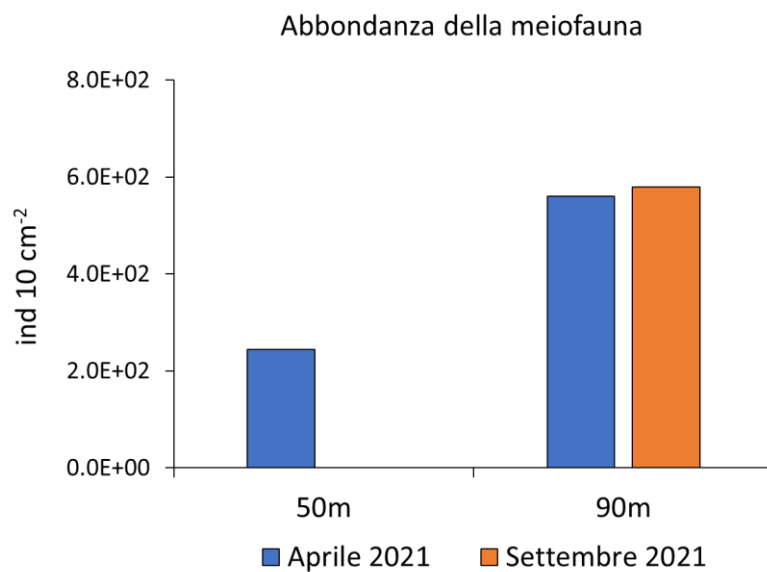


Figura 3. Abbondanza della meiofauna

4.4 Meiofauna – Biomassa individuale dei nematodi

La biomassa individuale dei nematodi aumenta con l'aumentare della profondità nel mese di aprile 2021 mentre confrontando la profondità di 90 nei due periodi, la biomassa individuale dei nematodi diminuisce da aprile a settembre (Figura 4).

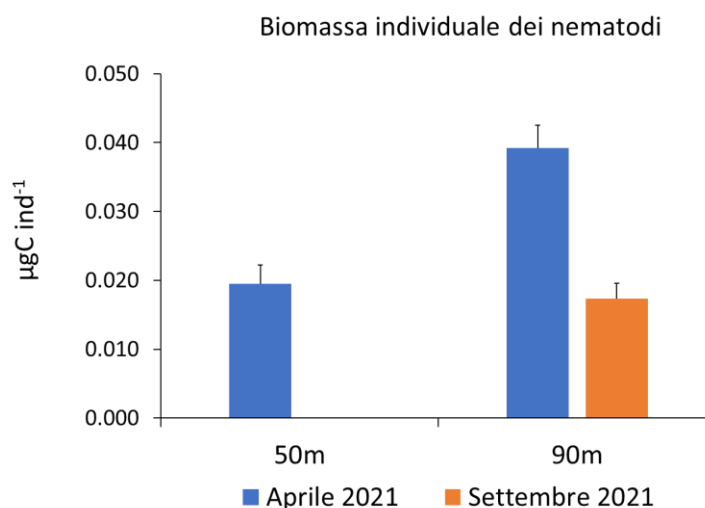


Figura 4. Biomassa individuale dei nematodi

4.5 Meiofauna - Diversità

Per quanto riguarda la biodiversità della meiofauna il numero maggiore di taxa è stato rinvenuto alla profondità di 50m (Figura 5) dove è stata riscontrata la presenza dei seguenti taxa: nematodi (90%), copepodi (9%), larve di decapodi (1.4%) ed acari, policheti, tanaidacei (<1% per ciascun gruppo) e a differenza della profondità di 90m dove il gruppo più abbondante è rappresentato dai nematodi (77-99% in aprile e settembre, rispettivamente), seguito da copepodi (19-0.4% in aprile e settembre, rispettivamente), policheti (3.3-1% in aprile e settembre, rispettivamente) e chinorinchi (<1%).

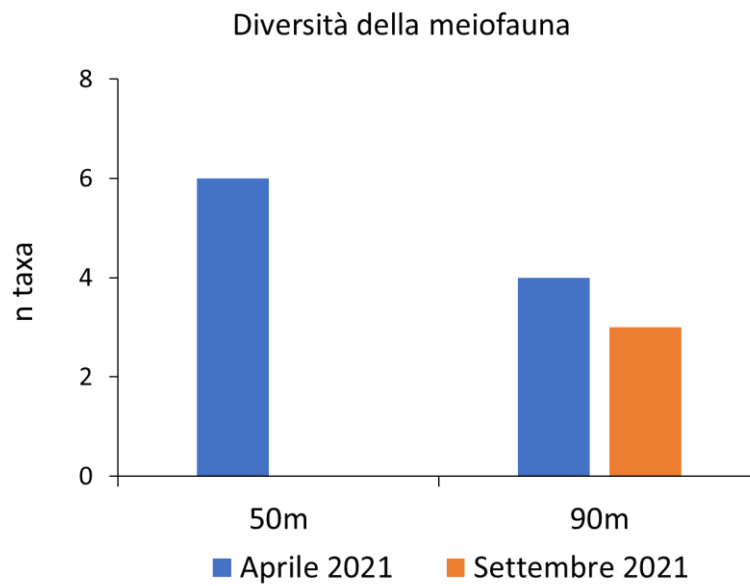


Figura 5. Diversità della meiofauna

Per quanto riguarda il taxon dei nematodi, si può notare una la più alta diversità alla profondità di 50m del mese di aprile con 13 specie di nematodi, mentre la più bassa diversità si ha a settembre a profondità 90m dove sono presenti solo 5 specie (Figura 6).

