



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E
DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Magistrale

BIOLOGIA MARINA

**VALUTAZIONE DELL'ACCRESIMENTO DI TALEE DI
POCILLOPORA DAMICORNIS (LINNEO, 1758) SOTTO LAMPADE
LED E HQI TRAMITE LA FOTOGRAMMETRIA
TRIDIMENSIONALE**

**GROWTH ASSESSMENT OF *POCILLOPORA DAMICORNIS*
(LINNEO, 1758) NUBBINS UNDER LED AND HQI LAMPS USING
TRIDIMENSIONAL PHOTOGRAMMETRY**

Tesi di Laurea Magistrale di:

Luca Andreina

Relatore:

Prof. Carlo Cerrano

Correlatori:

Dott. Stefano Gridelli

Dott. Ubaldo Pantaleo

Sessione straordinaria Febbraio 2020

Anno Accademico 2018/2019

Sommario

1. INTRODUZIONE.....	5
1.1. Scopo del lavoro	5
1.2. Specie studiata.....	6
1.3. Acquario di cattolica	32
1.4. La problematica e le luci.....	34
1.5. Illuminazione acquario e sistema a	35
2. MATERIALI E METODI.....	43
2.1. Impianto sperimentale	43
2.2. Talee	45
2.3. Indice mitotico	46
2.4. Fotogrammetria e modello 3D	48
2.5. Analisi statistica	58
3. RISULTATI.....	60
3.1. Risultati dei modelli 3D.....	60
3.2. Risultati dell'indice mitotico e densità delle zooxantelle.....	71
4. DISCUSSIONE.....	80
4.1. Modelli 3D.....	80
4.2. Indice mitotico e densità delle zooxantelle.....	80
5. CONCLUSIONI	88
6. BIBLIOGRAFIA.....	93
RINGRAZIAMENTI.....	108

1. INTRODUZIONE

1.1. Scopo del lavoro

Questo lavoro di tesi nasce dalla necessità, da parte dell'Acquario di Cattolica, di indagare le cause all'origine di una problematica riguardante la sopravvivenza delle colonie del corallo *Pocillopora damicornis* nelle vasche espositive, riscontrata fin dall'apertura dell'acquario. Nello specifico, una delle possibili cause è stata identificata nell'illuminazione; per questo motivo è stato condotto uno studio con il fine di valutare gli effetti dell'illuminazione derivante da due tipologie di lampade diverse (HQI e LED) sul corallo.

Una seconda finalità di questo lavoro è quella di fornire uno strumento valido agli organi di gestione dell'Acquario per semplificare la decisione riguardo al futuro del parco luci dell'azienda. Il passaggio dall'illuminazione HQI a quella LED rappresenterebbe un vantaggio sia dal punto di vista economico, riducendo consumi e costi di manutenzione, che da quello ecologico, riducendo l'impatto ambientale. Tale passaggio verrà preso in considerazione solo nel caso in cui non siano riscontrati effetti negativi.

Infine, la scelta del metodo per la valutazione dell'accrescimento è ricaduta sulla fotogrammetria tridimensionale, tecnica non invasiva che consente di ricavare misurazioni accurate e ripetibili sia in ambito terrestre che subacqueo.

1.2. Specie studiata

La specie di corallo utilizzata durante questo lavoro è *Pocillopora damicornis* (Linneo, 1758), comunemente chiamata anche “corallo cavolfiore”, appartenente al phylum degli Cnidaria, Classe Anthozoa, Ordine Scleractinia, Famiglia Pocilloporidae, Genere Pocillopora.

Phylum Cnidaria

Il phylum degli Cnidari comprende all'incirca 11200 specie, distribuite in sei classi: Staurozoa, Scyphozoa, Myxozoa, Hydrozoa, Cubozoa e Anthozoa (Pechenik, 2014). Gli appartenenti a questo phylum sono caratterizzati da un'organizzazione corporea a simmetria raggiata e dalla presenza di una sola apertura con funzione orale ed anale, circondata da tentacoli adibiti all'intercettazione del cibo. Gli cnidari, inoltre, possiedono una struttura unica: gli cnidi, spesso indicati come nematocisti. Gli cnidi sono prodotti in cellule chiamate cnidoblasti, sviluppate dalle cellule interstiziali nell'epiderma e, in molti gruppi, nel gastroderma. Una volta che lo cnida è completamente formato, la cellula viene propriamente definita cnidocita (Brusca & Brusca, 2003). Ogni cnida consiste di una capsula proteinacea arrotondata, con un'apertura ad un'estremità spesso chiusa da un opercolo articolato. All'interno della capsula, si trova un tubo cavo ed arrotolato (Pechenik, 2014). Gli cnidociti sono, inoltre, dotati di un recettore, detto cnidocilio, in grado di captare stimoli fisici come lo spostamento dell'acqua; quando sufficientemente stimolato, questo può indurre l'espulsione (esocitosi) del tubulo dalla cellula che va a penetrare (nematociti) o avvolgere (spirociti) la vittima. In diverse specie, associata alla struttura meccanica del cnidocita, è presente una miscela tossica; questa può rivestire il tubulo oppure essere iniettata direttamente nel corpo della vittima.

Molte specie di cnidari mostrano un ciclo di vita dimorfico composto da due distinti piani corporei: una forma sedentaria, detta polipoide, ed una forma planctonica, detta medusoide. In entrambe le forme, l'individuo è caratterizzato da un doppio strato cellulare (Figura 1): lo strato esterno, definito ectoderma (o epiderma), e quello interno (gastroderma) sono separati da uno strato privo di cellule chiamato mesoglea.

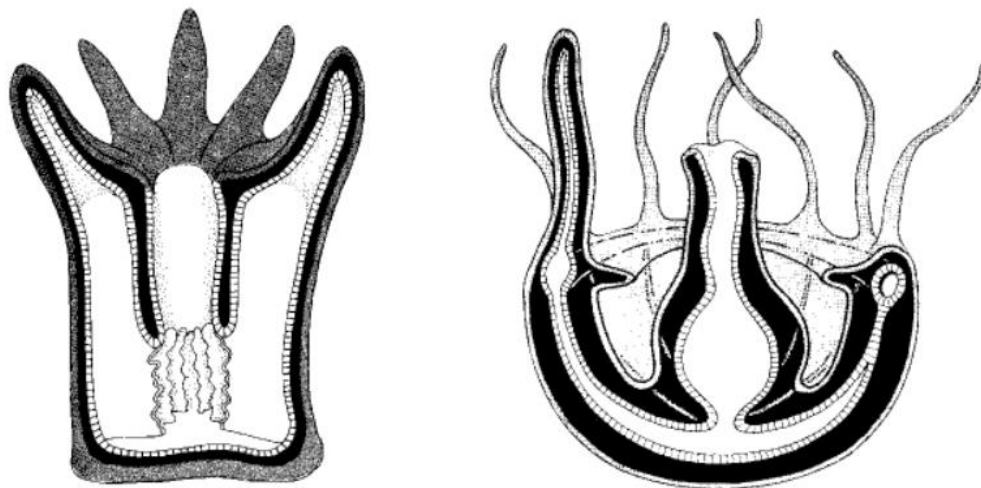


Figura 1: rappresentazione schematica della sezione di polipo (sinistra) e medusa (destra, posta sottosopra per avere lo stesso orientamento). Lo strato più esterno è l'ectoderma, lo strato intermedio è la mesoglea, lo strato più interno è il gastroderma. (Brusca & Brusca, 2003)

Lo stadio medusoide, presente in tutte le classi appartenenti agli cnidari ad eccezione degli Antozoi, è caratterizzato da una superficie superiore convessa, chiamata ombrello, ed una inferiore, subombrella, che ospita, al centro, la cavità orale (Figura 1). La cavità gastrovascolare (celenteron) si trova tra l'epiderma dell'ombrello e l'epiderma del subombrello; alla periferia dell'ombrello si sviluppano i tentacoli che possono variare in lunghezza e forma. Solitamente le meduse sono organismi non molto diversificati; la relativa uniformità è il risultato del loro stile di vita, per la maggior parte planctonico, molto raramente sessile, e della loro incapacità di formare colonie tramite riproduzione asessuata (Brusca & Brusca, 2003).

Lo stadio polipoide è, al contrario, molto differenziato all'interno degli cnidari, come conseguenza dello stile di vita sessile e della capacità di formare colonie per riproduzione asessuata. I polipi hanno una struttura tubulare (Figura 1) dove, nella parte superiore, si sviluppa il disco orale che ospita i tentacoli e, al centro, la cavità orale; all'estremità inferiore è presente il disco basale, con funzione di adesione al substrato. La bocca e il celenteron sono collegati dalla faringe, ad eccezione degli idrozoi, nei quali manca questo collegamento. All'interno della cavità gastrovascolare, si possono sviluppare delle membrane verticali che prendono il nome di mesenteri o setti, che possono essere distinti in due tipologie: nel caso in cui la membrana si estenda dalla parete corporea alla faringe si parla di mesenteri completi, se non c'è la connessione con la faringe, invece, il mesentere viene definito incompleto. I mesenteri contengono spessi muscoli retrattori longitudinali e sostengono anche le gonadi (Pechenik, 2014). Negli Scifozoi, il celenteron è parzialmente suddiviso da quattro mesenteri longitudinali; negli Antozoi invece è estremamente compartimentalizzato (Brusca & Brusca, 2003). Queste invaginazioni di gastroderma e mesoglea incrementano sensibilmente la superficie disponibile per la secrezione di enzimi digestivi e l'assorbimento dei nutrienti. Nei Cubozoi e Idrozoi, il celenteron è indiviso, sprovvisto cioè di mesenteri.

Classe Anthozoa

La classe degli Antozoi conta circa 6000 specie, quasi il 70% di tutti gli cnidari descritti (Pechenik, 2014); per questo motivo è la classe più diversificata all'interno degli Cnidari e questa diversità si riflette nelle grandi variazioni nella morfologia del polipo (Colin & Arneson, 1995). L'assenza dello stadio medusoide, caratteristica unica di questa classe di cnidari, comporta la

produzione dei gameti direttamente dal polipo: una planula si sviluppa dall'uovo fecondato e metamorfosa andando a formare un altro polipo. La larva di alcuni Antozoi può nutrirsi di fitoplancton ed altre particelle microscopiche; nessun'altra planula in grado di nutrirsi è stata trovata in altri gruppi appartenenti agli cnidari (Pechenik, 2014). Molte specie di Antozoi inoltre si riproducono anche asessualmente, ricorrendo alla scissione longitudinale o trasversale del polipo che può verificarsi intratentacolarmente (all'interno del disco orale) o extratentacolarmente (fuori dal disco orale) (Colin & Arneson, 1995). In alternativa, i polipi possono ricorrere alla lacerazione del disco basale, in cui le parti del disco basale si staccano dal resto dell'animale e gradualmente si differenziano a formare nuovi individui. Un'ultima possibilità è rappresentata dal rilascio dei polipi che sono sottoposti a stress: questi abbandonano la colonia, lasciandosi trasportare per brevi distanze, e andando a svilupparne una nuova (Colin & Arneson, 1995).

Come molti Idrozoi e Scifozoi, gli Antozoi sono principalmente carnivori; catturano il cibo usando tentacoli ricoperti di nematocisti, trasferendolo poi alla cavità orale centrale (Pechenik, 2014). Tuttavia, i polipi degli Antozoi differiscono da quelli degli Idrozoi per alcune caratteristiche: nella prima classe la faringe è presente e collega cavità orale e gastrovascolare; nella seconda è invece assente, e la bocca si apre direttamente sul celenteron. Inoltre, la faringe degli Antozoi è caratterizzata da uno o due solchi ciliati, chiamati sifonoglifi, che convogliano l'acqua dall'esterno al celenteron, attraverso la bocca (Figura 2).

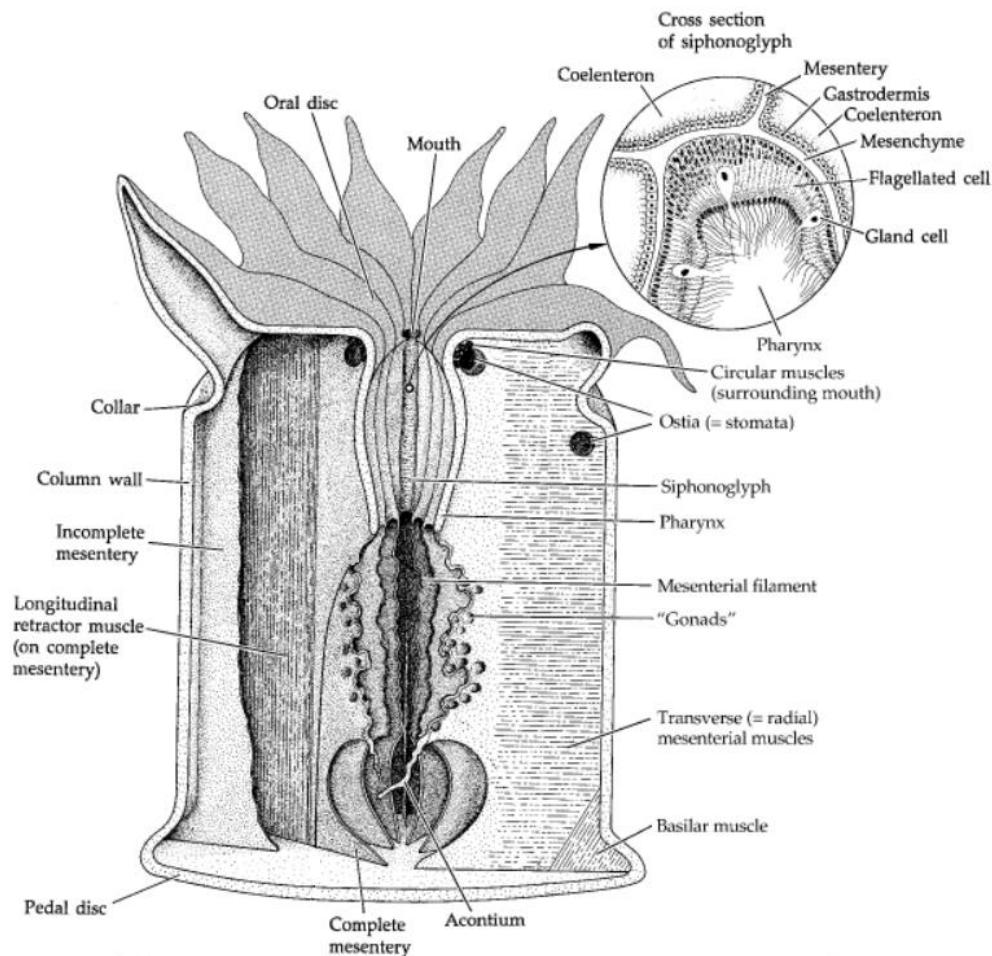


Figura 2: rappresentazione di un polipo della classe Anthozoa. (Bruca & Brusca, 2003)

Nei polipi degli Antozoi, oltre ai muscoli longitudinali, sono presenti dei muscoli circolari che permettono l'apertura e la chiusura della cavità orale: questo meccanismo consente di regolare la quantità d'acqua all'interno del celenteron, che funge da scheletro idrostatico quando la bocca è chiusa. In caso di emergenza, il polipo può rilassare i muscoli circolari, aprendo così la bocca e rilasciando l'acqua: in questo modo lo scheletro idrostatico viene meno e il polipo si può ritrarre. Una volta che il pericolo è passato, il celenteron viene riempito nuovamente dall'acqua convogliata dagli sifonoglifi, estendendo il polipo.

Gli Antozoi si dividono in tre sottoclassi: Ceriantaria, Hexacorallia, Octocorallia (WoRMS, 2020).

Sottoclasse Hexacorallia

Gli Esacoralli possiedono numerosi tentacoli attorno all'apertura orale (solitamente in numero multiplo di sei) e sei paia di mesenteri primari. Molte specie di questa sottoclasse sono solitarie, mancano di qualsiasi copertura protettiva e prendono il nome di anemoni di mare (Pechenik, 2014); altre, invece, tendono ad essere coloniali e mai polimorfiche. Di queste ultime, le specie più conosciute sono i coralli duri, così chiamati per la loro capacità di secernere un esoscheletro di carbonato di calcio: questi vengono chiamati sclerattinie, nome derivante dall'Ordine Scleractinia a cui appartengono (Pechenik, 2014). Possono essere suddivisi in due categorie: i coralli costruttori, o ermatipici, e i coralli non costruttori, o aermatipici (Patrick & Arneson, 1995; Brusca & Brusca, 2003; Pechenik, 2014).

Le sclerattinie ermatipiche, vengono definite costruttori in relazione alla loro capacità di deporre uno scheletro a sostegno dei polipi. Tale scheletro è composto principalmente da aragonite, una forma cristallina fibrosa del carbonato di calcio (CaCO_3). Sono coinvolte tre matrici nella costruzione dello scheletro (Helman et al., 2008):

1. una matrice organica: composta principalmente da collagene e glicoproteine adesive, facilita l'adesione tra le cellule e tra queste ed il substrato;
2. una matrice organico-scheletrica: composta da amino acidi e polisaccaridi a base di zolfo (Cuif et al., 1999), che facilita la nucleazione e la cristallizzazione del carbonato di calcio;
3. la matrice carbonatica: forma lo scheletro vero e proprio e consente il supporto strutturale per l'organizzazione tridimensionale delle colonie.

La deposizione dello scheletro avviene nella parte basale del polipo: il disco basale secerne le matrici organica e organico-scheletrica nello spazio sottostante al polipo; successivamente si verifica la nucleazione (mediata dalla matrice organico-scheletrica) e la cristallizzazione del carbonato di calcio sotto forma di aragonite. Una volta deposto lo strato scheletrico, il disco basale del polipo si stacca e si solleva, creando lo spazio per la deposizione dello strato successivo. La conformazione dello scheletro è strettamente caratteristica di ogni specie di corallo ed è per questo che la tassonomia dei coralli è basata sulla morfologia di quest'ultimo (Ditlev, 2015).