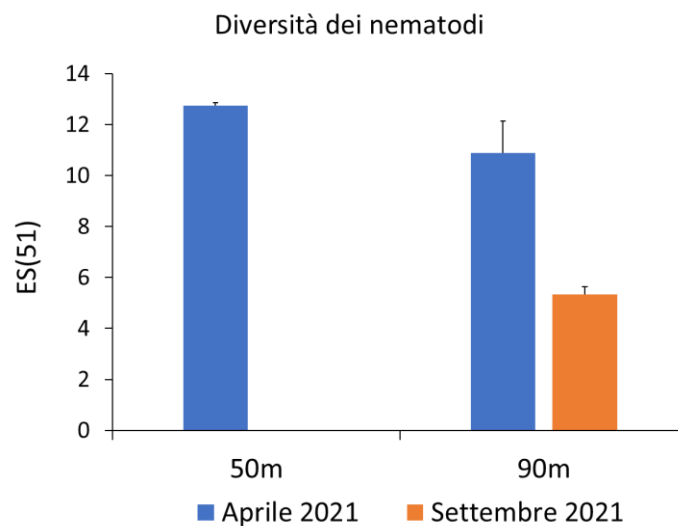


Figura 6. Diversità dei nematodi

Qui di seguito viene riportata la lista delle specie riscontrate nei tre siti di campionamento (Tabella 1).

Tabella 1 lista delle specie riscontrate nei tre siti di campionamento

April 2021		April 2021		September 2021	
Station: 50m		Station: 90m		Station: 90m	
Species	%	Species	%	Species	%
Promonhystera sp3	23.1	Sabatieria sp1	18.9	Sabatieria sp1	79.5
Chromadorella sp1	12.7	Metadesmolaimus sp1	18.4	Metalinhomoeus sp3	9.3
Microlaimus sp1	6.8	Microlaimus sp1	14.9	Camacolaimus sp5	1.9
Paramonohystera sp3	6.8	Lauratonema sp3	12.3	Lauratonema sp3	1.9
Desmodora sp6	5.9	Richtersia sp 10	4.4	Richtersia sp 10	1.9
Richtersia sp 12	5.4	Camacolaimus sp5	3.5	Epsilonema sp1	1.5
Leptolaimus sp1	5.0	Molgolaimus sp1	3.5	Sabatieria sp6	1.2
Prochromadorella sp1	5.0	Leptolaimus sp1	2.6	Epsilonema sp2	0.8
Richtersia sp 10	4.1	Metalinhomoeus sp3	2.6	Nannolaimus sp3	0.8
Thalassomonhystera sp10	3.6	Spirinia sp5	2.6	Desmoscolex sp1	0.4
Elzalia sp5	3.2	Terschellingia sp1	2.6	Glochinema sp3	0.4
Sabatieria sp1	3.2	Desmodora sp6	2.2	Thalassomonhystera sp1	0.4
Richtersia sp 11	1.8	Prochromadorella sp1	1.8	Adoncholaimus sp3	0.0
Setosabatieria sp1	1.4	Enoplolaimus sp1	1.3	Ammotheristus sp2	0.0
Adoncholaimus sp3	0.9	Anoplostoma sp1	0.9	Anoplostoma sp1	0.0
Bolbolaimus sp2	0.9	Epsilonema sp1	0.9	Axonolaimus sp1	0.0
Chaetonema sp3	0.9	Halalaimus sp1	0.9	Bathyeurystomina sp1	0.0
Daptonema sp4	0.9	Richtersia sp 11	0.9	Bolbolaimus sp2	0.0
Desmoscolex sp1	0.9	Richtersia sp 12	0.9	Chaetonema sp3	0.0
Epacanthion sp1	0.9	Setosabatieria sp1	0.9	Chromadorella sp1	0.0
Paramonohystera sp1	0.9	Ammotheristus sp2	0.4	Coninckia sp7	0.0
Synodontium sp1	0.9	Daptonema sp1	0.4	Daptonema sp1	0.0
Axonolaimus sp1	0.5	Glochinema sp3	0.4	Daptonema sp4	0.0
Bathyeurystomina sp1	0.5	Halichoanolaimus sp1	0.4	Desmodora sp6	0.0
Coninckia sp7	0.5	Sabatieria sp6	0.4	Draconema sp3	0.0
Draconema sp3	0.5	Thalassomonhystera sp1	0.4	Elzalia sp5	0.0
Maryllynnia sp1	0.5	Tricoma sp5	0.4	Enoplolaimus sp1	0.0
Molgolaimus sp1	0.5	Adoncholaimus sp3	0.0	Epacanthion sp1	0.0
Omicronema sp1	0.5	Axonolaimus sp1	0.0	Halalaimus sp1	0.0
Promonhystera sp 1	0.5	Bathyeurystomina sp1	0.0	Halichoanolaimus sp1	0.0
Quadricoma sp4	0.5	Bolbolaimus sp2	0.0	Leptolaimus sp1	0.0
Spirinia sp5	0.5	Chaetonema sp3	0.0	Maryllynnia sp1	0.0
Trichotheristus sp1	0.5	Chromadorella sp1	0.0	Metadesmolaimus sp1	0.0
Ammotheristus sp2	0.0	Coninckia sp7	0.0	Microlaimus sp1	0.0
Anoplostoma sp1	0.0	Daptonema sp4	0.0	Molgolaimus sp1	0.0
Camacolaimus sp5	0.0	Desmoscolex sp1	0.0	Omicronema sp1	0.0
Daptonema sp1	0.0	Draconema sp3	0.0	Paramonohystera sp1	0.0
Enoplolaimus sp1	0.0	Elzalia sp5	0.0	Paramonohystera sp3	0.0
Epsilonema sp1	0.0	Epacanthion sp1	0.0	Prochromadorella sp1	0.0
Epsilonema sp2	0.0	Epsilonema sp2	0.0	Promonhystera sp 1	0.0
Glochinema sp3	0.0	Maryllynnia sp1	0.0	Promonhystera sp3	0.0
Halalaimus sp1	0.0	Nannolaimus sp3	0.0	Quadricoma sp4	0.0
Halichoanolaimus sp1	0.0	Omicronema sp1	0.0	Richtersia sp 11	0.0
Lauratonema sp3	0.0	Paramonohystera sp1	0.0	Richtersia sp 12	0.0
Metadesmolaimus sp1	0.0	Paramonohystera sp3	0.0	Setosabatieria sp1	0.0
Metalinhomoeus sp3	0.0	Promonhystera sp 1	0.0	Spirinia sp5	0.0
Nannolaimus sp3	0.0	Promonhystera sp3	0.0	Synodontium sp1	0.0
Sabatieria sp6	0.0	Quadricoma sp4	0.0	Terschellingia sp1	0.0
Terschellingia sp1	0.0	Synodontium sp1	0.0	Thalassomonhystera sp10	0.0
Thalassomonhystera sp1	0.0	Thalassomonhystera sp10	0.0	Tricoma sp5	0.0
Tricoma sp5	0.0	Trichotheristus sp1	0.0	Trichotheristus sp1	0.0