La struttura scheletrica del singolo polipo viene definita corallite (Figura 3): se il corallite crea delle pareti, la depressione all'interno dello scheletro viene chiamata calice; a completare il corallite, nella parte sottostante si trova la piastra basale, fusa alla struttura scheletrica porosa che collega tra di loro i coralliti della colonia, chiamata cenosteo, che viene riempita dal tessuto dei polipi. Dalla piastra basale, inoltre, si irradiano i setti che, nelle sclerattinie, sono lamine verticali calcificate secrete dai mesenteri, solitamente in multipli di sei: il primo sestetto sviluppato prende il nome di setti primari, i successivi sono chiamati setti secondari, terziari, etc. e duplicano il numero di setti del ciclo precedente. La parte centrale del corallite ospita un processo scheletrico chiamato columella, che si sviluppa dal centro della piastra basale (Brusca & Brusca, 2003) e che può essere articolata in modi diversi: papillosa quando composta da barre nastriformi, trabecolare quando formata da espansioni irregolari derivanti dalla parte centrale di setto e piastra basale, lamellare e stiliforme (Ditlev, 2015). La columella offre supporto al disco orale e alla bocca mentre i setti supportano i tentacoli.

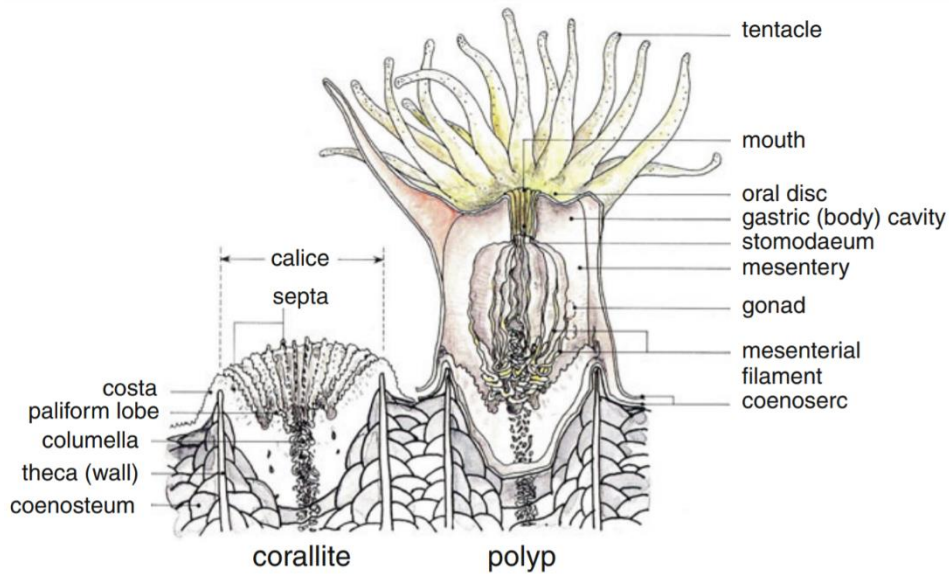


Figura 3: rappresentazione di un polipo di esacorallo all'interno della colonia. (Adattato da Nischhira, 1995)

L'insieme dei coralliti forma una colonia che si accresce grazie al loro sviluppo. La formazione di nuovi polipi avviene per divisione intratentacolare, all'interno della parete di un corallite, dove il nuovo polipo si sviluppa dividendosi dal centro o dalla periferia del calice. Questo tipo di riproduzione si osserva soprattutto nelle zone della colonia caratterizzate da un'alta densità di coralliti mentre nelle aree con densità inferiore, solitamente le aree più vecchie della colonia, la riproduzione è soprattutto extratentacolare. In questo caso, la produzione di nuovi coralliti avviene al di fuori del corallite progenitore.

Le colonie si possono sviluppare con diverse morfologie:

- ramificata: caratterizzate da un ramo principale e diverse ramificazioni secondarie;
- digitata: protuberanze corte prive di rami secondari;
- massiva: forme regolari, emisferiche o sferiche, possono raggiungere grandi dimensioni;
- incrostante;
- piatta: con strutture tavoliformi e ramificazioni fuse insieme;

- colonnare o submassiva: ramificazioni corte e spesse a forma di pomi, colonne o cunei che sporgono da una base incrostante;
- fogliacea: ampie porzioni piatte che si sviluppano in lamine verticali o orizzontali;
- solitaria: forme solitarie, a vita sessile o libera, costituite da un unico polipo che può presentare più bocche.

La distribuzione della maggior parte dei coralli ermatipici è limitata ad acque calde e limpide; sono particolarmente abbondanti nelle aree tropicali dell'Indo-Pacifico, dove possono formare scogliere coralline di impressionanti dimensioni, come la Grande Barriera Corallina, che si sviluppa per più di 2000 km in lunghezza, a largo della costa orientale dell'Australia. A livello ecologico, le scogliere coralline sono di vitale importanza per gli ecosistemi marini delle aree che abitano; le acque tropicali, infatti, sono solitamente oligotrofiche e, perciò, povere di fitoplancton o produttori primari. È proprio in queste acque che le comunità dei coralli rappresentano oasi di vita (Castro & Huber, 1949).

Alla base della struttura trofica delle scogliere c'è la relazione mutualistica tra coralli e zooxantelle. Le zooxantelle sono dinoflagellate simbiotiche presenti in quasi tutte le specie di coralli tropicali e costruttori, meduse e anemoni di mare. Hanno forma coccoide nello stato simbiotico e sono state assegnate al genere *Symbiodinium* (Lee, 2008), specie *Symbiodinium microadriaticum*. In passato questo gruppo di microalghe era stato identificato come un'unica specie ma evidenze genetiche hanno rivelato una ricca diversità e divergenza all'interno del genere *Symbiodinium* (LaJeunesse et al., 2018). Per questo motivo sono stati designati dei "cladi" basati sulle differenze filogenetiche che caratterizzano le numerose linee evolutive di questo genere. Storicamente, in

letteratura, la designazione del clade viene spesso valutata come un livello tassonomico equivalente alla specie. Nonostante esista questa suddivisione in cladi, grazie all'evoluzione delle tecniche molecolari si identificano continuamente nuove differenze che portano alla nascita di numerosi "sub-cladi", "tipi" e "forme" (LaJeunesse et al., 2018). Il genere *Symbiodinium* è attualmente diviso in 9 cladi filogeneticamente divergenti, denominati con lettere dalla A alla I (Pochon & Gates, 2010; Yamashita et al., 2014).

La relazione che si instaura tra il corallo e la zooxantella è di tipo endosimbiotico mutualistico: l'ospite (il corallo) trattiene le microalghe all'interno di vacuoli delle cellule gastrodermiche (Ladriere et al., 2008). Il reclutamento delle zooxantelle avviene principalmente durante la fase larvale, in cui la planula può acquisire *Symbiodinium* in due modi: tramite trasmissione verticale (eredità materna) in cui la planula porta con sé la sua "coltura" di zooxantelle quando lascia il polipo parentale da cui si è sviluppata (Danovaro, 2018), oppure tramite trasmissione orizzontale (reclutamento dall'ambiente) (Yamashita et al., 2014). Nel caso di trasmissione orizzontale, non è tutt'ora chiaro se lo stabilimento della relazione simbiotica sia guidato da meccanismi selettivi da parte del corallo verso il simbionte oppure se le microalghe vengano acquisite casualmente dall'ambiente circostante (Yamashita et al., 2014). Tuttavia, in tutte le simbiosi corallo-zooxantelle, è stata documentata una relazione specie specifica: generalmente, ogni specie di corallo ospita un singolo clade di simbionte (Smith et al., 2017). Successivamente all'acquisizione, le zooxantelle si sviluppano nei tessuti dell'ospite in popolazioni che possono raggiungere densità comprese tra $1-2 \times 10^6$ (Brusca & Brusca, 2003) e $1-5 \times 10^6$ (Muller-Parker & Davy, 2001; Pechenik, 2014) cellule per cm^2 ; è grazie a queste elevate densità che le cellule algali conferiscono all'ospite il colore che lo caratterizza.

La relazione simbiotica che si instaura è positiva per entrambe le parti: la zooxantella trova riparo all'interno dei tessuti del polipo, sfruttandone le sostanze di scarto, che contengono composti azotati e fosfati, e il diossido di carbonio derivante dalla respirazione; le cellule dell'ospite acquisiscono l'ossigeno derivante dai processi fotosintetici che diffonde passivamente. Inoltre, tramite la secrezione dell'aminoacido taurina, inducono il rilascio, da parte delle cellule algali, dei materiali derivanti dalla fotosintesi, acquisendoli come nutrienti (Wang & Douglas, 1997; Lee, 2008).

Per mantenere una relazione simbiotica efficiente, la popolazione delle zooxantelle dev'essere tenuta sotto controllo da parte del polipo; è stato, infatti, osservato che le cellule algali in coltura crescono dieci volte più velocemente rispetto alle cellule in simbiosi. Questo conferma, quindi, che per evitare che la popolazione microalgale diventi insostenibile, l'ospite esercita un forte controllo sul trasferimento dei metaboliti derivanti dagli endosimbionti, che si traduce nel rilascio del 98% del carbonio fissato da *Symbiodinium* all'ospite; al contrario, le cellule in coltura rilasciano solo il 10% del carbonio fissato (Trench, 1993; Lee, 2008).

I coralli che ospitano alghe simbiotiche ricavano beneficio anche nella costruzione dello scheletro: è stato osservato che i coralli zooxantellati calcificano più velocemente durante il giorno rispetto alla notte, con un tasso fino a tre volte superiore (Gattuso et al., 2000; Lee, 2008; Pechenik, 2014). I processi che consentono questo effetto positivo sono ancora in fase di studio, ma l'ipotesi principale propone un meccanismo basato sul prelievo del diossido di carbonio da parte delle alghe simbiotiche che causa l'innalzamento del pH all'interno dei tessuti dell'ospite. Nello specifico, la sottrazione di CO₂ da parte delle zooxantelle, incrementa la concentrazione di ioni carbonato e facilita la precipitazione di carbonato di calcio (Goreau, 1959; Allemand et al., 1998).

Questo processo è ben documentato e, in letteratura, viene definito come “Light Enhanced Calcification” (LEC) (Cohen et al., 2016).

Questa simbiosi mutualistica è quindi fondamentale per la sopravvivenza degli ecosistemi tropicali non solo per la grande produttività offerta dalle zooxantelle, ma anche perché permette la creazione di una rete trofica efficiente basata sulle comunità che si sviluppano attorno alle scogliere coralline. In particolare, le colonie di coralli creano spazi tridimensionali, all’interno dei quali vengono ospitati rappresentanti di tutti i livelli trofici: per quanto riguarda i produttori primari, oltre alle zooxantelle già citate, sono presenti alghe incrostanti e filamentose che sfruttano l’enorme quantità di substrato a disposizione sulle scogliere colonizzandolo. L’insieme di alghe simbiotiche e alghe a vita libera rende le scogliere coralline uno degli ecosistemi più produttivi dell’ambiente marino (Moberg & Folke, 1999; Allemand & Furla, 2018; Allemand & Osborn, 2019). I consumatori primari sono invece importanti soprattutto per il loro ruolo nella limitazione della crescita delle comunità algali che, altrimenti, prenderebbero il sopravvento mettendo a rischio la sopravvivenza dei coralli stessi. I consumatori secondari comprendono anche i coralli, che si nutrono del plancton, ed i loro predatori. Tutti i gruppi sopracitati sono caratterizzati da una vastissima biodiversità, la maggior parte della quale non deriva dai coralli stessi (circa 1000 specie) ma piuttosto dalle comunità che vivono nell’ambiente corallino: le barriere coralline contengono infatti circa il 25% della biodiversità complessiva degli oceani (Allsopp, 2009).

Bleaching

Nel caso in cui le condizioni che rendono possibile e stabile la relazione simbiotica tra zooxantelle e corallo vengano meno, può verificarsi quello che viene definito come *bleaching*. Il *bleaching*, letteralmente “sbiancamento”, è il processo per cui le zooxantelle vengono espulse dai tessuti dell’ospite, che diventano trasparenti, rendendo visibile lo scheletro bianco (Armon & Hänninen, 2015) (Figura 4).

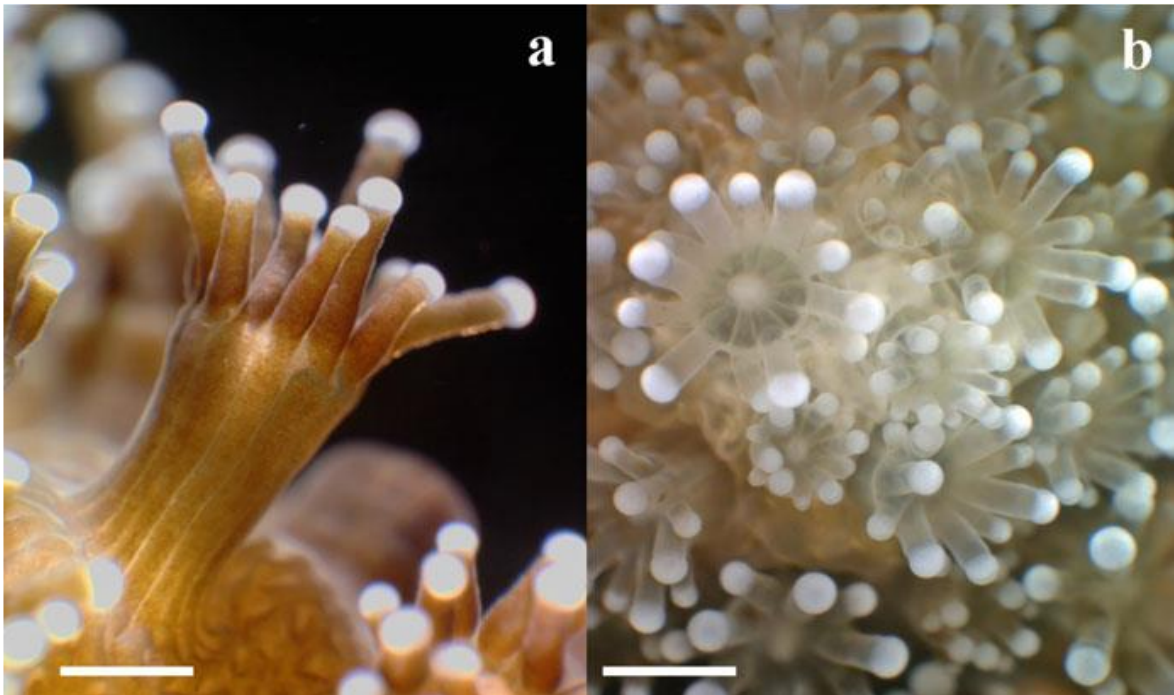


Figura 4: **a**: polipi non sbiancati con popolazione visibile di zooxantelle (barra bianca = 0.25 mm). **b**: polipi sbiancati con tessuti trasparenti (barra bianca = 0.5 mm). Entrambe le immagini mostrano polipi del corallo *Stilophora pistillata*. Fotografie di E. Tambutté. (Plass-Johnson, 2015)

L’interruzione della simbiosi comporta la perdita dello scambio di energia derivante dalla fotosintesi (Hoegh-Guldberg et al. 1989), che risulta essenziale per la sopravvivenza del corallo dato che, da questa relazione, il polipo ricava fino al 96% (Muscatine, 1990) dei composti necessari per metabolismo, crescita e riproduzione.

Lo sbiancamento può essere provocato da fattori sia biotici che abiotici: la principale causa è l’aumento della temperatura dell’acqua, che determina uno

stress termico fisiologico (Hoegh-Guldberg, 1999; Hueerkamp et al., 2001); in secondo luogo, l'eccessiva esposizione alle radiazioni solari, sia visibili (Hoegh-Guldberg et al. 1989; Banaszak et al. 2009) sia ultraviolette (Shick et al. 1996), può determinare ulteriori stress fisiologici che possono amplificare l'impatto dello stress termico. Gli eventi di *mass bleaching* possono essere, per esempio, correlati a periodi prolungati con temperature dell'acqua elevate, associati agli eventi ENSO (El Niño-Southern Oscillation), che interessano molteplici regioni oceaniche (Hoegh-Guldberg, 1999). Oltre alle cause appena descritte, altri fattori abiotici che possono determinare la comparsa del *bleaching* sono: temperature dell'acqua basse (Gates et al. 1992; Kobluk et al. 1994; Saxby et al. 2003), acidificazione oceanica (Anthony et al., 2008), fluttuazioni nella salinità (Kerswell et al. 2003), aumento dell'apporto di nutrienti (Wiedenmann et al., 2013), esposizione a cianuro (Jones et al. 1999). Ancora, il *bleaching* può essere una diretta conseguenza dell'infezione del tessuto del corallo ad opera di batteri gram negativi del genere *Vibrio* (Armon & Hänninen, 2015). In ogni caso, la sola presenza di *Vibrio* non è sufficiente a scatenare il *bleaching* in quanto i fattori di virulenza per l'adesione e l'ingresso nel tessuto del corallo e la Tossina P vengono prodotti dal batterio solo in condizioni di elevata temperatura dell'acqua (Banin et al., 2000).