Come si può vedere dalla tabella, il genere *Sabatieria* (Figura 7) risulta essere dominante (80%) nella stazione a 90 m a settembre in cui si riscontrano solo poche specie.



Figura 7. Esempio di nematode (genera *Sabatieria*) osservato al microscopio ottico ad ingrandimento 100x.

Per quanto riguarda la struttura trofica dei nematodi si evidenzia che il gruppo trofico dominante è quello dei depositori non -selettivi (1B) (57-67%), seguito da erbivori (2A) (32-22% per il campionamento di aprile) e depositori selettivi-batterivori (8-9%) (Figura 8). Alla profondità di 90m, i depositori non selettivi rappresentano il gruppo trofico dominante (94%). I predatori sono praticamente assenti nella stazione a 90m nel mese di settembre.

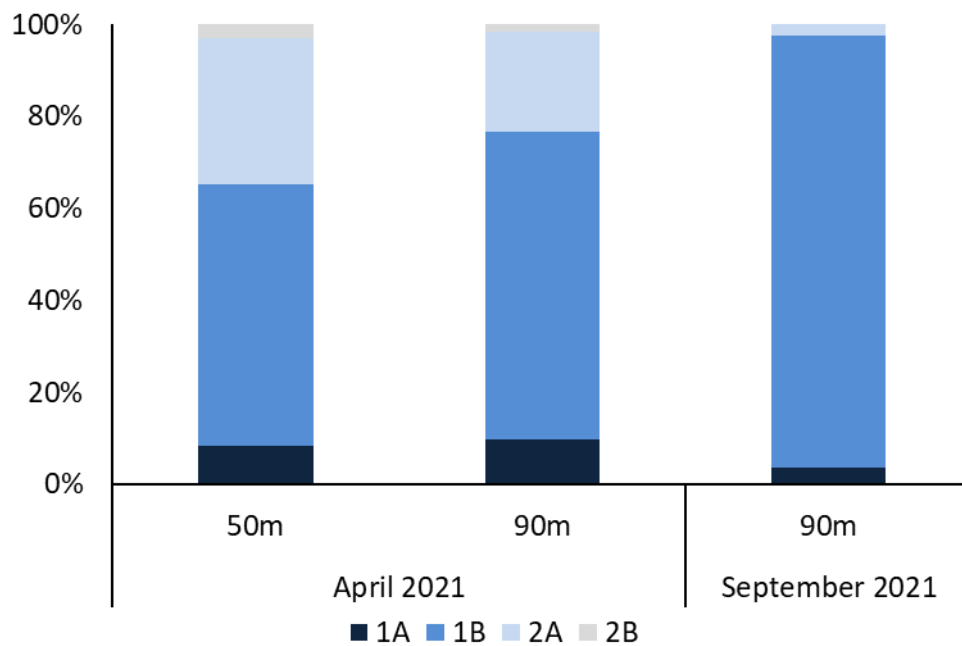


Figura 8. Diversità dei nematodi in percentuale

4.6 Procarioti - *Abbondanza procariotica*

Nel campionamento avvenuto ad aprile si hanno delle abbondanze rispettivamente di $9.26 \times 10^5 \pm 2,90 \times 10^5$ cellule procariotiche g^{-1} ad una profondità di 50m, mentre alla profondità di 90m si ha un'abbondanza di $1,65 \times 10^8 \pm 6.45 \times 10^7$ cellule procariotiche g^{-1} (Figure 9 e 10).

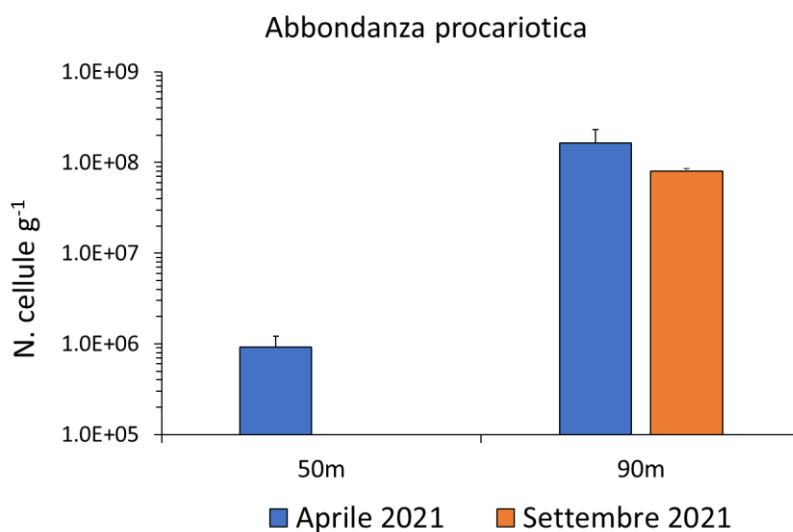


Figura 9. Istogramma Abbondanza Procarioti

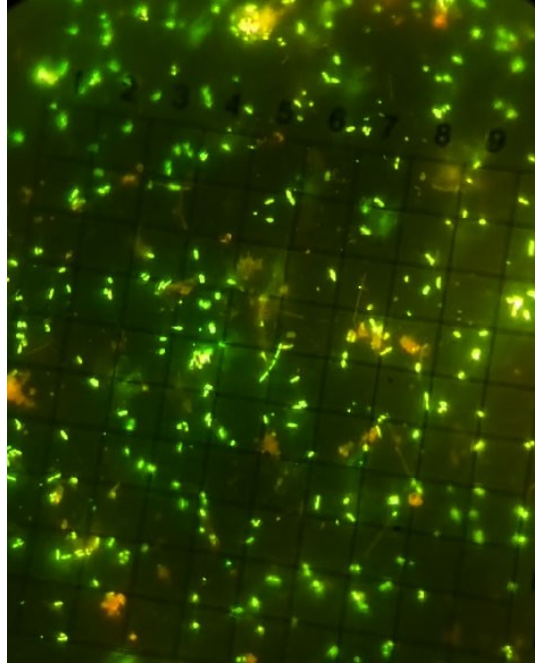


Figura 10. Esempio di campo ottico in microscopia ad epifluorescenza dei procarioti totali

Per quanto riguarda il campionamento di settembre si hanno solo i risultati della profondità 90m dove l'abbondanza è di $8.00 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$ cellule procariotiche g^{-1} .

Confrontando i dati si può notare che alla stessa profondità (90m) si avrà un'abbondanza simile sia nel periodo primaverile (aprile) che in quello autunnale (settembre) mentre se confrontiamo i dati alle due profondità prese in esame si ha un notevole aumento dell'abbondanza (Figura 9).

4.7 Procarioti - biomassa

Per confrontare le biomasse si sono confrontati i campioni di sedimento raccolti a diverse profondità (50 e 90 m) nei mesi di aprile e settembre (Figura 11).