Il *bleaching* avviene a causa di due processi, innescati dai fattori appena descritti: la fotoinibizione e lo stress ossidativo, che possono manifestarsi in modo indipendente l'uno dall'altro, oppure contemporaneamente all'interno delle zooxantelle. La fotoinibizione è il processo per cui l'esposizione a luce ad alta intensità causa la riduzione dell'attività del fotosistema II (PSII), dovuta ad uno squilibrio tra il tasso di riparazione del PSII e il suo tasso di danneggiamento (Murata et al., 2007). Oltre alla luce, anche l'aumento della temperatura può causare fotoinibizione (Powles, 1984; Murata et al., 2007;

Plass-Johnson et al., 2015), agendo in modo negativo in molteplici aspetti quali l'inattivazione dell'enzima Rubisco (Lilley et al. 2010) e la compromissione dell'integrità della membrana tilacoidale (Franklin et al., 2004). Lo stress ossidativo si verifica quando, in un organismo, la produzione e l'accumulo di Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS) superano la capacità dello stesso organismo di controllarne i livelli (Fridovich, 1998) tramite gli antiossidanti. La produzione dei ROS può aumentare sensibilmente in cellule fotosintetiche, come le zooxantelle, quando esposte a temperature elevate e radiazioni UV (Suggett et al., 2008); allo stesso modo, lo stress termico può indurre la produzione di ROS anche nelle cellule del corallo (Dyken et al., 1992). Entrambi i processi appena descritti hanno, come risultato finale, l'interruzione della simbiosi da parte del corallo, che può adottare diversi meccanismi cellulari per l'eliminazione delle zooxantelle dai propri tessuti. Come descritto da Weis (2008), il corallo può reagire: degradando le cellule algali attivamente (Chen, 2005); tramite l'esocitosi dei simbionti vivi all'interno della cavità gastrica; tramite la necrosi delle cellule contenenti i simbiosomi; tramite l'apoptosi delle cellule con simbiosomi. Per quanto riguarda l'apoptosi, sono state proposte due possibili spiegazioni riguardo al funzionamento del processo: la prima vede l'apoptosi come un meccanismo per la mitigazione dei danni prodotti dai ROS, per mantenere l'omeostasi del tessuto eliminando le cellule danneggiate (Dunn et al., 2004); la seconda la descrive invece come una risposta immunitaria innata, che riconosce i simbionti danneggiati dallo stress ossidativo e tenta di rimuoverli tramite il suicidio cellulare (Weis, 2008). L'esocitosi delle zooxantelle da parte del corallo rimuove, quindi, la fonte dello stress ma elimina anche la risorsa principale per la sopravvivenza del corallo; per questo motivo l'espulsione dei simbionti è una misura estrema adottata dal

polipo per sopravvivere, in attesa che i forzanti che hanno causato il *bleaching* cessino di esistere o quantomeno si attenuino.

La resistenza del corallo allo sbiancamento varia sensibilmente in base alla specie: le specie solitamente meno resistenti sono quelle a crescita più veloce, come le appartenenti alle famiglie di Pocilloporidae e Acroporidae (specialmente le forme ramificate e tabulari), mentre le più resistenti sono le forme massive e a crescita lenta come le Poritidae (Marshall et al. 2006). La caratteristica che risulta più importante nel determinare la resistenza al *bleaching* è il tipo di zooxantella ospitato nel corallo: come precedentemente descritto, esistono diversi cladi di zooxantelle all'interno dello stesso genere, caratterizzati da una diversa suscettibilità allo stress termico (Rowan, 1998). In alcuni casi, all'interno dello stesso corallo, si possono trovare cladi diversi di zooxantelle: questo corredo diversificato può conferire la capacità al corallo di variare la composizione percentuale delle microalghe in relazione all'apporto di radiazioni, riuscendo ad acclimatarsi e diventando più resistente allo stress termico (Ulstrup et al., 2006). Nel caso in cui le condizioni migliorino e il polipo sia ancora vivo, le zooxantelle possono ripopolare i tessuti del polipo, permettendo al corallo di sopravvivere al *bleaching* (Saravanan et al., 2017). Molteplici studi sono stati effettuati con lo scopo di valutare la capacità di intere comunità (Buglass et al. 2016; Hughes et al. 2017; Perry 2017), o delle singole specie di corallo (D'Croz & Maté, 2000; Hueerkamp et al., 2001), di sopravvivere e recuperare le piene funzionalità dopo eventi come quelli appena descritti. Per quanto riguarda le intere comunità, dopo eventi severi e diffusi come quelli verificatisi nel 1998 o nel 2016, i tempi stimati di recupero completo sono di 10-15 anni (Connell et al., 1997; Gilmour et al., 2013; Perry, 2017), se non più lunghi nel caso in cui si verifichi la morte di coralli molto

grandi, la cui sostituzione potrebbe richiedere decine di anni (Hughes et al., 2017).

Per quanto riguarda gli effetti del *mass bleaching*, a livello ecosistemico è stato osservato che la complessità della comunità e la copertura totale delle specie coralline diminuiscono (Buglass et al., 2016), così come la rugosità (Perry & Morgan, 2017), anche in relazione all'intensità dell'evento: come evidenziato nello studio di Hughes (2017), nella Grande Barriera Corallina, le aree colpite da eventi di intensità moderata hanno mostrato il declino quasi esclusivo delle specie sensibili, mentre, nelle zone maggiormente impattate, il *bleaching* ha interessato tutti i taxon, sia resistenti che non. La principale conseguenza di eventi di questo tipo è sicuramente la perdita di biodiversità: gli organismi che dipendono dai coralli per il nutrimento, il riparo o che attuano la riproduzione tramite fertilizzazione esterna sono quelli maggiormente minacciati, con l'estinzione che può diventare un rischio concreto in conseguenza alla perdita dell'habitat di barriera (Marshall et al., 2006). In termini di conservazione, è quindi fondamentale organizzare azioni di mantenimento e salvaguardia tramite la gestione di aree protette in grado di garantire la sopravvivenza di specie ed ecosistemi minacciati, incluse le scogliere coralline (Buglass et al., 2016; West et al., 2003), associate a rapide e decise azioni per la riduzione del riscaldamento globale.

Famiglia Pocilloporidae e Pocillopora damicornis (Linneo, 1758)

La famiglia Pocilloporidae (Gray, 1849) fa parte dell'ordine Scleractinia; al suo interno troviamo diversi generi, tra i quali il genere *Pocillopora*. Questa famiglia è caratterizzata da colonie soprattutto ermatipiche, generalmente ramificate con calici circolari o poligonali di dimensioni minori di 2 mm.

All'interno del corallite, raramente si distinguono più di due serie di setti, che sono a loro volta ridotti. Tutte le specie appartenenti a questa famiglia condividono gli stessi colori, che possono andare dal rossastro opaco al giallo pallido, con eccezioni di colore viola, blu o verde in colonie che si trovano in acque superficiali molto limpide (Hylleberg et al., 2015). La formazione della colonia avviene per divisione extratentacolare (Veron, 1976).

Il genere *Pocillopora* (Lamarck, 1816) identifica colonie ramificate con strutture superficiali assomiglianti a verruche, dalle quali si originano nuovi coralliti; raramente le colonie sono massive o incrostanti e, all'interno dei coralliti, i setti sono poco sviluppati nella maggior parte delle specie. Il colore che ricorre più spesso è il marrone, con i polipi che possono assumere sfumature del nero, verde, viola, blu e bianco (Hylleberg et al., 2015; Veron, 1976).

La specie utilizzata per questo studio è *Pocillopora damicornis* (Linneo, 1758), denominata comunemente “corallo cavolfiore”, caratterizzata dalla formazione di colonie con braccia sottili a sezione circolare e con verruche poco sviluppate o mancanti. I coralliti hanno dimensioni che variano da 0.7 a 1.5 mm in diametro, con columella assente o poco sviluppata (Veron, 1976) (Figura 5).



Figura 5: colonie di *Pocillopora damicornis* sul reef (sinistra, fotografia di Ahmed Abdul Rahman) e all'Acquario di Cattolica (destra).

È uno dei coralli più comuni che si possono osservare nelle acque superficiali del Pacifico orientale, largamente diffuso nell'intera zona Indo-Pacificca (Colin & Arneson, 1995) e, più generalmente, nella fascia tropicale (Figura 6), colonizzando ambienti a profondità comprese tra 1 e 20 metri.



Figura 6: distribuzione di *Pocillopora damicornis*. (IUCN)

Questa specie colonizza una grande varietà di habitat: è possibile osservarla sia nelle zone esposte delle barriere, sia in profondità o nelle zone più riparate. In base alla zona in cui la colonia cresce, sono stati identificati diversi morfotipi, che vengono descritti da Veron (1976):

- *P. damicornis* cresciute in zone della barriera particolarmente esposte sono caratterizzate da una sostanziale riduzione nell'espansione delle ramificazioni, con queste ultime che si sviluppano molto vicine tra loro, risultando anche inspessite nel diametro. I polipi, quando espansi, occupano tutto lo spazio disponibile tra le ramificazioni, che offrono loro protezione dalla forza del moto ondoso.
- *P. damicornis* cresciute in aree parzialmente riparate sono identificate come colonie con ramificazioni esterne di 2-4 mm in diametro, di lunghezza irregolare, caratterizzate da un inspessimento della zona terminale del ramo che a volte può risultare più spesso del resto della ramificazione; questo perché, nella zona apicale, c'è un continuo processo di crescita tridimensionale. In relazione all'intensità del moto ondoso, il diametro e la regolarità delle ramificazioni possono variare enormemente: nelle zone relativamente più esposte, si osserva la crescita di numerose piccole ramificazioni a partire dalla porzione terminale di un singolo, importante ramo; nelle zone più riparate si osserva invece una ramificazione più regolare, quasi dicotomica. Il tipo di colonie appena descritto è quello che più frequentemente si può trovare in natura, a conseguenza del fatto che gran parte della distribuzione di questa specie si osserva in aree non completamente esposte all'azione del moto ondoso.
- *P. damicornis* di ambienti torbidi profondi o molto protetti. In questo caso la morfologia della colonia è caratterizzata da ramificazioni sottili e molto allungate.

Tassi di accrescimento di Pocillopora damicornis

In letteratura sono stati trovati diversi riferimenti riguardanti i tassi di crescita di *Pocillopora damicornis*:

- Lizcano (2018), studiando talee di dimensioni comprese tra 1-2 e 7 cm posizionate in zone diverse del reef, ha osservato che la crescita lineare di *P. damicornis* impiantate in barriera corallina presso Gorgona Island (Colombia) è dipendente dalla dimensione iniziale delle stesse. Il risultato finale mostra una crescita media di 1.89 ± 1.45 cm anno⁻¹, con valori massimi di 5.67 cm anno⁻¹.
- Anderson (2012) ha condotto osservazioni sulla crescita di sei coralli, tra cui *P. damicornis*, presso l'isola di Lord Howe, Australia. Le misurazioni sono state effettuate utilizzando due metodologie: *tagging* dei rami delle colonie e tintura con Alizarina. Lo studio ha rivelato che la crescita lineare di *P. damicornis* misurata tramite *tagging* è di 2.15 ± 0.27 mm in quattro mesi che, proiettato su un periodo di 12 mesi, mostra una crescita di 6.45 ± 0.81 mm anno⁻¹. L'accrescimento misurato tramite tintura è risultato di 4.81 ± 0.12 mm in quattro mesi; la proiezione su 12 mesi è di 14.43 ± 0.36 mm anno⁻¹. Secondo gli autori, questi valori sono relativamente bassi, rispetto ad altre valutazioni effettuate nella costa orientale dell'Australia (pubblicazione di Harriott, 1999; citato in seguito), e potrebbero riflettere l'impiego delle risorse, da parte del corallo, nella riproduzione piuttosto che nella crescita (K. Anderson et al., 2012).
- Harriott (1999) ha pubblicato un lavoro prendendo in analisi l'accrescimento di coralli, tra cui *Pocillopora damicornis*, in due siti dell'Australia orientale (Solitary Island e Lord Howe Island) tra il 1994

e il 1995. Nel sito di Solitary Island, l'accrescimento misurato in un periodo di circa un anno è risultato di 11.7 ± 6.13 mm anno⁻¹; se suddiviso in periodo invernale (da Aprile a Novembre) e periodo estivo (da Dicembre ad Aprile), l'accrescimento è rispettivamente di 8.3 ± 2.75 mm anno⁻¹ e 3.4 mm anno⁻¹. Analizzando questi risultati si nota una sostanziale differenza tra la crescita invernale e quella estiva, che risulta maggiore di quanto previsto dall'autore sulla base della relazione tra temperatura dell'acqua e crescita lineare in siti diversi. Una possibile spiegazione proposta dall'autore vede la latitudine del sito come fattore determinante: in queste zone, infatti, la disponibilità di luce tra inverno ed estate può variare molto, condizionando la crescita del corallo. Inoltre, anche la temperatura media dell'acqua può avere effetti sulla crescita; questa risulta essere infatti molto variabile. In particolare, è stata registrata una media invernale di 19.7 °C (1993) e l'autore suggerisce che potrebbe esistere un valore soglia di temperatura per cui il corallo, sotto i 20 C°, subisce un brusco rallentamento della crescita. Per quanto riguarda il sito di Lord Howe Island, l'accrescimento registrato è di 16.1 ± 6.37 mm anno⁻¹, con una grande variazione tra le colonie. Nella stessa pubblicazione, Harriott mette in relazione la crescita lineare di *Pocillopora damicornis*, ricavata in diversi studi, con la regione di appartenenza (Figura 7), trovando una relazione positiva tra temperatura media dell'acqua e crescita lineare.

Table 5 Growth variation with region for *Pocillopora damicornis* (for references see Table 9)

Latitude	Mean water temperature °C	Location	Linear extension (mm/y)	Reference (see Table 9)
1°N	23	Galapagos	28	1
8°N	28	Panama	27.6–5767	2,3
8°N	28	Costa Rica	31–39	4,5,6
12°N	28.5	Guam	29–36.7	7,8
13°S	28	Samoa	27.8	9
15°S	26.0	Lizard Island	36.6	10
17°S	25.5	Low Isles ^a	31.5–35.9	11
18.5°S	25.5	Palm Island	43.2	10
20°N	25.5	Hawaii	13–13.9	12,13
21°S	26	Dampier Archipelago	45	14
28°S	21	Houtman Abrolhos	12.2–14.3	15
30°S	20.5	Solitary Islands	12.4	16
31.5°S	21.5	Lord Howe Island	16.1	16
32°S	21	Rottneest Island	9–15 ^b	17

^aNote, Low Isles, GBR is called Gibraltar in Buddemeier and Kinzie (1974) and Huston (1985)

^bEstimated as 2 X six month measurement (January–June)

Figura 7: tabella riassuntiva degli studi presi in considerazione da Harriott (1999).

- Un altro studio condotto da Anderson (2017), lungo la Grande Barriera Corallina in Australia, ha mostrato valori di crescita lineare compresi tra 1.50 ± 0.15 cm anno⁻¹ (Heron Island) e 2.20 ± 0.17 cm anno⁻¹ (Lizard Island). L'autore ha inoltre preso in analisi gli accrescimenti lineari di *Pocillopora damicornis* ricavati in altri studi confrontando la zona Indo-Pacifica occidentale con la zona del Pacifico Tropicale orientale. Rispettivamente i tassi di crescita medi sono di 2.0 ± 0.3 cm anno⁻¹ e 4.2 ± 0.3 cm anno⁻¹ e mostrano una chiara differenza che evidenzia una relazione negativa significativa tra la riduzione dell'accrescimento lineare e l'aumento della latitudine (K. D. Anderson et al., 2017).
- Jiménez (2003) ha osservato la crescita di sette specie di coralli nella zona di upwelling a largo della Costa Rica. Le misurazioni sono state effettuate utilizzando tintura a base di Alizarina. I risultati portati alla luce, per quanto riguarda la crescita lineare di *P. damicornis*, mostrano un tasso di crescita medio di 47.8 ± 12.4 mm anno⁻¹.
- Guzmán (1989) ha effettuato uno studio in zona di non upwelling in Costa Rica, misurando la crescita lineare di otto specie di coralli

sclerattini. Per quanto riguarda *P. damicornis*, il tasso di crescita medio è di 34.6 ± 4.24 mm anno⁻¹ per colonie in acque poco profonde (2-3 metri). Nello stesso lavoro vengono confrontati altri valori di crescita lineare, ricavati da studi precedenti: Glynn et al, 1979, Galapagos, 28 mm anno⁻¹; Maragos, 1972, Hawaii, 13 mm anno⁻¹; Glynn, 1977, 31 mm anno⁻¹; Glynn e Stewart, 1973, Panama, 39 mm anno⁻¹.

- Kotb (2014) ha preso in analisi specie di coralli costruttori nel Mar Rosso settentrionale; tra questi anche *P. damicornis*, riscontrando un tasso di crescita lineare tra 7.40 mm anno⁻¹ e 6.6 mm anno⁻¹. Come evidenziato anche dall'autore, i risultati ottenuti in questo studio si discostano da quelli ottenuti in altre aree.
- Maté (1997) ha effettuato studi riguardanti le risposte ad alte temperature e dosi di nutrienti in ambiente sperimentale controllato di tre specie di corallo della costa panamense, tra cui *Pocillopora damicornis*. Uno dei fattori tenuti in considerazione in queste valutazioni è stato l'accrescimento lineare delle colonie, risultato di 3.3 mm mese⁻¹ che, proiettato sull'anno, corrisponde a 39,6 mm anno⁻¹.

Di seguito vengono riportati in una tabella riassuntiva (tabella 1) i tassi di crescita ricavati dagli studi sopracitati:

	Sito	Accrescimento (mm/anno)
Lizcano, 2018	Colombia, ETP	18.9 ± 14.5
Anderson, 2012	Lord Howe Island, <i>tagging</i>	6.45 ± 0.81 *
	Lord Howe Island, <i>staining</i>	14.43 ± 0.36 *
Harriott, 1999	Solitary Island, IP	11.7 ± 6.13
	Lord Howe Island, IP	16.1 ± 6.37
Anderson, 2017	GBR, Heron Island, IP	15.0 ± 01.5

	GBR, Lizard Island, IP	22.0 ± 01.7
Jiménez, 2003	Costa Rica, upwelling, ETP	47.8 ± 12.4
Guzmán, 1989	Costa Rica, non upwelling, ETP	34.6 ± 4.24
Kotb, 2014	Mar Rosso N	7.40 – 6.6
Maté. 1997	Panama, ETP **	39.6 *

Tabella 1: *I valori iniziali non sono riportati in mm anno⁻¹, i valori in tabella sono derivati da quelli pubblicati. ** Lo studio è stato effettuato ex situ in ambiente controllato. ETP = Eastern Tropical Pacific, IP = Indo Pacific.