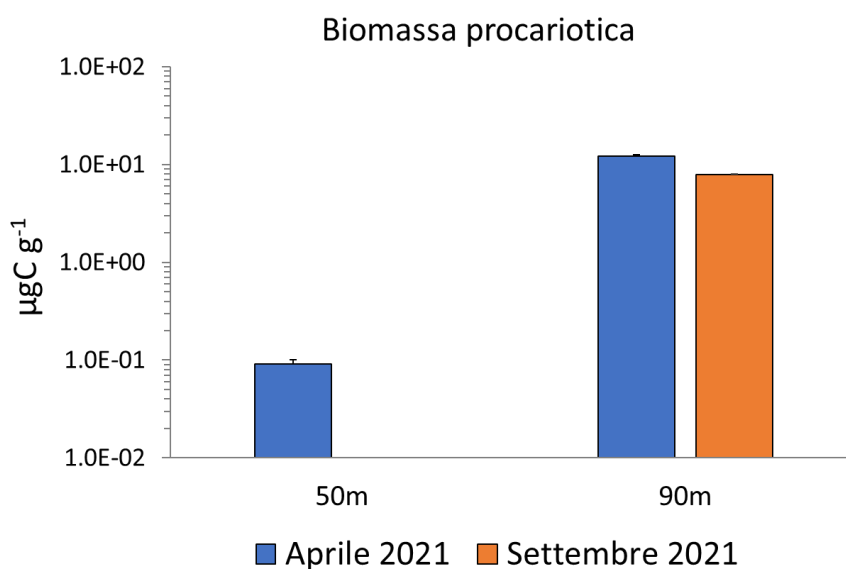


Figura 11. Biomassa procariotica totale

Nel mese di aprile la biomassa procariotica è risultata $0,09 \pm 0,01 \mu\text{gC g}^{-1}$ alla profondità di 50 m e di $12,19 \pm 0,39 \mu\text{gC g}^{-1}$ a 90 m.

Per quanto riguarda il campionamento di settembre, si ha la biomassa solo della profondità di 90m, che è risultata di $7,92 \pm 0,15 \mu\text{gC g}^{-1}$ (Figura 11).

5 DISCUSSIONE

La particolare morfologia del “Black Hole” di Torre del Greco e la sua posizione non troppo distante dalla costa rende questo ambiente particolare da un punto di vista ecologico. Infatti, nonostante i primi metri del Hole marino presentino caratteristiche più simili a quelle di una grotta, ovvero una marcata presenza di associazioni bentoniche costituite da un mosaico di organismi prevalentemente filtratori (come spugne e bivalvi) che creano dei veri e propri “giardini pensili”, più si scende in profondità però le condizioni diventano sempre più peculiari. Altri studi condotti in parallelo in questo sito hanno mostrato la presenza di un particolare porifero con strategie alimentari carnivore.

L’abbondanza della meiofauna ha mostrato valori superiori al fondo (90 m) rispetto che alla profondità di 50 m, e valori simili a 90 confrontando il campionamento di aprile con quello di settembre. La maggiore abbondanza della meiofauna nelle profondità della grotta suggerisce una risposta positiva all’accumulo al fondo della grotta di materia organica, che rappresenta una fonte di nutrienti organici essenziali per questi organismi.

La maggiore abbondanza e la biomassa procariotica all’aumentare della profondità evidenziano una sorta di stratificazione con accumulo di risorse sul fondale del Black Hole a cui rispondono anche le forme di vita microbica. Al contempo non ci sono variazioni apprezzabili di abbondanza e biomassa procariotica a 90 m di profondità se consideriamo i campioni presi in periodi di tempo diversi.

Per quanto riguarda la meiofauna in tutti i campioni il taxon più abbondante è risultato quello dei nematodi, su cui ci siamo quindi concentrati per le analisi di diversità a livello di specie. Si potuto riscontrare che alla profondità di 50 m la loro diversità era superiore rispetto a 90 m, e che a 90 m dominava il genere *Sabatieria*, che risultava capace di sfruttare le condizioni estreme tanto da rappresentare la quasi totalità della comunità di nematodi nel mese di settembre.

6 CONCLUSIONI

L'analisi condotta sulle abbondanze della meiofauna e dell'abbondanza e biomasse dei procarioti all'interno del "Black Hole" di Torre del Greco ha rivelato caratteristiche ecologiche complesse e chiare differenze tra i popolamenti presenti in diverse porzioni del Black Hole.

Per quanto riguarda l'abbondanza della meiofauna, in particolare dei nematodi, si è mantenuta pressoché costante tra aprile e settembre alla profondità di 90 metri. Tuttavia, è stata osservata una maggiore diversità alla profondità di 50 metri. Questo suggerisce che la profondità e il periodo dell'anno influenzano in modo significativo la comunità della meiofauna.

L'abbondanza procariotica ha mostrato un incremento notevole con la profondità, questo incremento con la profondità evidenzia un ambiente più ricco di nutrienti nelle zone più profonde, supportando una maggiore densità microbica, questo è stato ulteriormente supportato dal calcolo della biomassa che ha evidenziato come essa sia influenzata dalla profondità ma essere relativamente stabile nel tempo.

Quindi per concludere l'analisi ha evidenziato come la particolare morfologia e posizione del "Black Hole" di Torre del Greco creino un ambiente ecologicamente unico, con condizioni che variano significativamente con la profondità. Le condizioni estreme delle zone più profonde promuovono l'adattamento e la specializzazione degli organismi presenti. L'accumulo di materia organica al fondo della grotta fornisce una fonte essenziale di nutrienti, influenzando la dinamica ecologica e la produttività del sistema.

Lo studio della meiofauna e dei procarioti nel "Black Hole" di Torre del Greco ha fornito preziose informazioni sulle dinamiche ecologiche di questo ambiente marino, evidenziando come la profondità e il periodo dell'anno influenzino in modo significativo la biodiversità e la biomassa degli organismi presenti.

7 Ringraziamenti

Vorrei dedicare questo spazio a chi, con dedizione e pazienza, ha contribuito alla realizzazione di questo elaborato.

Un ringraziamento al mio relatore il Professore Roberto Danovaro e ai miei correlatori il Dott. Eugenio Rastelli e la Prof.ssa Cristina Gambi che mi hanno seguito, con disponibilità e gentilezza, in ogni step della realizzazione dell'elaborato, fin dalla scelta dell'argomento.

Ringrazio la mia tutor Emanuela Buschi del Fano Marine Center dove ho svolto attività complementari alla redazione della tesi, per l'ospitalità e per le skills acquisite sul campo.

Ringrazio infinitamente mia madre, mio zio e mio nonno senza i loro insegnamenti e senza il loro supporto, questo lavoro di tesi non esisterebbe nemmeno.

Grazie a tutti i miei amici, per avermi sempre incoraggiato fin dall'inizio del percorso universitario.

Ringrazio il mio fidanzato Luca per avermi trasmesso la sua immensa forza e il suo coraggio.

Grazie per tutto il tempo che mi hai dedicato. Grazie perché ci sei sempre stato.

Infine, dedico questa tesi a me stessa, ai miei sacrifici e alla mia tenacia che mi hanno permesso di arrivare fin qui.

8 BIBLIOGRAFIA

- Andrassy, I. (1956). *Die rauminhalts-und gewichtsbestimmung der fadenwürmer (Nematoden)*. *Acta Zoologica Hungarica*, 2(1), 1-5.
- Bianchelli, S., & Danovaro, R. (2019). *Meiofaunal biodiversity in submarine canyons of the Mediterranean Sea: A meta-analysis*. *Progress in oceanography*, 170, 69-80.
- Bianchelli, S., Gambi, C., Zeppilli, D., & Danovaro, R. (2010). *Metazoan meiofauna in deep-sea canyons and adjacent open slopes: a large-scale comparison with focus on the rare taxa*. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 57(3), 420-433.
- Bianchi, C. N., Cattaneo-Vietti, R., Cinelli, F., Morri, C., & Pansini, M. (1996). *Lo studio biologico delle grotte sottomarine del Mediterraneo: conoscenze attuali e prospettive*. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 60(61), 41-69.
- Canganella, F., Bianconi, G., & Maugeri, T. L. (2004). *A multiphasic approach to investigate the microbial ecology of a blue hole in the Indian Ocean*.
- Canganella, F., Bianconi, G., Kato, C., & Gonzalez, J. (2007). *Microbial ecology of submerged marine caves and holes characterized by high levels of hydrogen sulphide*. *Life in Extreme Environments*, 115-124.
- Canganella, F., Bianconi, G., Kato, C., & Gonzalez, J. (2007). *Microbial ecology of submerged marine caves and holes characterized by high levels of hydrogen sulphide*. *Life in Extreme Environments*, 115-124.
- Canganella, F., Bianconi, G., Portillo Guisado, M. D. C., & González Grau, J. M. (2006). *Microbial ecology of a sulphidic and anoxic Blue Hole*.
- Cattaneo, R., & Pastorino, M. V. (1974). *Popolamenti algali e fauna bentonica nelle cavità naturali della regione litorale mediterranea*. *Rassegna Speleologica Italiana*, 12, 272-281.
- Chen, B., Yu, K., Fu, L., Wei, Y., Liang, J., Liao, Z., ... & Ma, H. (2023). *The diversity, community dynamics, and interactions of the microbiome in the world's deepest blue hole: Insights into extreme environmental response patterns and tolerance of marine microorganisms*. *Microbiology Spectrum*, 11(6), e00531-23.
- Chen, X., Liu, J., Zhu, X. Y., Xue, C. X., Yao, P., Fu, L., ... & Zhang, X. H. (2023). *Phylogenetically and metabolically diverse autotrophs in the world's deepest blue hole*. *ISME communications*, 3(1), 117.
- Colantoni, P. (1976). *Aspetti geomorfologici e genesi delle grotte sottomarine*. *Pubbl. Staz. Zool. Nap.*, 40, 460-472.
- Colantoni, P., Baldelli, G., Bianchi, C. N., Capaccioni, B., Morri, C., Sandrini, M., & Tassi, F. (2003). *A cave flooded by marine water with hydrogen sulphide highlights the recent evolution of the Maldives (Indian Ocean): preliminary notes*. *GROTTE D'ITALIA*.
- D'Angeli, I. M., Parise, M., Vattano, M., Madonia, G., Galdenzi, S., & De Waele, J. (2019). *Sulfuric acid caves of Italy: A review*. *Geomorphology*, 333, 105-122.
- Danovaro R., 2010. *Methods for the study of Deep-Sea Sediments. Their functioning and Biodiversity*. CRC Press