Fotobiologia di Pocillopora damicornis

Le caratteristiche fotobiologiche dei coralli ermatipici dipendono da quelle delle microalghe simbionti *Symbiodinium microadriaticum* che sfruttano specifici intervalli di lunghezze d'onda della luce per effettuare la fotosintesi clorofilliana. In particolare, le lunghezze d'onda utili alla fotosintesi vengono definite come radiazione fotosinteticamente attiva (PAR) e sono comprese tra i 400 e i 700 nm (Szabó et al., 2014). Nonostante lo spettro di assorbimento delle zooxantelle sia piuttosto ampio, le radiazioni con un alto potere a livello fotosintetico sono limitate: nel caso di *Symbiodinium*, l'assorbimento è massimo nella regione del blu, tra i 440 e i 480 nm, come conseguenza dell'assorbimento cumulativo dei pigmenti fotosintetici della clorofilla a, clorofilla c₂ e carotenoidi (Szabó et al., 2014). La zona di massimo assorbimento si trova tra i 440 e i 480 nm, sia per le dinoflagellate solitarie, sia per il corallo, nonostante ci siano significative differenze tra le due situazioni (Figura 8). Anche l'assorbimento relativo (linea grigia) di *Symbiodinium sp.* conferma che il picco di assorbimento si trova a circa 475 nm, valore che ricade esattamente nell'intervallo del blu.

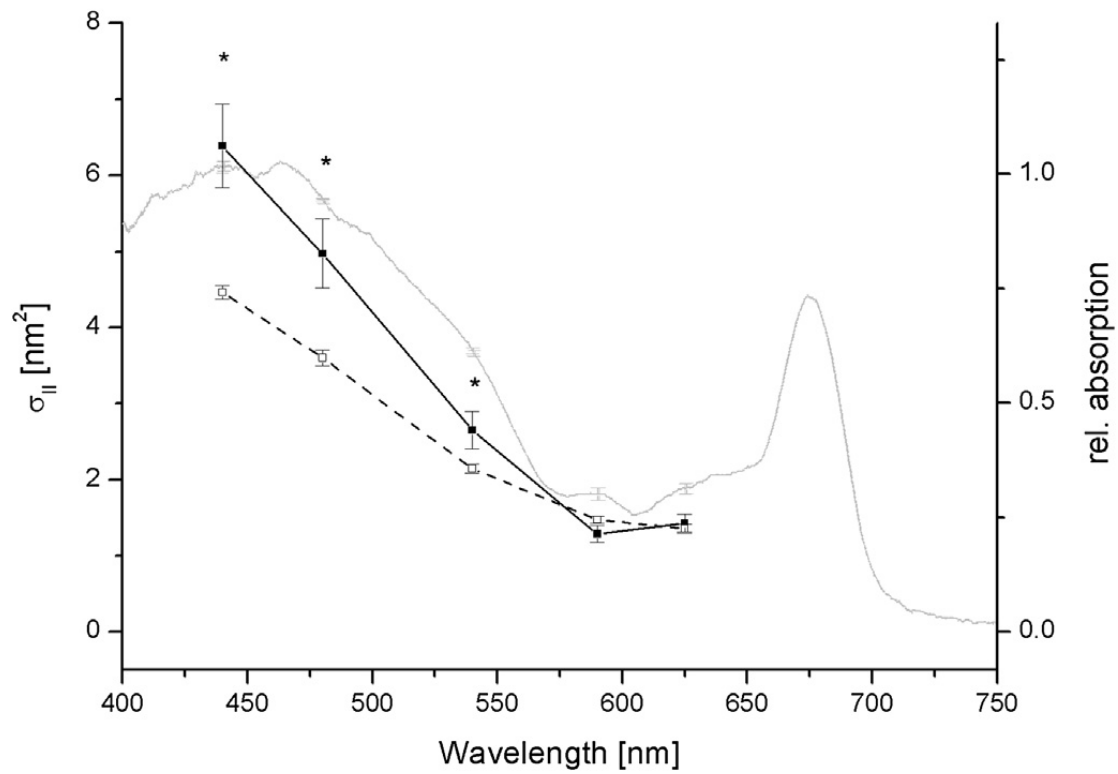


Figura 8: spettro di assorbimento del PSII (linea nera continua) in *Symbiodinium* in coltura e in *Pocillopora damicornis* (linea tratteggiata). (Szabo et al., 2014)

1.3. Acquario di cattolica

Lo studio effettuato in questa tesi è stato svolto presso l'Acquario di Cattolica, situato presso Cattolica (RN), facente parte del complesso storico "Le Navi", costruito nel 1934, con la funzione di colonia marina per i figli di italiani residenti all'estero. Nel 1997 viene ideato un progetto per la riqualificazione e la ristrutturazione del complesso, con lo scopo di creare un Parco Tematico del Mare. Tale progetto si concretizza con l'apertura dell'Acquario di Cattolica il 10 Giugno 2000.

Attualmente, il parco si sviluppa in quattro percorsi tematici, denominati con colori diversi:

- **Percorso Blu:** il principale e più ricco percorso, composto da più di 100 vasche che ospitano svariate specie di pesci ossei, cartilaginei, invertebrati, crostacei, appartenenti a numerosi habitat del mondo. Oltre a questi, sono presenti anche esemplari del Pinguino di Humboldt e una vasca tattile dove i visitatori possono interagire con numerosi trigoni.
- **Percorso Verde:** un rettilario che ospita rettili, anfibi e insetti esotici in terrari e teche che ricreano minuziosamente l'ambiente naturale di provenienza.
- **Percorso Giallo:** l'ultima sezione inaugurata dell'Acquario, è composta dalla vasca delle lontre asiatiche dalle piccole unghie e la vasca dei caimani di Cuvier.
- **Percorso Viola:** offre un'esperienza didattica tramite postazioni interattive con lo scopo di descrivere il rapporto tra uomo e mare nel corso del tempo.

Oltre alle vasche espositive, l'Acquario è dotato di uno stabulario suddiviso in settori sulla base dell'acqua (dolce o salata) e dell'habitat di provenienza degli

animali. Le specie tropicali, comprese le colonie del corallo *Pocillopora damicornis*, vengono stabulate in quello che viene chiamato “Sistema A”: all’interno di quest’ultimo, sono presenti cinque vasche permanenti, due delle quali utilizzate per lo studio condotto.

L’Acquario di Cattolica è da sempre impegnato nella sensibilizzazione e nell’educazione del pubblico alla conservazione e conoscenza degli ambienti e degli animali, non solo marini, collaborando con associazioni ed operatori a diretto contatto con le dinamiche di tutela e salvaguardia di specie a rischio. La missione dell’Acquario, come specificato nel sito, è:

1. Sensibilizzare e coinvolgere il pubblico attraverso il contatto diretto con animali e specie presenti sia nel nostro territorio, sia in ambienti lontani.
2. Avvicinare le nuove generazioni al mondo animale attraverso la divulgazione e il contatto emotivo.
3. Creare attività e progetti educativi di approfondimento adatti al mondo scolastico ed universitario.
4. Contribuire, attraverso i grandi progetti internazionali di salvaguardia e di conservazione, alla tutela del patrimonio genetico delle specie in pericolo.

Con queste linee guida, l’acquario diventa un luogo ed uno strumento di estrema importanza nella sensibilizzazione del pubblico e nell’avvicinamento alla conoscenza degli animali, degli ambienti e della loro importanza. Soprattutto in periodi come quello che stiamo attraversando ora, dal punto di vista ecologico globale, è fondamentale la presenza e il giusto uso di strutture come questa.

1.4. La problematica e le luci

Lo studio che viene descritto in questo lavoro nasce da una problematica riscontrata dall'Acquario di Cattolica nel mantenimento del corallo duro *Pocillopora damicornis* all'interno delle vasche espositive. Nello specifico, le colonie di corallo, in stagione di chiusura al pubblico, vengono tenute all'interno delle vasche del Sistema A, senza manifestare problemi di alcun genere; durante i periodi di apertura, le colonie vengono spostate per popolare la vasca espositiva dedicata ai coralli e all'ambiente corallino. Proprio nella vasca espositiva, le colonie posizionate dopo un periodo di circa 20 giorni mostravano la chiusura ed il ritiro dei polipi, con sintomi dell'inizio di processi di *bleaching* in alcuni dei casi più gravi. Questi sintomi sono indicativi del malessere delle colonie, che venivano quindi ritrasferite nello stabulario, dove recuperavano la condizione ottimale. La problematica descritta, da quanto comunicato dai responsabili dell'acquariologia, si è verificata fin dai primi spostamenti nella vasca espositiva.

Le cause provocanti la situazione appena descritta sono state, fino ad ora, solamente ipotizzate dallo staff acquariologico, senza condurre indagini approfondite. Tra le ipotesi avanzate dal personale dell'Acquario, l'illuminazione delle vasche coinvolte ha sempre avuto grande rilevanza, insieme alla qualità dell'acqua. Per questa ultima caratteristica è necessario specificare che la risorsa idrica dell'Acquario deriva direttamente dal mare: la qualità dell'acqua nelle singole vasche, quindi, dipende unicamente dalla popolazione ospitata e dal sistema di filtraggio, che non è singolo per ogni vasca ma condiviso in gruppi. Per quanto riguarda il Sistema A, a detta dello staff dell'acquario, l'apparato di filtraggio è sovradimensionato rispetto agli animali ospitati; per questo motivo l'acqua potrebbe essere di qualità superiore rispetto alle altre vasche. In questo senso sono necessari studi successivi.

Riguardo all'illuminazione, non sono mai state fatte analisi o indagini sulla qualità della luce emessa dal parco lampade dell'Acquario. Questo studio nasce per tentare di trovare risposta ai dubbi riguardanti l'illuminazione e viene utilizzato come apripista per l'identificazione e l'analisi dei possibili forzanti all'origine dei problemi precedentemente descritti. Un secondo fine del presente lavoro è votato a fornire uno strumento per semplificare la decisione, da parte degli organi di gestione dell'Acquario, sul futuro del parco luci dell'azienda: l'illuminazione basata su lampade HQI richiede un alto sforzo economico causato da consumi e manutenzione, nonché un maggior impatto ambientale rispetto alle tecnologie emergenti, come i LED presi in analisi in questo studio. Per questi motivi, gli organi di gestione stanno valutando la conversione, nei prossimi anni, verso questi sistemi di illuminazione, a patto che garantiscano un rendimento comparabile per quanto riguarda la sopravvivenza degli organismi ospitati dall'Acquario.

1.5. Illuminazione acquario e sistema a

Il parco luci dell'Acquario di Cattolica viene prodotto dalla ditta tedesca BLV Licht-und Vakuumtechnik (successivamente nominata come BLV) situata a Steinhöring, in Baviera. La BLV è un'azienda leader nel settore dell'illuminazione, riconosciuta in tutto il mondo per la produzione di lampade sia per uso generico, sia per mercati di nicchia. All'interno dell'azienda, si articolano infatti diversi settori che comprendono impianti sportivi, verde urbano, illuminazione di zoo, prodotti per orticoltura e per l'acquariologia. Proprio nel settore dell'acquacoltura, la BLV ha sviluppato la linea NEPTURION, originariamente composta di sole lampade ad alogenuri metallici (HQI), alla quale sono state aggiunte negli ultimi anni delle soluzioni

LED. Nello specifico, tutte le lampade di questa serie sono state ideate e costruite per riprodurre un ambiente luminoso ottimale per la crescita dei coralli, andando quindi a concentrare l'emissione di luce in specifici intervalli di lunghezza d'onda.

Per quanto riguarda le vasche dell'Acquario di Cattolica contenenti coralli osservate in questa fase preliminare, quelle poste nel Sistema A sono dotate di lampade HQI 400W (Sigla prodotto: HIT 400 10K E40 UVP 227121) e 250W (Sigla prodotto: HIT 250 10K E40 UVP 227021), entrambe della serie NEPTURION. Nella vasca espositiva, l'allestimento delle lampade prevedeva due lampade HQI 400W NEPTURION, due lampade Neon PHILIPS 36W e due lampade HQI 75W BLV (Sigla prodotto: HIT-DE 70 ww RX7s 3200K 220704), non appartenenti alla serie dedicata all'acquariologia ma prodotte per l'illuminazione architettonica (soprattutto interni e zone espositive in musei, mostre e simili).

Lampade HQI

Le lampade ad alogenuri metallici sono caratterizzate dalla produzione di luce attraverso un arco elettrico, ossia la ionizzazione di una miscela di gas composta da mercurio vaporizzato ed alogenuri metallici per mezzo di una coppia di elettrodi. Gli elettrodi vengono sigillati, assieme alla miscela gassosa, all'interno di un bulbo di silice vetrosa racchiuso a sua volta in un tubo in vetro. La copertura esterna ha una duplice funzione: protegge i componenti interni della lampada e filtra le radiazioni UV prodotte dalla miscela gassosa. Le HQI vengono utilizzate per l'illuminazione generica, sia di interni che di esterni; grazie all'ampio spettro di emissione e alla buona efficienza, trovano applicazione anche in campi più specifici come l'acquariologia, soprattutto nell'ambito della crescita dei coralli.

Lampade LED

Le lampade LED (Light Emitting Diode) sono sistemi di illuminazione basati su semiconduttori in grado di produrre fotoni spontaneamente quando attraversati da una corrente elettrica. Tali semiconduttori sono caratterizzati dalla presenza di due zone: una positiva, con cariche positive in maggior numero rispetto alle negative, e una negativa, con elettroni in maggior numero rispetto alle cariche positive. Con l'applicazione di una corrente elettrica, le cariche si muovono e, per ogni ricombinazione, vengono emesse radiazioni UV, visibili o infrarosse, in base al semiconduttore utilizzato. Le due zone appena descritte rappresentano due metalli che compongono il diodo del LED. (McNaught & Wilkinson, 2009). Grazie alle dimensioni ridotte, le lampade LED trovano applicazione in molteplici campi, come la segnaletica luminosa, l'illuminazione generale e specifica o la trasmissione di onde (telecomandi).

Le recenti innovazioni nel campo dell'illuminazione LED hanno reso questa tecnologia sempre più affidabile e accessibile a livello economico: considerando lampade con le stesse prestazioni, le lampade LED sono caratterizzate da un costo iniziale maggiore, bassi consumi, alta affidabilità e vita media più lunga (50000h per le lampade fornite dalla CEAB Acquari); le HQI, invece, hanno un costo iniziale più basso ma consumi elevati e una vita media ridotta (10000-12000h per le lampade BLV utilizzate in questo studio). Per questi motivi, le lampade LED possono essere considerate come un'alternativa economica per l'illuminazione di istituzioni delle dimensioni dell'Acquario, caratterizzate da un ampio parco luci con consumi elevati.

Lampade 70W

Nella fase preliminare del lavoro, sono state raccolte informazioni riguardanti le caratteristiche dello spettro luminoso emesso delle lampade, chiedendo al servizio di supporto della BLV le schede tecniche di ognuna. Una volta ricevute, sono stati osservati i grafici rappresentati lo spettro di emissione, con particolare attenzione sulla lunghezza d'onda dei picchi di emissione. Successivamente è stato fatto un confronto tra gli spettri delle lampade precedentemente citate e lo spettro di assorbimento di *P. damicornis*. Come mostrato in (Figura 9), lo spettro di emissione delle lampade HQI 70W non mostra picchi tra i 400 e i 500 nm, range ottimale per le zooxantelle in *P. damicornis* (Figura 10); al contrario, le radiazioni sono concentrate tra i 500 e i 620 nm. Questa caratteristica non garantisce il corretto apporto di radiazioni agli endosimbionti del corallo, causando una riduzione dell'efficienza dei processi fotosintetici e comportando la diminuzione dei fotosintetati rilasciati dalle zooxantelle a favore dei polipi. Inevitabilmente, se questa situazione si prolunga nel tempo, il polipo attraversa una fase di sofferenza per poi, nei casi estremi, morire.