- Danovaro, R. (2009). *Methods for the study of deep-sea sediments, their functioning and biodiversity*. CRC press.
- Danovaro, R. (2013). *Biologia marina. Biodiversità e funzionamento degli ecosistemi marini* (pp. 1-451). Citta'Studi, De Agostini Scuola spA.
- Danovaro, R., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Fabiano, M., & Corselli, C. (2005). Viruses, prokaryotes and DNA in the sediments of a deep-hypersaline anoxic basin (DHAB) of the Mediterranean Sea. *Environmental Microbiology*, 7(4), 586-592.
- Danovaro, R. (2010). *Methods for the Study of Deep-Sea Sediments, Their Functioning and Biodiversity*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- del Mar Mediterraneo orientale. Mediterraneo*
- Fichez, R. (1990). Decrease in allochthonous organic inputs in dark submarine caves, connection with lowering in benthic community richness. *Hydrobiologia*, 207, 61-69.
- Gage, J. D., & Tyler, P. A. (1991). *Deep-sea biology: a natural history of organisms at the deep-sea floor*. Cambridge University Press.
- Gerovasileiou, V., & Bianchi, C. N. (2021). Mediterranean marine caves: A synthesis of current knowledge. *Oceanography and Marine Biology*, 1-87.
- Gerovasileiou, V., & Bianchi, C. N. (2021). Mediterranean marine caves: A synthesis of current knowledge. *Oceanography and Marine Biology*, 1-87.
- Gerovasileiou, V., & Voultsiadou, E. (2012). Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS One*, 7(7), e39873.
- Gerovasileiou, V., & Voultsiadou, E. (2015, maggio). Le grotte marine del Mediterraneo come serbatoi di biodiversità: una panoramica preliminare. In *Simposio sulla conservazione degli habitat oscuri* (p. 45).
- Gerovasileiou, V., Chintiroglou, C., Vafidis, D., Koutsoubas, D., Sini,
- Gerovasileiou, V., Martínez, A., Álvarez, F., Boxshall, G., Humphreys, W. F., Jaume, D., ... & Iliffe, T. M. (2016). World Register of marine Cave Species (WoRCS): a new Thematic Species Database for marine and anchialine cave biodiversity. *Research Ideas and Outcomes*, 2, e10451.
- Giakoumi, S., Sini, M., Gerovasileiou, V., Mazar, T., Beher, J., Possingham, H. P., ... & Katsanevakis, S. (2013). Ecoregion-based conservation planning in the Mediterranean: dealing with large-scale heterogeneity. *PloS one*, 8(10), e76449.
- Gonzalez, B. C., Iliffe, T. M., Macalady, J. L., Schaperdoth, I., & Kakuk, B. (2011). Microbial hotspots in anchialine blue holes: initial discoveries from the Bahamas. *Hydrobiologia*, 677, 149-156.
- Gunn, J. (2004). *Encyclopedia of caves and karst science*. Routledge.
- Harmelin, J. G. (1985). Bryozoan dominated assemblages in Mediterranean cryptic environments. *Bryozoa: Ordovician to recent*, 135-143.
- Hofrichter, R. (Ed.). (2001). *Das Mittelmeer: Fauna, Flora, Ökologie--Bd. I: Allgemeiner Teil*. Spektrum Akademischer Verlag.