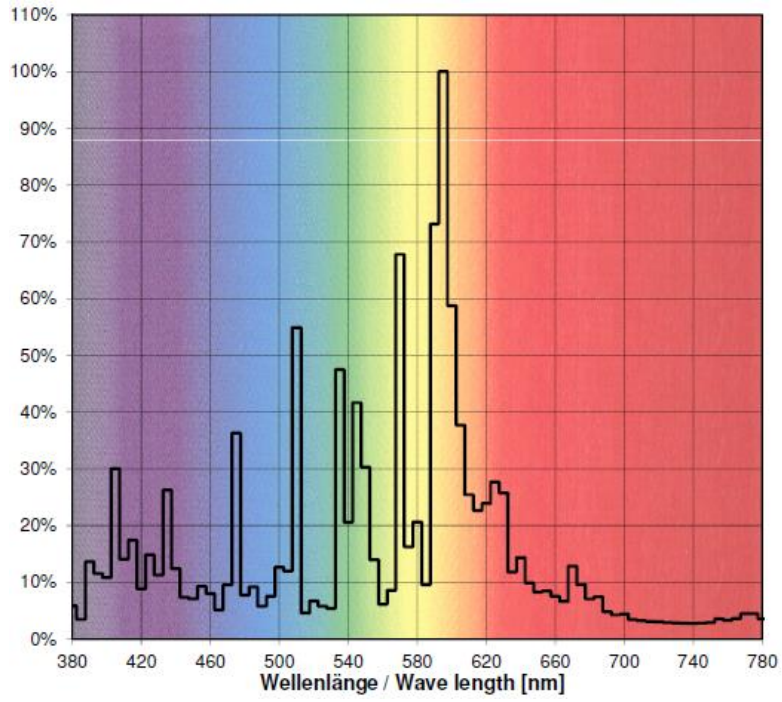


Figura 9: spettro di emissione delle lampade HQI75W BLV (Scheda tecnica HIT-DE 70 ww RX7s 3200K 220704)

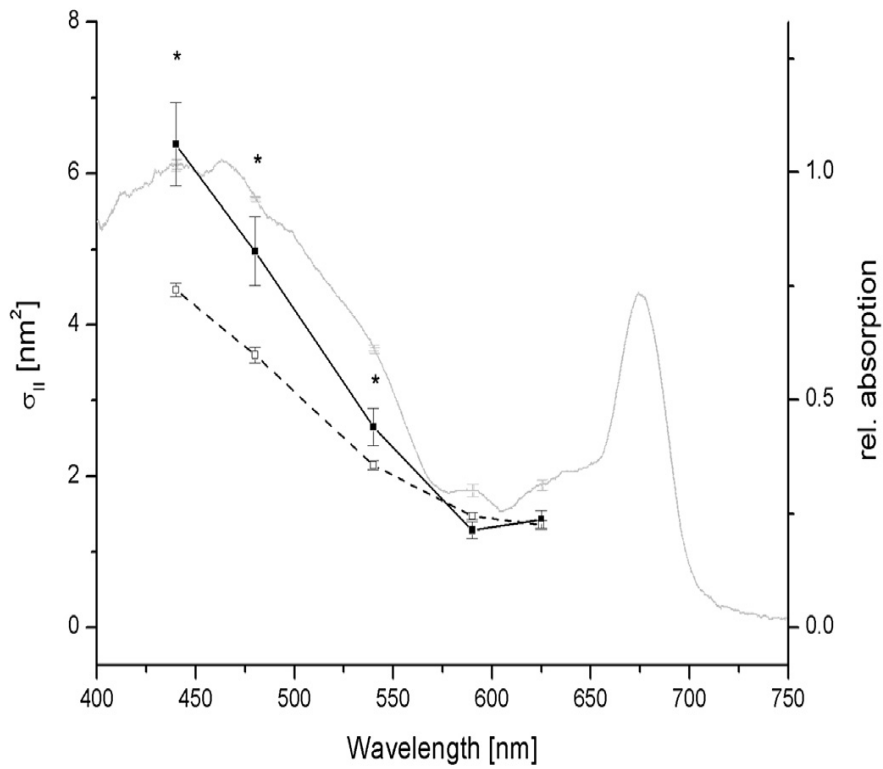


Figura 10: spettro di assorbimento del PSII (linea nera continua) in *Symbiodinium* in coltura e in *Pocillopora damicornis* (linea tratteggiata). (Szabo et al., 2014)

Confronto 400W e 250W NEPTURION

All'interno dello studio è stato svolto anche un confronto tra due lampade ad alogenuri metallici, appartenenti entrambe alla serie NEPTURION della BLV ma con wattaggio diverso: una con 400W di potenza ed una con 250W. Gli spettri di emissione (Figura 11) di queste due lampade sono molto simili, con picchi nell'intervallo ottimale per le zooxantelle e, in generale, per la crescita dei coralli. Le schede tecniche di entrambe le lampade garantiscono che sono state appositamente create per simulare le condizioni di illuminazione presenti in oceano e stimolare la crescita del corallo (Scheda tecnica BLV NEPTURION 227121 400W E40 1000K; Scheda tecnica BLV NEPTURION 227021 250W E40 10000K).

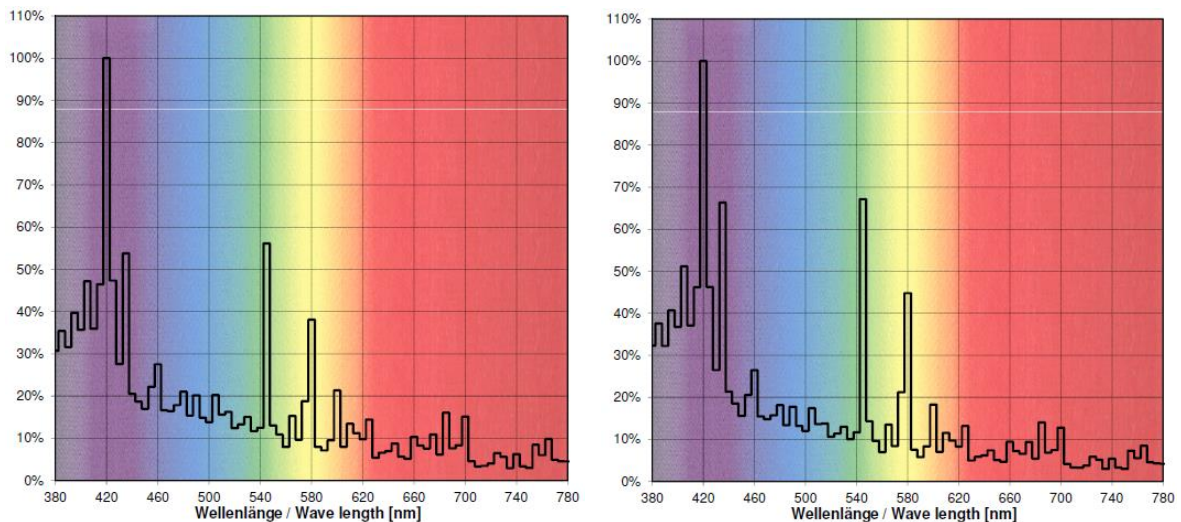


Figura 11: spettro di emissione delle lampade HQI 250W BLV (a sinistra) e HQI 400W BLV (a destra). (Schede tecniche BLV NEPTURION 227021; BLV NEPTURION 227121)

Confronto LED e NEPTURION

Le lampade LED utilizzate in questo studio sono state fornite dalla CEA.B. Acquari, azienda italiana sita a Brescia (BS) che dal 1973 si occupa della produzione di apparecchiature per acquari, in particolar modo di sistemi di illuminazione. Gli apparecchi forniti per lo studio sono delle lampade Coral Spectrum da 13500 lumen, con una potenza di 108W suddivisa in 36W per i LED con emissione di luce bianca a 15000K e 72W per i LED con emissione di luce Royal Blue. Aspetto particolare di queste lampade è che l'angolo di emissione è di 120 gradi, garantendo la distribuzione uniforme della luce in tutta la vasca. Lo spettro di emissione mostra un picco di radiazioni a 450 nm, all'interno dell'intervallo ottimale di assorbimento per i coralli, ma spostato rispetto alle lampade della serie NEPTURION (Figura 12).

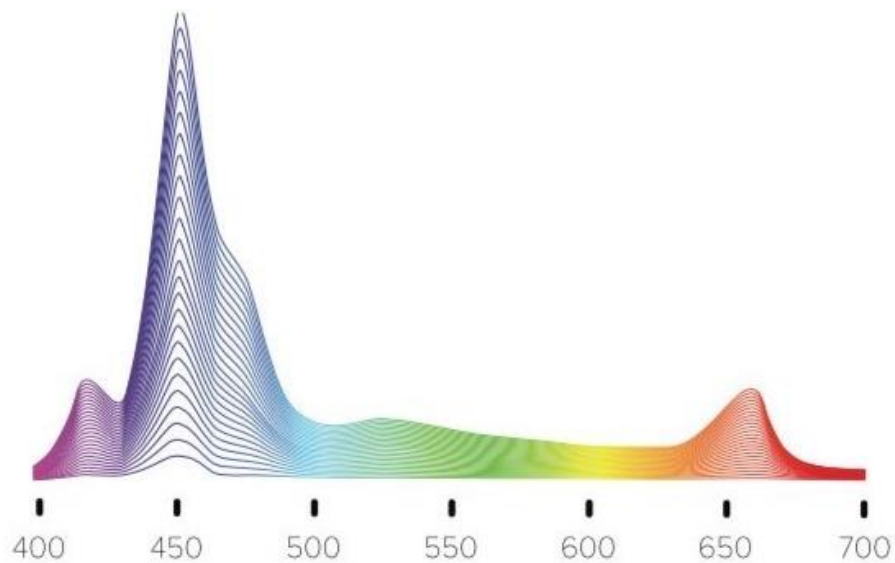


Figura 12: spettro di assorbimento lampade LED Coral Spectrum CEA.B.

2. MATERIALI E METODI

2.1. *Impianto sperimentale*

L'impianto sperimentale (Figura 13) è composto da due vasche (Vasca Coralli A e Vasca Coralli B), entrambe da 535L, dotate di uno scarico a tracimazione sul lato sinistro e collegate allo stesso sistema di alimentazione che rifornisce d'acqua l'intero Sistema A dell'acquario. In ciascuna vasca è stato applicato un separatore rigido non trasparente per dividere in due metà il volume disponibile, andando così a creare due scomparti; tale setto è stato applicato sia all'interno della vasca, sia sopra di essa, nel mezzo delle due lampade, per isolare completamente dal punto di vista luminoso le sezioni delle vasche. Il separatore installato in ogni vasca è stato ricavato da un pannello di forex successivamente forato e, nella parte superiore a contatto con la superficie dell'acqua, dentellato, per garantire un congruo passaggio di acqua tra le due metà, permettendo il ricambio continuo tra i due scomparti. Inizialmente, le vasche erano dotate di un'unica mandata d'acqua posta ad un'estremità: con l'installazione del setto, le condizioni di corrente e ricambio d'acqua sarebbero risultate diverse tra le due metà, con la prima (dove risiedeva la mandata) caratterizzata da alta corrente e alto ricambio d'acqua, e la seconda (senza mandata) con corrente e ricambio ridotti. Per equiparare le condizioni, la mandata di ogni vasca è stata divisa in due, con un terminale di sbocco per ognuna delle sezioni. Una pompa di movimento è stata installata in ognuna delle sezioni create, per garantire un flusso d'acqua uniforme all'interno dei diversi scomparti.

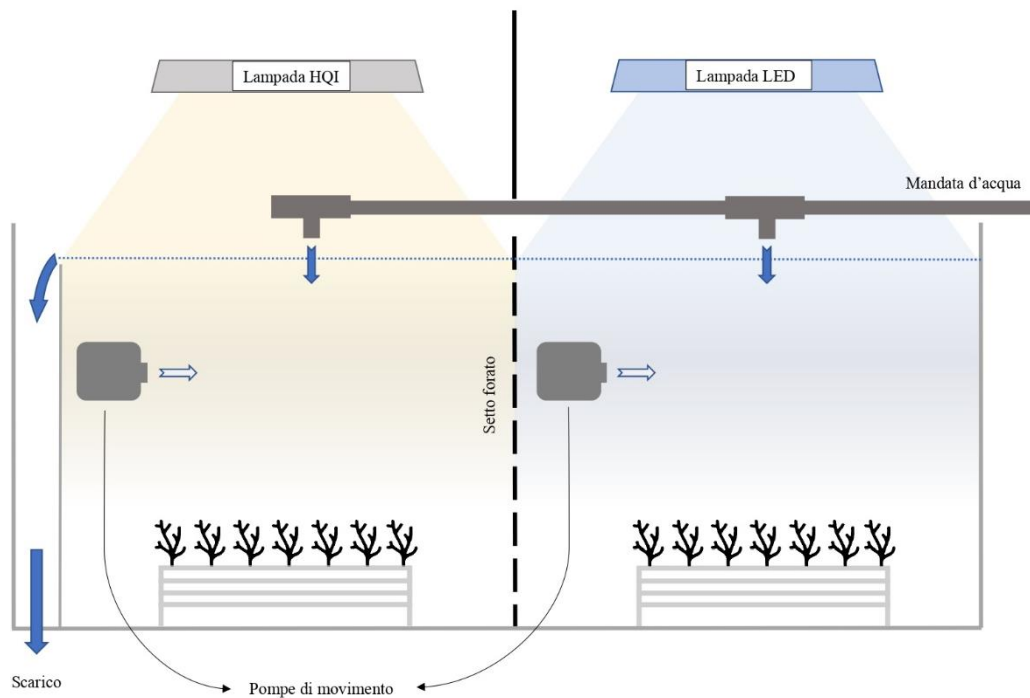


Figura 13: schema di una delle due vasche uguali che compongono l'impianto sperimentale.

Le condizioni chimico fisiche delle vasche, uguali a quelle del Sistema A, sono state monitorate ad intervalli di 2 settimane. I parametri mantenuti durante il periodo dello studio sono i seguenti:

- NH_4 : 0.0114 ± 0.0285 mg/L
- NO_2 : 0.0054 ± 0.0014 mg/L
- NO_3 : 2.18 ± 0.30 mg/L
- PO_4 : 1.116 ± 0.209 mg/L
- Temperatura: 25.4 ± 0.3 °C

Per quanto riguarda il corredo d'illuminazione, la Vasca Coralli A è stata allestita con una lampada HQI BLV da 400W serie NEPTURION (HIT 400 10K, numero seriale 227121) e una lampada LED Coral Spectrum CEAB. La Vasca Coralli B è stata invece allestita con una lampada HQI BLV da 250W serie NEPTURION (HIT 250 10K, numero seriale 227021) e una lampada LED

Coral Spectrum CEAB. Il periodo di illuminazione è stato impostato per entrambe le vasche a 14 ore di luce e 10 di buio.

2.2. Talee

Prima dell'inizio dello studio, le colonie di *Pocillopora damicornis* erano tenute in due vasche del sistema A, nelle quali erano presenti circa 90 colonie, di dimensioni variabili in diametro tra i 5 e i 20 cm. Per l'esperimento sono state ricavate, dalle sopraccitate colonie, 200 talee di dimensioni comprese tra i 2 e i 4 cm di lunghezza. Per consentire una facile organizzazione e per rendere più accurato il rilievo fotografico, le talee sono state saldate a delle provette Eppendorf da 2 mL usando una colla cementante bicomponente. Una volta ottenute, le talee sono state suddivise per ogni scomparto delle vasche come segue:

- 20 talee sono state posizionate su dei porta-provette da laboratorio e mantenute nelle stesse posizioni per tutta la durata dell'esperimento. Queste talee sono state utilizzate per i rilievi fotografici utili alla ricostruzione dei modelli 3D.
- 30 talee sono state posizionate su strutture a grata: di queste, ogni mese ne sono state prelevate tre, successivamente congelate e portate in laboratorio, presso l'Università Politecnica delle Marche, per effettuare le analisi dell'indice mitotico.

Le talee sono state alimentate con naupli di *Artemia salina*, arricchiti e somministrati giornalmente.

2.3. *Indice mitotico*

Al fine di ottenere una serie di dati significativi dal punto di vista fisiologico, è stato valutato l'indice mitotico, che rappresenta il rapporto tra le cellule totali presenti in un dato volume e le cellule in mitosi (Figura 14).



Figura 14: cellule di *Symbiodinium* al microscopio ottico con ingrandimento 100x. La freccia nera indica una cellula in mitosi.

L'analisi delle variazioni dell'abbondanza e della frequenza di divisione delle zooxantelle, tramite l'indice mitotico, è uno strumento utilizzato per la valutazione dello stress nei coralli (Wilkerson, 1988; Suharsono & Brown, 1992 ; Jones, 1997).

In questo studio, l'indice mitotico è stato calcolato mensilmente, in triplicato, seguendo il protocollo che segue:

- Dalle talee congelate, rimozione del tessuto molle del corallo tramite l'uso di uno spazzolino e raccolta dello stesso in 3 mL di acqua di mare filtrata. Per consentire una stima della densità delle zooxantelle nel singolo corallite, una volta rimosso il tessuto molle dallo scheletro del corallo, sono stati contati, tramite uno stereomicroscopio Nikon SMZ645, i coralliti prelevati.
- Prelievo di 2 mL riversati in provetta Eppendorf da 2 mL.
- Agitazione della provetta tramite Vortex per 20 secondi.

- Prelievo di un'aliquota di 20 μ L con micropipetta.
- Riempimento del pozzetto di conta dell'emocitometro (Fuchs–Rosenthal, Fortuna Germany) e conta delle zooxantelle al microscopio ottico Nikon YS100 con ingrandimento 40x. L'emocitometro utilizzato ha una griglia di conta composta da 16 quadrati; di questi, sono stati contati 6 quadrati per la raccolta dei dati.

Inizialmente sono state effettuate delle prove con lo scopo di capire se fosse possibile effettuare le analisi sopra descritte direttamente in Acquario, lavorando su campioni freschi. In un primo momento, in fase di estrazione delle zooxantelle, è stata utilizzata una centrifuga manuale costruita autonomamente come descritto da Bhamla et al. (2017): l'estrazione delle zooxantelle ha dato esito positivo ma, a causa dell'assenza di un microscopio perfettamente funzionante e dotato degli ingrandimenti necessari e dell'impossibilità di garantire condizioni uguali in tutte le analisi, non è stato possibile utilizzare questo approccio. In particolare, l'impiego di uno strumento manuale comporta differenti forze di trazione della centrifuga, tempi di centrifugazione e rotazioni al minuto per ogni analisi effettuata, rendendo queste totalmente inaccurate. Per questo motivo, è stato deciso che le analisi venissero svolte presso il laboratorio universitario.

Nel mese di Gennaio la temperatura dell'acqua del Sistema A si è abbassata sensibilmente, fino ad un minimo di 22 °C. Durante questo periodo, le talee hanno mostrato segni di sofferenza quali ritrazione dei polipi, sbiancamento e perdita di tessuto. Tali sintomi sono stati osservati in manifestazioni diffuse soprattutto nelle talee poste sotto lampade HQI mentre, nelle talee sotto lampade LED, le condizioni sembravano in quasi tutti i casi normali, con alcuni soggetti che presentavano sintomi puntiformi o comunque poco diffusi. A

causa delle differenze osservate, è stato deciso di effettuare un'analisi supplementare (rispetto ai rilievi fotogrammetrici che sono stati terminati a Dicembre) per indagare gli eventuali effetti sui simbionti di questo evento stressante.

2.4. Fotogrammetria e modello 3D

Fotogrammetria

La fotogrammetria può essere definita come la tecnica che consente di definire la posizione, la dimensione e la forma di oggetti come risultato dell'analisi di immagini registrate su film o supporti elettronici (Atkinson, 1994). La tecnica si basa sull'analisi di due o più fotogrammi che riprendono l'oggetto di studio da posizioni diverse. Ogni coppia di immagini con queste caratteristiche viene definita come "coppia stereoscopica". Anche la nostra vista si basa su una coppia stereoscopica: i due occhi hanno punti di vista leggermente diversi della stessa immagine; questa lieve differenza, combinando le immagini dei due occhi, consente di cogliere la profondità di campo, che viene ben avvertita soprattutto quando si guarda un oggetto vicino, ma diventa praticamente nulla quando si guarda un oggetto molto lontano. Questo perché, nel caso di un oggetto lontano, la differenza dei due punti di vista si riduce proporzionalmente alla distanza, trasformando la visione stereoscopica in monoculare.

In origine, la fotogrammetria è stata applicata a campi come la topografia, ingegneria, geologia ed architettura; con rilievi prima esclusivamente terrestri e, successivamente, anche aerei. Una volta ottenute le immagini, le informazioni metriche dei punti e degli oggetti possono essere ricavate tramite la soluzione delle equazioni di collinearità, che costituiscono un modello matematico che mette in relazione le coordinate dei punti di una

lastra/pellicola/sensore bidimensionali con le coordinate tridimensionali dei punti appartenenti al soggetto rappresentato (Sicuranza, 2013). Queste equazioni sono basate su parametri come: le coordinate del soggetto, i parametri intrinseci della macchina fotografica e degli obiettivi utilizzati, la posizione e l'orientamento delle immagini. I parametri ignoti, necessari alla costruzione del modello tridimensionale, vengono ricavati risolvendo le equazioni di collinearità (Sicuranza, 2013). Per questo tipo di modelli, era fondamentale conoscere a priori le coordinate dell'oggetto di studio.

Structure from Motion

Negli ultimi anni, i grandi progressi tecnologici nel campo informatico, hanno consentito lo sviluppo e l'espansione della fotogrammetria basata sulla tecnica *Structure from Motion (SfM)*, che ha di fatto sostituito la fotogrammetria "classica", che usa immagini acquisite da molteplici punti di vista per restituire una geometria tridimensionale che rappresenta un oggetto o una superficie (Fonstad et al., 2013). Le tecniche *SfM* si basano su algoritmi che consentono di individuare punti notevoli o caratteristici nelle immagini del soggetto rilevato. Il padre di questi algoritmi può essere considerato David Lowe, che, nel 1999, sviluppò l'algoritmo *Scale-invariant features transform (SIFT)*, fondamentale negli applicativi *SfM*. Gli algoritmi in questione riconoscono e collegano definite caratteristiche (caratteristiche fisiche presenti nelle immagini rilevate) in numerose immagini nonostante la variazione, anche sensibile, della scala, del punto di vista e delle condizioni di luminosità (Fonstad et al., 2013). Per questo motivo, nella fotogrammetria *SfM*, non è necessario conoscere a priori le coordinate del soggetto del rilievo, perché il software utilizzato, dopo la risoluzione delle equazioni di collinearità, crea il modello in un sistema di coordinate provvisorio (o locale) ricavato dalle

posizioni reciproche dei punti di presa. Grazie a tutte queste caratteristiche, la fotogrammetria *SfM* è un metodo facile da utilizzare e molto economico in quanto richiede attrezzatura di basso costo (le macchine fotografiche digitali comuni producono buone immagini per questi scopi) e software (alcuni open source) intuitivi, funzionali ed affidabili. Per questi motivi, la fotogrammetria 3D sta sempre più prendendo piede come strumento principe in svariati campi quali architettura, industria, urbanistica, medicina, beni culturali (Hellman et al., 2018).

Fotogrammetria Subacquea

Con l'evoluzione di tecniche ed attrezzature, la fotogrammetria è diventata uno strumento accessibile anche per studi condotti in ambiente subacqueo e i principi cardine sui quali si articola questa tecnica non variano rispetto a quelli aerei o terrestri. Possono però esserci alcuni elementi di disturbo che sono presenti nell'ambiente acquatico, come la torbidità e la rifrazione (Drap et al., 2013) che, grazie ai progressi tecnologici, sono sempre meno rilevanti.

La fotogrammetria *SfM* ha trovato grande spazio di utilizzo in questo ramo, soprattutto perché il principale vantaggio dell'utilizzo di questa tecnica in ambiente subacqueo, rispetto ad altre tecniche, consiste nella sua semplicità di utilizzo e nella potenzialità dei risultati che si possono ottenere (Drap et al., 2013). A conferma dell'affidabilità di questa metodologia, sono stati effettuati numerosi studi (Guo et al., 2016; Ferrari et al., 2017;) con lo scopo di misurare l'accuratezza dei risultati ottenuti, sostenendo che la fotogrammetria *SfM* è un valido strumento di ricostruzione 3D.

Gli utilizzi che la fotogrammetria *SfM* trova in ambito subacqueo sono molteplici, soprattutto nel campo dello studio di habitat bentonici ad elevata complessità strutturale, come le barriere coralline. La complessità strutturale di

questi ambienti influenza profondamente caratteristiche come la produttività e la funzionalità dell'intero ecosistema di barriera (Burns et al., 2015); tutto questo grazie alla formazione di un vasto assortimento di microhabitat che supporta una grande diversità ed abbondanza di organismi associati ai coralli (Graham & Nash 2013). In passato i monitoraggi venivano effettuati tramite tecniche che sfruttano misurazioni bidimensionali, inadeguate per valutare e quantificare correttamente l'intricata struttura dei coralli sclerattini. Ora gli approcci 3D hanno affinato la capacità e l'accuratezza delle misure che riguardano la complessità strutturale, topografia, rugosità, volume e altre caratteristiche significative per i processi ecosistemici (Burns et al. 2015, Palma et al. 2017).

Applicazione al caso di studio

In questo lavoro, la fotogrammetria *SfM* è stata utilizzata per la ricostruzione 3D delle talee di *P. damicornis*, con lo scopo di estrarre dati riguardanti l'accrescimento in volume e superficie. Per effettuare il rilievo nel migliore dei modi e consentire un'accurata ricostruzione, le talee sono state prese a gruppi di dieci e posizionate su un supporto a grata. La posizione delle talee sul supporto è stata mantenuta uguale per ogni successivo rilievo, facilitandone il riconoscimento e l'estrazione dei dati. La dimensione della maglia è di 1.5 cm, misura utilizzata poi come base per l'inserimento delle distanze campione necessarie per la creazione della scala di ogni modello e valutare l'accuratezza delle misure ricavate. Una volta posizionate sul supporto, questo è stato trasferito in una vasca poco profonda per rendere più comoda l'operazione di ripresa delle fotografie. La porzione di vasca utilizzata è stata preliminarmente pulita ed isolata utilizzando dei separatori bianchi; successivamente il supporto con le talee è stato posizionato al centro di questa zona (Figura 15).



Figura 15: organizzazione della vasca per il rilievo fotografico.

Prima dell'inizio di ogni rilievo fotografico, i polipi delle talee si trovavano in posizione estesa, aumentando considerevolmente il volume di ogni colonia e nascondendo lo scheletro, vero soggetto dello studio (Figura 16). Per fare in modo di esporre lo scheletro, i polipi venivano indotti alla ritrazione tramite l'utilizzo delle setole di un pennello usato per provocare un'azione di disturbo; la stessa operazione veniva fatta ogni qualvolta i polipi ricominciavano ad estendersi. Nella preparazione del primo rilievo, è stato osservato che l'operazione di disturbo provocava lo spostamento delle talee. Una delle prerogative fondamentali del rilievo fotogrammetrico è che il soggetto dev'essere sempre nella stessa

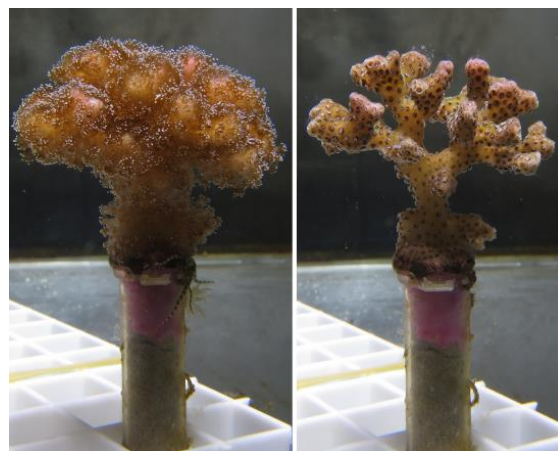


Figura 16: differenza nel volume della stessa talea prima (sinistra) e dopo (destra) l'azione di disturbo del pennello.

posizione: movimenti dell'oggetto, anche molto piccoli, provocano errori in fase di ricostruzione. Essendo questo uno studio che ha lo scopo di valutare volumi e superfici su soggetti relativamente piccoli, l'errata ricostruzione potrebbe causare errori di entità importante. Per evitare situazioni come quella

descritta, le talee sono state fissate tramite l'utilizzo di elastici alla struttura a grata. Una volta completate queste operazioni preliminari, è stato effettuato il rilievo fotografico.

Per ogni modello sono state scattate 191 ± 18 immagini utilizzando una Canon PowerShot G16 all'interno di una custodia impermeabile Nauticam, acquisendo diverse serie circolari di fotografie ad angoli di presa diversi (Figura 17) in modo da catturare le talee dal maggior numero di punti di vista possibili. La distanza tra l'obiettivo della

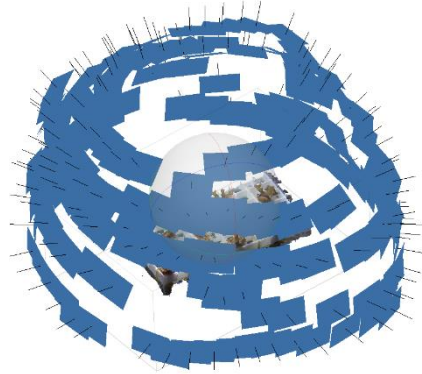


Figura 17: punti di presa delle immagini rispetto al soggetto.

fotocamera e l'oggetto è stata mantenuta indicativamente tra i 10 e i 25 cm, mentre le impostazioni di scatto sono state inserite manualmente come segue e mantenute costanti:

- Tempo di scatto: 1/30 s.
- Apertura focale: f 8. È stata scelta la minima apertura focale della macchina (una bassa apertura focale consente un aumento della profondità di campo) per ridurre al minimo la sfocatura delle talee più lontane dal punto di fuoco, consentendo la presa di immagini nitide in ogni punto.
- ISO: 125.
- Lunghezza focale: 6.1 mm.
- Qualità dell'immagine: massima.

Una volta terminato il rilievo fotografico, le immagini sono state utilizzate per l'elaborazione dei modelli mediante software di fotogrammetria.

Il software

Per la costruzione e la lavorazione dei modelli tridimensionali è stato utilizzato il software Agisoft Metashape (Agisoft LCC, San Pietroburgo, Russia). Metashape è un software a pagamento molto efficace, in grado di produrre modelli di alta qualità sfruttando un flusso di lavoro semplice ed intuitivo che si articola principalmente in quattro fasi:

1. Allineamento delle immagini (Photo Alignment): in questa fase le immagini caricate vengono processate dal programma, che ne determina posizione ed orientamento. In ogni immagine vengono identificati i *Tie points*, ovvero punti caratteristici che sono chiaramente identificabili in almeno due immagini. Successivamente, l'allineamento procede confrontando le diverse immagini e ricercando i *tie points* nelle varie fotografie. Più le immagini sono vicine, più *tie points* avranno in comune (Figura 18); per questo motivo le immagini devono avere una buona percentuale di sovrapposizione l'una con l'altra. Una volta terminato l'allineamento, viene prodotta la nuvola di punti sparsa o *sparse point cloud* (Figura 19).

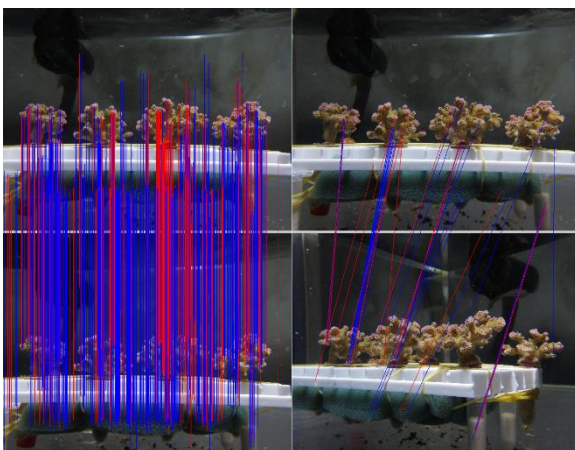


Figura 18: nella metà sinistra le corrispondenze tra due immagini vicine con alta sovrapposizione; nella metà destra le corrispondenze tra due immagini lontane.

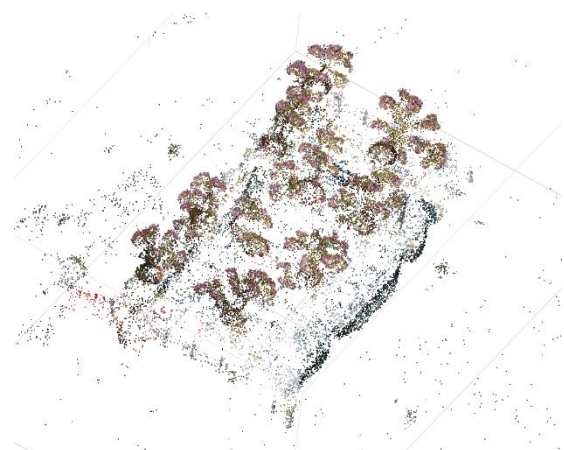


Figura 19: nuvola di punti sparsi generata dall'insieme dei *Tie points*.

2. Costruzione della nuvola densa (Dense Point Cloud): a partire dalla nuvola di punti sparsa, vengono calcolate le mappe di profondità che contengono informazioni relative alla distanza dei punti rispetto al punto di vista. Queste informazioni sono necessarie per l'elaborazione della nuvola di punti densa (*Dense Point Cloud*), ossia un dataset di punti nello spazio (Figura 20).



Figura 20: nuvola di punti densa.

3. Generazione della maglia (Mesh): i punti della nuvola densa vengono utilizzati come vertici per creare dei triangoli. L'insieme dei triangoli forma la Maglia poligonale tridimensionale, o *Mesh*, che rappresenta la ricostruzione della superficie dell'oggetto (Figura 21).

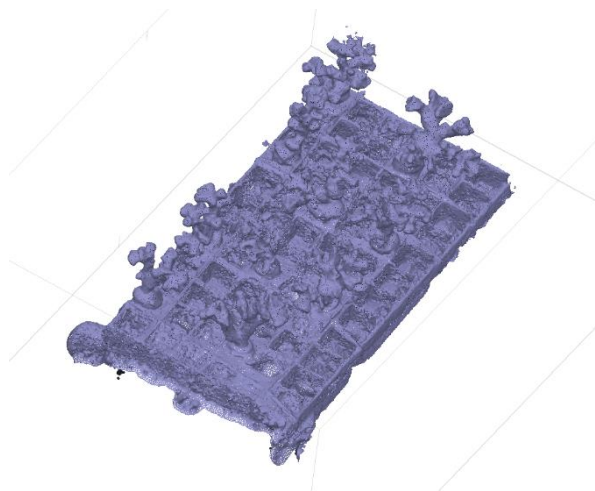


Figura 21: struttura a maglia del modello tridimensionale.

4. Generazione della texture: in questa fase il software riempie i triangoli della maglia tridimensionale con pixel che ricadono in quell'area, presi dalle fotografie con punti di vista che “guardano” in quella direzione (Figura 22).



Figura 22: modello finale con texture.

Per consentire una ricostruzione il più affidabile possibile, i passaggi descritti sono stati elaborati utilizzando impostazioni alla massima qualità. Per questo motivo, i passaggi più impegnativi a livello computazionale (allineamento e costruzione della nuvola densa) sono stati effettuati con il supporto dello staff e dei calcolatori della Ubica s.r.l., impresa di Genova specializzata in rilievi fotogrammetrici in ambito subacqueo.

Una volta ottenuto il modello del supporto con le dieci talee, sono stati aggiunti dei marcatori sulle intersezioni della grata: conoscendo la larghezza della maglia, 1.5 cm, è stato possibile inserire delle lunghezze note tra i marcatori per generare la scala del modello, fondamentale al fine del calcolo di superfici e volumi. Metashape è in grado, inoltre, di calcolare l'errore tra la lunghezza inserita e quella stimata dal programma, fornendo una stima dell'accuratezza delle misure ricavate.

Il passaggio successivo è stato l'isolamento delle singole talee dal modello completo (Figura 23). Per fare ciò il modello texturizzato è stato duplicato dieci volte (il numero delle talee) e, da ogni duplicato, è stata ritagliata una sola talea, della quale sono stati calcolati volume ed area. In



Figura 23: modello con texture di una talea isolata.

In certi casi, la mesh di alcune talee non è stata ricostruita accuratamente nel modello completo e per questo non era possibile calcolarne le misure. La soluzione adottata è stata quella di isolare la stessa talea a partire dalla nuvola di punti densa, eliminare da questa i punti in eccesso per facilitare la ricostruzione, e generare una nuova mesh e texture.