- Jahnke, R. A., Craven, D. B., & Gaillard, J. F. (1994). *The influence of organic matter diagenesis on CaCO₃ dissolution at the deep-sea floor. Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58(13), 2799-2809.
- Jamieson, A. J., Fujii, T., Mayor, D. J., Solan, M., & Priede, I. G. (2010). *Hadal trenches: the ecology of the deepest places on Earth. Trends in Ecology & Evolution*, 25(3), 190-197.
- Li, Q., Lei, Y., Morard, R., Li, T., & Wang, B. (2020). *Diversity hotspot and unique community structure of foraminifera in the world's deepest marine blue hole—Sansha Yongle Blue Hole. Scientific reports*, 10(1), 10257.
- Little S. N., van Hengstum P. J., Beddows P. A., Donnelly J. P., Winkler T. S., Albury N. A. (2021). *Unique habitat for benthic foraminifera in subtidal blue holes on carbonate platforms. Front. Ecol. Evol.* 9.
- Liu, R., Wang, L., Wei, Y., & Fang, J. (2018). *The hadal biosphere: Recent insights and new directions. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 155, 11-18.
- M. et al., 2015. *Censimento della biodiversità nelle grotte marine*
- Marano-Briggs, K. (2000). *Water chemistry, bacterial abundance and anoxygenic photosynthetic bacteria in an estuarine Blue Hole, Andros Island, The Bahamas. Unpublished Ph. D. Thesis, George Mason University, Fairfax Co., Virginia, USA, 196pp.*
- Myroie J. E. (2008). *Late quaternary sea-level position : Evidence from Bahamian carbonate deposition and dissolution cycles. Quat. Int.* 183, 61–75. doi: 10.1016/j.quaint.2007.06.030
- Myroie J. E. (2013). “Coastal karst development in carbonate rocks,” in *Coastal karst landforms coastal research library*. Eds. Lace M. J., Myroie J. E. (Dordrecht: Springer Netherlands), 77–109. doi: 10.1007/978-94-007-5016-6_4
- Myroie, J. E., Carew, J. L., & Moore, A. I. (1995). *Blue holes: definition and genesis. Carbonates and evaporites*, 10, 225-233.
- Myroie, J. E., Carew, J. L., & Moore, A. I. (1995). *Blue holes: definition and genesis. Carbonates and evaporites*, 10, 225-233.
- Patin, N. V., Dietrich, Z. A., Stancil, A., Quinan, M., Beckler, J. S., Hall, E. R., ... & Stewart, F. J. (2021). *Gulf of Mexico blue hole harbors high levels of novel microbial lineages. The ISME Journal*, 15(8), 2206-2232.
- Rex, M. A., Etter, R. J., Morris, J. S., Crouse, J., McClain, C. R., Johnson, N. A., ... & Avery, R. (2006). *Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos. Marine Ecology Progress Series*, 317, 1-8.
- Riedl, R. (1966). *Biologie der meereshohlen.*
- Romero, A. (2009). *Cave biology: life in darkness. Cambridge university press.*
- Sandulli, R., Semprucci, F., & Balsamo, M. (2014). *Variazioni tassonomiche e funzionali della biodiversità delle associazioni meiobentoniche e nematodi in un ambiente estremo: un caso di studio in una grotta Blue Hole. Giornale Italiano di Zoologia*, 81 (4), 508-516.
- Schwabe, S. J. (1998). *The Black Hole. Caves and Caving. British Cave Research Association*, 80, 1-22.
- Schwabe, S. J., Parkes, R. J., & Smart, P. L. (1997, May). *Biogeochemical investigation of submerged cave systems (Blue Holes) within Bahamian carbonate platforms. In 97th*

Applied and Environmental Microbiology General Meeting (Abstracts), Miami N (Vol. 101, p. 398).

- Schwabe, S., & Herbert, R. A. (2004). *Black holes of the Bahamas: what they are and why they are black. Quaternary International, 121(1), 3-11.*
- Seinhorst, J. W. (1959). *A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica, 4(1), 67-69.*
- Smart, P. L., Dawans, J. M., & Whitaker, F. (1988). *Carbonate dissolution in a modern mixing zone. Nature, 335(6193), 811-813.*
- Sun, K., Yu, M., Zhu, X. Y., Xue, C. X., Zhang, Y., Chen, X., ... & Zhang, X. H. (2023). *Microbial communities related to the sulfur cycle in the Sansha Yongle Blue Hole. Microbiology Spectrum, 11(5), e01149-23.*
- Todaro, M. A., Leasi, F., Bizzarri, N., & Tongiorgi, P. (2006). *Meiofauna densities and gastrotrich community composition in a Mediterranean Sea cave. Marine Biology, 149, 1079-1091.*
- van Hengstum P. J., Scott D. B., Gröcke D. R., Charette M. A. (2011). *Sea Level controls sedimentation and environments in coastal caves and sinkholes. Mar. Geol. 286, 35–50. doi: 10.1016/j.margeo.2011.05.004*
- Wei, C. L., Rowe, G. T., Escobar-Briones, E., Boetius, A., Soltwedel, T., Caley, M. J., ... & Narayanaswamy, B. E. (2010). *Global patterns and predictions of seafloor biomass using random forests. PloS one, 5(12), e15323.*
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). *Prokaryotes: the unseen majority. Proceedings of the National Academy of Sciences, 95(12), 6578-6583.*
- Yayanos, A. A. (1995). *Microbiology to 10,500 meters in the deep sea. Annual review of microbiology, 49(1), 777-805.*
- Zeppilli, D., Leduc, D., Fontanier, C., Fontaneto, D., Fuchs, S., Gooday, A. J., ... & Fernandes, D. (2018). *Characteristics of meiofauna in extreme marine ecosystems: a review. Marine Biodiversity, 48, 35-71.*
- Zhang, Y., Xu, H., Wang, L., Liu, R., Fu, L., & Lin, K. (2021). *Unique bacterial communities and potential function along the vertical gradient in the deepest marine blue hole. Environmental Microbiology Reports, 13(6), 911-927.*
- Zhou, S., Liu, J., Yao, P., Fu, L., Yang, Z., Zhang, Y., ... & Yu, M. (2023). *Unique bacterial communities and lifestyles in deep ocean blue holes: Insights from the Yongle Blue Hole (South China Sea). Frontiers in Marine Science, 10, 1086117.*