Il flusso di lavoro appena descritto è stato effettuato per ogni decina di talee: in ognuno dei rilievi mensili sono stati quindi elaborati otto modelli tridimensionali. Sono stati effettuati in tutto quattro rilievi fotogrammetrici (Settembre, Ottobre, Novembre, Dicembre), corrispondenti a quattro modelli tridimensionali per ogni gruppo di talee.

2.5. *Analisi statistica*

L'analisi statistica dei dati raccolti dai modelli tridimensionali e dalle analisi riguardanti densità delle zooxantelle e indice mitotico è stata effettuata tramite il software GraphPad 8. Per identificare la significatività delle differenze tra i gruppi di dati, è stato utilizzato il one-way ANOVA: questo test permette di studiare due o più gruppi di dati confrontandone sia la variabilità interna, sia quella tra gruppi stessi. Successivamente, è stato effettuato il test di comparazione multipla di Tukey, con la finalità di evidenziare i confronti tra coppie di gruppi che risultano significativi.

3. RISULTATI

3.1. Risultati dei modelli 3D

Dalla ricostruzione dei modelli tridimensionali sono stati ricavati, mensilmente da Settembre a Dicembre (totale di 90 giorni), i valori di volume e superficie di ogni talea. Successivamente, da questi valori, sono stati calcolati, utilizzando le formule di seguito, i tassi di accrescimento mensili e la crescita totale di volume ed area, sottoforma di valori percentuali, riportati nelle tabelle sottostanti.

$$\text{Tasso di accrescimento mensile } \% = \frac{\text{Area}_{T_x} - \text{Area}_{T_{x-1}}}{\text{Area}_{T_{x-1}}} \times 100$$

$$\text{Accrescimento totale } \% = \frac{\text{Area}_{T_3} - \text{Area}_{T_0}}{\text{Area}_{T_0}} \times 100$$

Formule utilizzate per il calcolo del tasso di accrescimento % e dell'accrescimento totale %. Per il calcolo dei volumi sono state utilizzate le stesse formule. T_x , T_{x-1} , T_3 e T_0 sono indicazioni del modello di riferimento (tabelle dei dati).

I dati sono stati riuniti in quattro gruppi, sulla base della lampada sotto la quale le talee sono state stabulate, denominati con le sigle HQI250 per la metà vasca con la lampada HQI da 250W (Vasca coralli B), HQI400 per la metà con lampada HQI da 400W (Vasca Coralli A), LED1 (Vasca Coralli A) e LED2 (Vasca Coralli B) per le due metà con lampade LED.

Di seguito vengono riportati in tabella i valori medi di numero di fotografie, tie points e precisione dei modelli.

Modello	Numero di fotografie \pm DS	Tie points \pm DS	Precisione (cm) \pm DS
HQI400-1	164 \pm 7	40125 \pm 2390	0,019 \pm 0,006
HQI400-2	188 \pm 4	42112 \pm 4057	0,019 \pm 0,007
HQI250-1	186 \pm 12	43557 \pm 7604	0,017 \pm 0,006
HQI250-2	209 \pm 9	48889 \pm 4262	0,023 \pm 0,003
LED1-1	198 \pm 11	45281 \pm 7321	0,023 \pm 0,012
LED1-2	208 \pm 19	47235 \pm 5667	0,019 \pm 0,004
LED2-1	173 \pm 11	40526 \pm 4267	0,022 \pm 0,002
LED2-2	203 \pm 2	45300 \pm 4911	0,019 \pm 0,002

HQI 250W (Vasca Coralli B)

Di seguito vengono riportati in tabella (tabella 1 e 2) i dati raccolti per le talee cresciute sotto la lampada HQI da 250W (Vasca Coralli B). Dai dati ottenuti, sono state ricavati i valori medi del tasso d'accrescimento e dell'accrescimento totale sia per area che per volume:

- Tasso di accrescimento area: 51.972 ± 21.511 %.
- Accrescimento totale area: 245.721 ± 67.43 %.
- Tasso di accrescimento volume: 57.662 ± 30.594 %.
- Accrescimento totale volume: 279.12 ± 79.032 %.

Talea	Area (cm2)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	6,958	10,164	16,879	21,175	46,076	66,067	25,452	204,326
2	6,304	10,793	16,513	19,487	71,209	52,997	18,010	209,121
3	9,623	13,264	23,890	28,274	11,857	80,112	18,351	193,817
4	11,684	10,764	16,222	19,093	13,523	50,706	17,698	63,412
5	5,350	11,026	15,523	20,074	106,093	40,785	29,318	275,215
6	5,148	9,462	14,394	20,573	83,800	52,124	42,928	299,631
7	10,953	13,416	21,831	29,691	22,487	62,724	36,004	171,076
8	5,422	8,528	15,106	19,781	57,285	77,134	30,948	264,828
9	3,181	6,600	9,833	13,821	107,482	48,985	40,557	334,486
10	6,747	8,984	15,758	22,141	33,155	75,401	40,506	228,161
11	3,802	6,626	10,468	14,854	74,277	57,984	41,899	290,689
12	4,585	6,882	11,882	15,977	50,098	72,653	34,464	248,462
13	10,857	16,886		33,694	55,531			210,344
14	5,320	9,133	13,606	17,617	71,673	48,976	29,480	231,147
15	5,422	8,687	14,435	19,077	60,218	66,168	32,158	251,844
16	5,153	9,118	12,740	17,656	76,945	39,724	38,587	242,635
17	6,954	10,252	18,163	26,043	47,426	77,165	43,385	274,504
18	6,878	10,131	16,763	24,139	47,296	65,462	44,002	250,960
19	10,211	14,953	24,016	38,600	46,440	60,610	60,726	278,024
20	5,665	10,164	17,982	27,857	79,417	76,919	54,916	391,739

Tabella 2: valori di superficie delle talee sotto lampada HQI da 250W. Le sigle T0, T1, T2, T3 si riferiscono al tempo del rilievo fotogrammetrico.

Talea	Volume (cm3)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	0,651	0,829	1,364	1,737	27,255	64,625	27,346	166,782
2	0,562	1,007	1,445	1,739	79,163	43,496	20,346	209,399
3	0,663	1,037	2,027	2,460	24,028	95,468	21,362	270,765
4	0,948	0,823	1,382	1,557	9,383	67,939	12,663	64,232
5	0,411	0,897	1,242	1,649	118,476	38,395	32,770	301,441
6	0,452	0,828	1,226	1,777	83,091	47,991	44,943	292,735
7	0,902	0,946	1,688	2,406	4,896	78,376	42,536	166,696
8	0,386	0,701	1,342	1,609	81,610	91,406	19,896	316,771
9	0,221	0,547	0,816	1,114	148,032	49,246	36,478	405,211
10	0,571	0,709	1,407	2,056	24,085	98,552	46,127	260,017
11	0,277	0,486	0,748	1,102	75,104	54,052	47,273	297,270
12	0,349	0,547	1,025	1,412	56,744	87,405	37,756	304,654
13	0,912	1,487		3,099	63,012			239,727
14	0,330	0,740	0,997	1,315	124,474	34,682	31,906	298,787
15	0,393	0,654	1,140	1,462	66,315	74,307	28,246	271,782
16	0,346	0,766	1,016	1,474	121,615	32,660	45,079	326,524
17	0,546	0,751	1,465	2,178	37,428	95,072	48,669	298,558
18	0,490	0,820	1,483	2,191	67,528	80,781	47,741	347,447
19	0,870	1,359	2,222	3,739	56,197	63,503	68,272	329,742
20	0,442	0,829	1,377	2,269	87,637	66,194	64,779	413,848

Tabella 3: valori di volume delle talee sotto lampada HQI da 250W.

Per quanto riguarda la talea numero 13, il terzo modello (T2 in tabella) non ha consentito una ricostruzione accettabile, rendendo impossibile la misurazione dei parametri di area e volume, così come il calcolo dei tassi di accrescimento degli ultimi due mesi.

HQI 400W (Vasca Coralli A)

Nelle tabelle che seguono (tabella 3 e 4) vengono riportati i dati raccolti riguardo superficie e volume delle talee stabulate sotto luce HQI da 400W (vasca Coralli A). Da questi sono stati ricavati i tassi di accrescimento e l'accrescimento totale del volume, riportati in seguito:

- Tasso di accrescimento area: 52.557 ± 23.599 %.
- Accrescimento totale area: 247.328 ± 53.474 %.
- Tasso di accrescimento volume: 65.262 ± 37.378 %.
- Accrescimento totale volume: 327.585 ± 72.086 %.

Talea	Area (cm2)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	17,352	27,248	43,533	50,628	57,03	59,77	16,30	191,77
2	11,602	23,195	26,743	38,201	99,92	15,30	42,84	229,26
3	16,951	25,108	35,623	41,776	48,12	41,88	17,27	146,45
4	11,271	20,647	31,416	44,156	83,19	52,16	40,55	291,77
5	13,344	20,748	30,322	43,126	55,49	46,14	42,23	223,19
6	8,597	17,829	25,888	35,807	107,39	45,20	38,32	316,51
7	7,735	15,106	22,517	29,980	95,29	49,06	33,14	287,59
8	18,668	30,216	37,800	52,159	61,86	25,10	37,99	179,40
9	9,666	16,928	24,387	36,919	75,13	44,06	51,39	281,95
10	11,358	18,362	26,060	33,972	61,67	41,92	30,36	199,10
11	14,514	21,844	31,979	38,826	50,50	46,40	21,41	167,51
12	12,846	19,805	34,386	44,096	54,17	73,62	28,24	243,27
13	11,236	13,896	21,123	31,868	23,67	52,01	50,87	183,62
14	9,710	20,620	25,877	37,755	112,36	25,49	45,90	288,83
15	8,495	16,140	24,565	34,383	89,99	52,20	39,97	304,74
16	6,775	12,245	21,464	26,973	80,74	75,29	25,67	298,13
17	7,485	14,367	21,484	27,146	91,94	49,54	26,35	262,67
18	12,051	18,333	30,753	45,924	52,13	67,75	49,33	281,08
19	14,016	25,785	39,584	50,234	83,97	53,52	26,90	258,40
20	9,724	18,447	31,477	39,998	89,71	70,63	27,07	311,33

Tabella 4: valori di superficie delle talee sotto lampada HQI da 400W

Talea	Volume (cm3)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	1,238	2,586	4,301	4,927	108,885	66,319	14,555	297,981
2	0,757	2,292	2,494	4,000	202,675	8,813	60,385	428,229
3	1,435	2,534	3,910	4,479	76,585	54,301	14,552	212,125
4	0,794	1,925	2,980	4,025	142,473	54,805	35,067	406,989
5	1,162	1,937	2,957	4,186	66,695	52,659	41,562	260,241
6	0,807	2,010	2,864	3,975	148,957	42,488	38,792	392,341
7	0,684	1,556	2,289	3,030	127,570	47,108	32,372	343,146
8	1,428	3,159	3,668	5,237	121,218	16,113	42,775	266,737
9	0,852	1,668	2,424	4,127	95,685	45,324	70,256	384,168
10	1,089	1,793	2,621	3,431	64,646	46,180	30,904	215,060
11	1,269	1,960	2,974	3,622	54,452	51,735	21,789	185,422
12	1,175	1,678	3,500	4,838	42,809	108,582	38,229	311,745
13	0,872	1,198	1,900	3,231	37,404	58,598	70,053	270,577
14	0,863	1,898	2,544	3,924	119,880	34,036	54,245	354,589
15	0,774	1,586	2,655	3,823	105,008	67,402	43,992	394,165
16	0,605	1,117	2,131	2,738	84,588	90,779	28,484	352,465
17	0,683	1,394	2,462	3,122	104,059	76,614	26,807	357,010
18	0,925	1,612	2,935	4,723	74,198	82,072	60,920	410,382
19	1,247	2,397	4,283	5,395	92,221	78,682	25,963	332,638
20	0,940	1,871	3,335	4,470	99,108	78,247	34,033	375,688

Tabella 5: valori di volume delle talee sotto lampada HQI da 400W

LED 1 (Vasca Coralli A)

I valori riportati nelle successive tabelle riguardano le talee cresciute sotto la luce LED nella Vasca Coralli A. Tra il primo e il secondo mese di esperimento, la talea numero 6 è morta, causando la mancanza dei dati sull'accrescimento nei mesi successivi. I tassi di accrescimento e gli accrescimenti totali di superficie e volume ricavati sono i seguenti:

- Tasso di accrescimento area: 65.576 ± 25.891 %.
- Accrescimento totale area: 338.966 ± 78.198 %.
- Tasso di accrescimento volume: 83.967 ± 37.854 %.
- Accrescimento totale volume: 484.934 ± 127.502 %.

Talea	Area (cm2)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	5,036	9,363	20,339	27,214	85,921	117,227	33,802	440,389
2	11,229	17,758	37,980	46,302	58,144	113,875	21,912	312,343
3	10,884	16,204	29,876	41,425	48,879	84,374	38,656	280,605
4	18,789	24,927	35,001	46,787	32,668	40,414	33,673	149,013
5	10,036	16,362	27,782	38,600	63,033	69,796	38,939	284,615
6	5,114	11,126			117,560			
7	11,429	16,218	30,200	40,071	41,902	86,213	32,685	250,608
8	13,487	17,460	35,017	48,676	29,458	100,556	39,007	260,911
9	8,604	13,483	25,479	35,921	56,706	88,971	40,983	317,492
10	7,679	13,954	24,399	34,778	81,716	74,853	42,539	352,898
11	8,233	14,665	25,257	36,761	78,125	72,226	45,548	346,508
12	5,128	10,320	16,223	27,206	101,248	57,200	67,700	430,538
13	19,888	32,278	49,237	70,297	62,300	52,540	42,773	253,466
14	12,533	21,552	35,454	56,421	71,962	64,504	59,139	350,180
15	5,332	10,553	18,124	25,569	97,918	71,743	41,078	379,539
16	10,205	21,417	35,844	50,945	109,868	67,362	42,130	399,216
17	9,463	20,149	34,835	47,524	112,924	72,887	36,426	402,209
18	5,076	10,225	19,104	27,220	101,438	86,836	42,483	436,249
19	5,312	10,149	18,875	27,433	91,058	85,979	45,340	416,434
20	7,933	14,879	26,261	37,852	87,558	76,497	44,138	377,146

Tabella 6: valori di superficie delle talee sotto lampada LED (Vasca Coralli A)

Talea	Volume (cm3)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	0,356	0,794	1,965	2,791	123,066	147,501	42,036	684,167
2	0,877	1,449	3,134	5,239	65,295	116,287	67,167	497,639
3	0,977	1,533	3,247	4,756	56,883	111,807	46,474	386,716
4	1,471	2,581	3,413	4,976	75,459	32,236	45,795	238,273
5	0,865	1,602	2,840	4,229	85,291	77,278	48,908	389,136
6	0,351	1,066			203,850			
7	1,083	1,658	3,425	4,777	53,093	106,574	39,474	341,090
8	1,118	1,478	3,644	5,331	32,200	146,549	46,295	376,834
9	0,754	1,133	2,595	3,940	50,196	129,038	51,830	422,304
10	0,599	1,307	2,396	3,831	118,310	83,321	59,891	539,898
11	0,753	1,462	2,681	3,965	94,035	83,379	47,893	426,231
12	0,509	1,082	1,634	3,417	112,726	51,017	109,119	571,797
13	1,619	3,479	5,259	8,151	114,886	51,164	54,991	403,459
14	1,146	2,054	3,799	6,467	79,232	84,956	70,229	464,311
15	0,444	0,879	1,616	2,372	97,966	83,792	46,782	434,061
16	1,031	2,425	3,867	6,808	135,209	59,464	76,054	560,330
17	0,745	2,059	3,431	5,653	176,362	66,634	64,762	658,754
18	0,348	0,874	1,920	2,866	151,122	119,653	49,271	723,374
19	0,457	0,900	2,074	3,322	96,881	130,465	60,174	626,776
20	0,714	1,408	2,727	4,060	97,191	93,679	48,882	468,604

Tabella 7: valori di volume delle talee sotto lampada LED (Vasca Coralli A)

LED 2 (Vasca Coralli B)

Vengono riportati di seguito i dati riguardanti le talee cresciute nella Vasca Coralli B sotto la luce LED. I tassi di accrescimento e l'accrescimento totale di superficie e volume sono i seguenti:

- Tasso di accrescimento area: 69.615 ± 35.568 %.
- Accrescimento totale area: 364.891 ± 85.01 %.
- Tasso di accrescimento volume: 94.348 ± 55.495 %.
- Accrescimento totale volume: 571.796 ± 168.098 %.

Talea	Area (cm2)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	8,917	18,470	35,828	45,673	107,132	93,979	27,479	412,201
2	4,537	9,406	21,293	26,699	107,318	126,377	25,389	488,473
3	8,288	17,353	31,658	41,165	109,375	82,435	30,030	396,682
4	14,767	26,488	51,390	61,761	79,373	94,012	20,181	318,237
5	9,331	23,325	40,548	54,835	149,973	73,839	35,235	487,665
6	6,252	15,860	28,500	41,036	153,679	79,697	43,986	556,366
7	10,183	24,478	42,391	57,222	140,381	73,180	34,986	461,937
8	15,065	26,057	47,581	59,868	72,964	82,604	25,823	297,398
9	12,567	28,589	40,236	55,588	127,493	40,739	38,155	342,333
10	15,870	35,056	51,797	62,032	120,895	47,755	19,760	290,876
11	15,490	26,303	46,458	57,115	69,806	76,626	22,939	268,722
12	8,047	14,696	29,842	37,459	82,627	103,062	25,524	365,503
13	10,490	18,990	41,633	48,200	81,030	119,236	15,774	359,485
14	7,646	12,520	23,985	34,239	63,746	91,573	42,752	347,803
15	19,648	33,040	48,526	60,459	68,160	46,870	24,591	207,711
16	14,367	29,872	48,871	67,138	107,921	63,601	37,378	367,307
17	9,782	17,626	34,288	48,976	80,188	94,531	42,837	400,675
18	12,718	21,886	40,008	53,312	72,087	82,802	33,253	319,185
19	17,763	35,011	53,995	71,913	97,101	54,223	33,185	304,847
20	16,255	28,495	44,676	65,739	75,300	56,785	47,146	304,423

Tabella 7: valori di superficie delle talee sotto lampada LED (Vasca Coralli B)

Talea	Volume (cm3)				Tasso Accrescimento %			Accrescimento totale %
	T0	T1	T2	T3	Mese 1	Mese 2	Mese 3	
1	0,656	1,656	3,797	4,693	152,282	129,287	23,598	614,952
2	0,388	0,875	2,467	3,733	125,319	181,940	51,317	861,264
3	0,693	1,680	3,699	4,991	142,261	120,179	34,928	619,718
4	1,439	2,902	6,109	6,951	101,668	110,510	13,783	383,044
5	0,800	2,536	5,162	6,404	217,161	103,549	24,060	700,906
6	0,485	1,677	3,431	4,713	245,774	104,592	37,365	871,755
7	0,903	2,889	5,113	8,322	219,867	76,982	62,762	821,404
8	1,179	2,383	4,682	6,437	102,120	96,475	37,484	445,971
9	1,227	3,286	5,025	6,225	167,808	52,921	23,881	407,335
10	1,494	4,105	6,068	7,092	174,766	47,820	16,875	374,699
11	1,234	2,682	5,523	6,388	117,342	105,928	15,662	417,666
12	0,608	1,452	3,298	4,524	138,800	127,135	37,174	644,029
13	0,847	1,699	4,364	5,463	100,572	156,857	25,183	544,923
14	0,543	1,252	2,489	3,873	130,648	98,802	55,605	613,499
15	1,818	3,652	5,635	7,038	100,880	54,299	24,898	287,129
16	1,238	3,321	6,091	8,456	168,271	83,398	38,828	583,037
17	0,748	1,792	3,962	6,249	139,647	121,094	57,723	735,689
18	1,084	2,164	4,427	5,967	99,631	104,575	34,787	450,461
19	1,494	3,679	6,512	10,134	146,252	77,005	55,620	578,313
20	1,494	3,278	5,559	8,667	119,411	69,585	55,909	480,120

Tabella 8: valori di volume delle talee sotto lampada LED (Vasca Coralli B)

I dati appena descritti sono stati analizzati per identificare differenze significative dal punto di vista statistico.

Per quanto riguarda i tassi di accrescimento medio percentuale della superficie, l'analisi statistica mostra una differenza significativa ($p < 0.0001$) tra i quattro gruppi di talee. Dal confronto multiplo viene messo in evidenza che non ci sono differenze a livello statistico ($p > 0.05$) tra i gruppi di talee poste sotto le due lampade HQI, così come per i gruppi sotto le lampade LED. Per tutti gli altri confronti (HQI vs. LED) è stata invece riscontrata una differenza significativa ($p < 0.001$) (Figura 24).

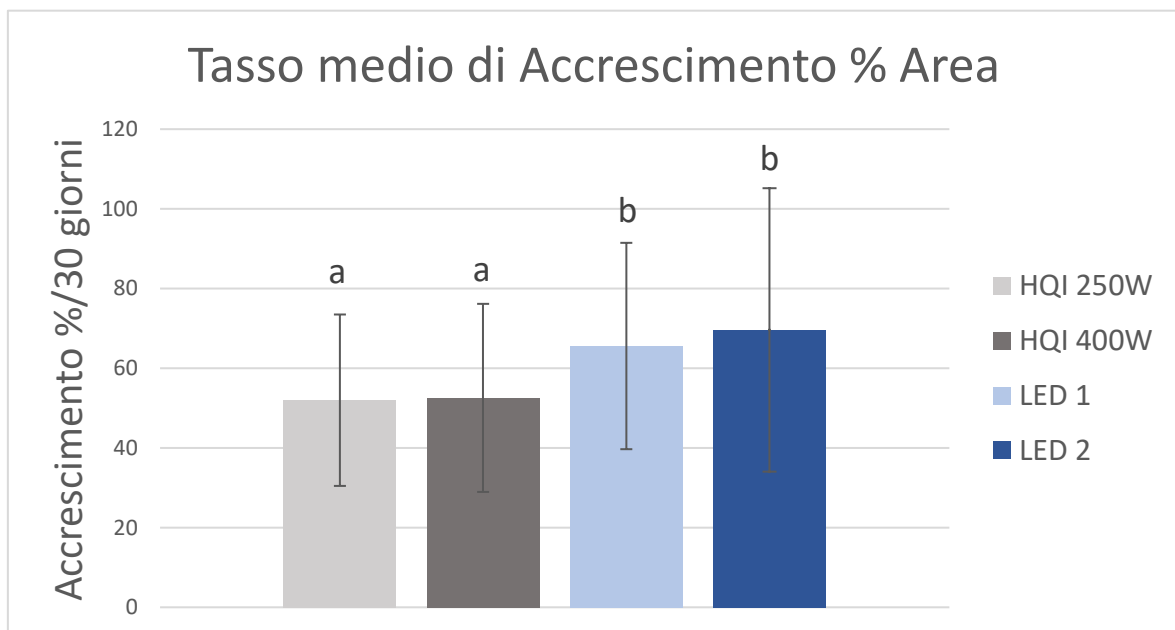


Figura 24: tassi medi di accrescimento % mensile della superficie. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.001$)

I dati sull'accrescimento totale percentuale mostrano gli stessi esiti: l'analisi statistica ha individuato una differenza significativa ($p < 0.0001$) tra i gruppi di talee; dal confronto multiplo i gruppi di talee sotto lo stesso tipo di lampada non differiscono tra loro ($p > 0.05$), mentre in tutti gli altri raffronti viene messa in evidenza una differenza significativa ($p < 0.001$) (Figura 25).

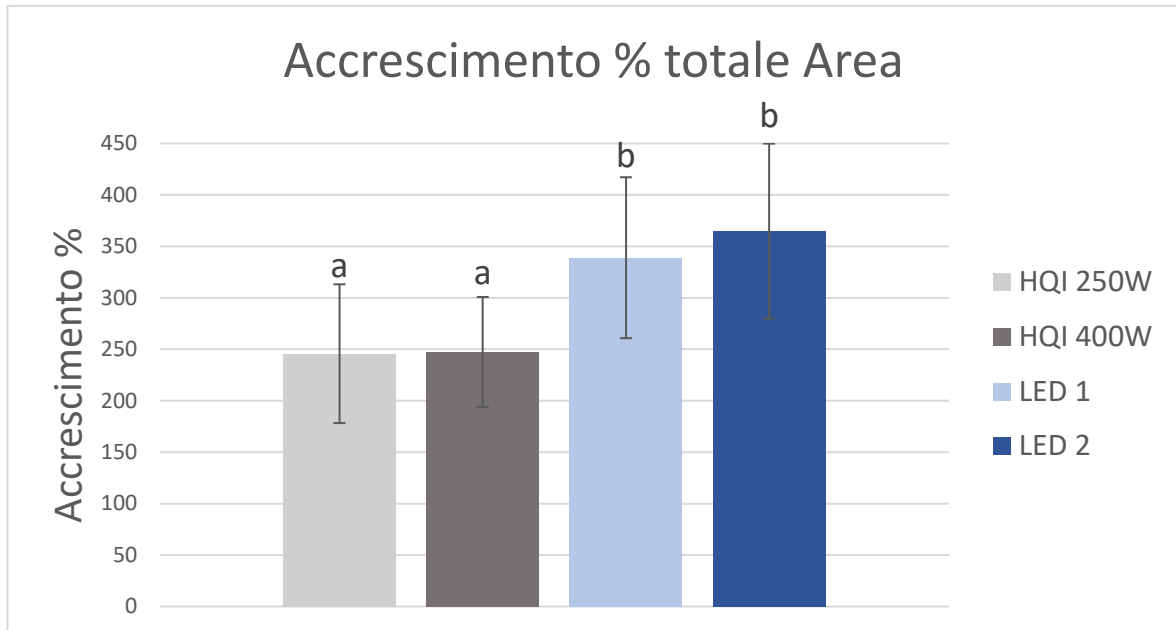


Figura 25: accrescimento totale medio percentuale della superficie. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.001$).

In Figura 26 viene proposto un grafico riassuntivo che presenta l'andamento dei tassi medi di accrescimento percentuale della superficie nei tre mesi presi in analisi. Come si può notare, la tendenza che tutti i gruppi di talee manifestano è quella di una diminuzione del tasso di accrescimento nel tempo. Questo tipo di andamento è da ritenersi normale se si tiene in considerazione che si tratta di valori percentuali, ricavati dalle differenze tra i valori di un rilievo mensile e quelli del rilievo precedente. Ciò significa che l'accrescimento nei tre mesi potrebbe essere costante ma, essendo questi valori calcolati come il rapporto tra la differenza di due valori successivi e il valore iniziale, trasformato in percentuale, con l'aumentare delle dimensioni di ogni talea, la proporzione tra tasso di crescita e superficie della colonia diminuisce. Tutto ciò si riflette in una diminuzione asintotica nel tempo del tasso di accrescimento percentuale.

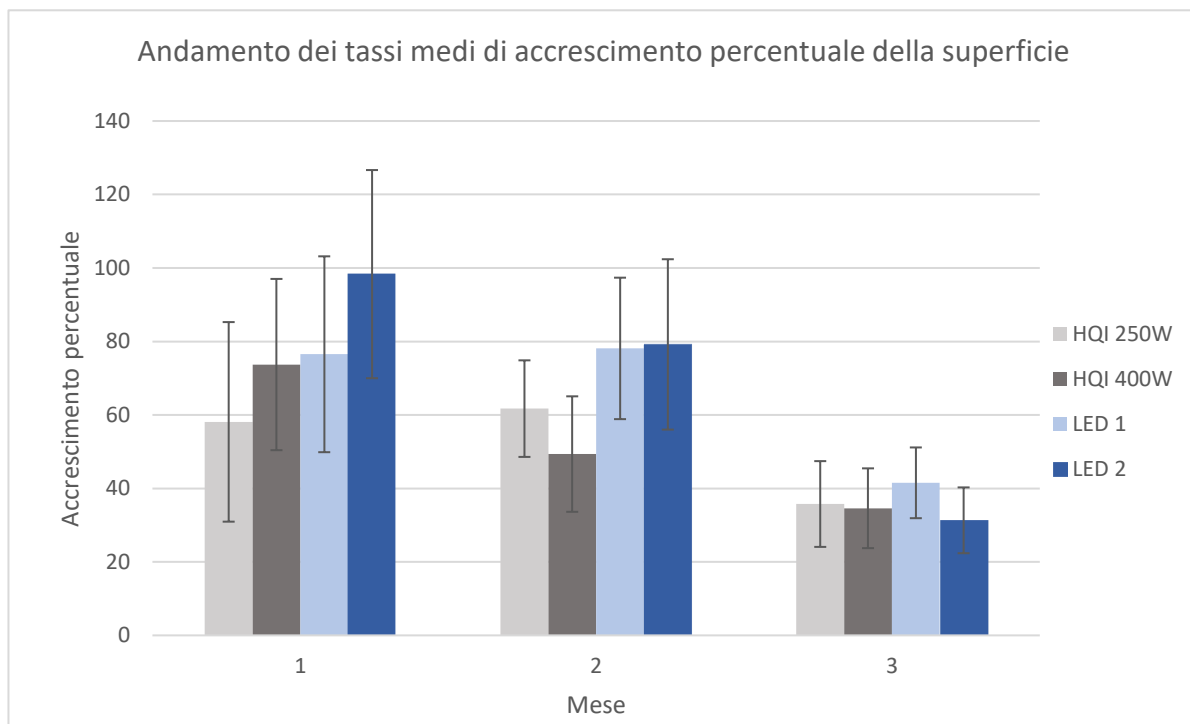


Figura 26: andamento dei tassi medi di accrescimento percentuale in superficie.

Per quanto riguarda il tasso di accrescimento medio percentuale (Figura 27) e l'accrescimento totale percentuale (Figura 28) ricavati dai dati volumetrici, l'analisi statistica (one-way ANOVA), in entrambi i casi ha identificato una differenza significativa nei quattro gruppi ($p < 0.0001$). Nei confronti multipli, sia per i tassi medi di accrescimento che per i valori di accrescimento totale sono state valutate come non significative ($p > 0.05$) le differenze tra i gruppi di talee cresciute sotto lampade dello stesso tipo. Per quanto concerne tutti gli altri confronti (HQI vs LED), le differenze sono risultate significative ($p < 0.01$ per i tassi medi di accrescimento, $p < 0.001$ per gli accrescimenti totali).

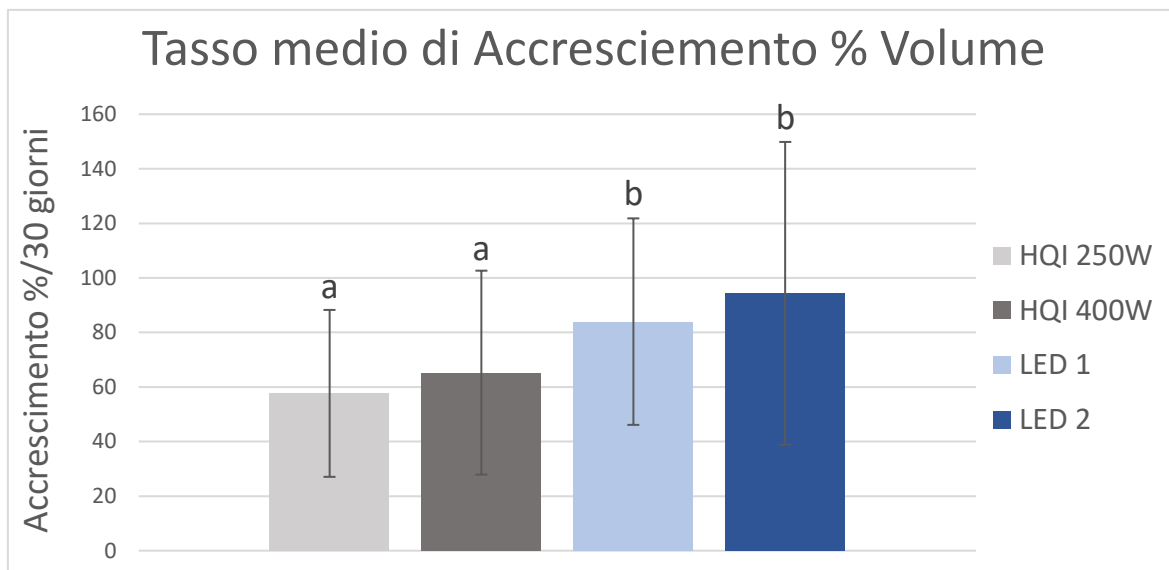


Figura 28: tassi medi di accrescimento percentuale del volume. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.001$).

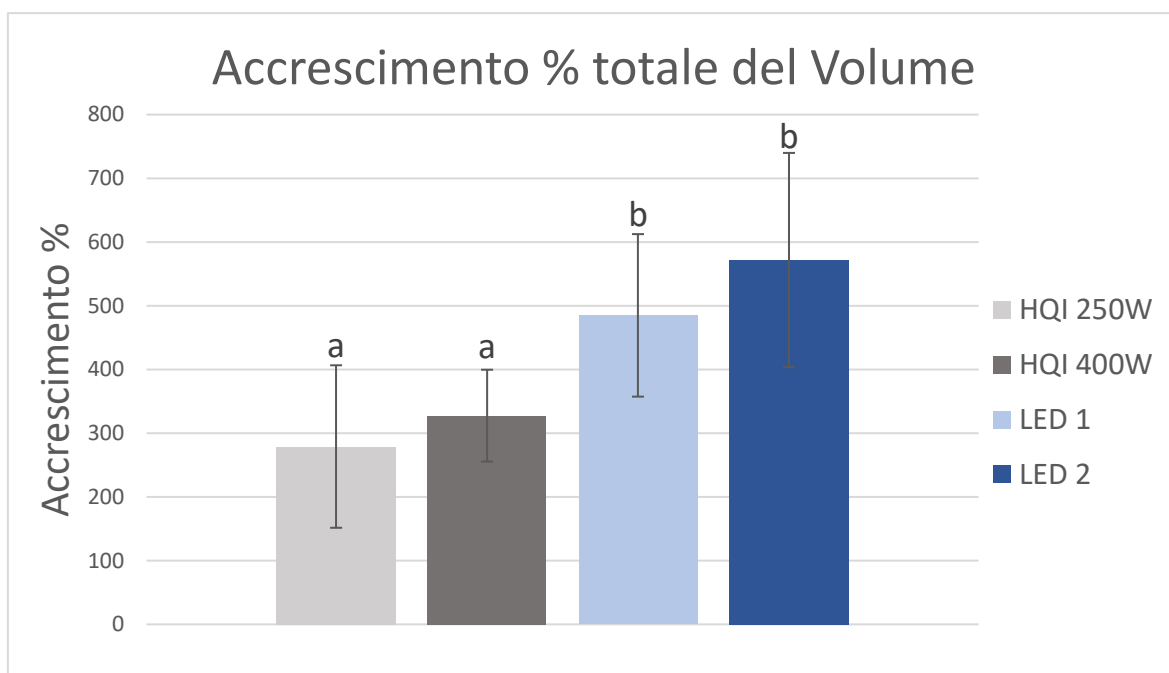


Figura 27: accrescimenti totali medi percentuali in volume. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.01$).

Il grafico in Figura 29 mostra l'andamento dei tassi medi di accrescimento percentuale del volume nella durata dell'esperimento. Analogamente a quanto visto per la superficie, anche in questo caso si può identificare una tendenza decrescente, dovuta, come spiegato in precedenza, alla natura del dato.

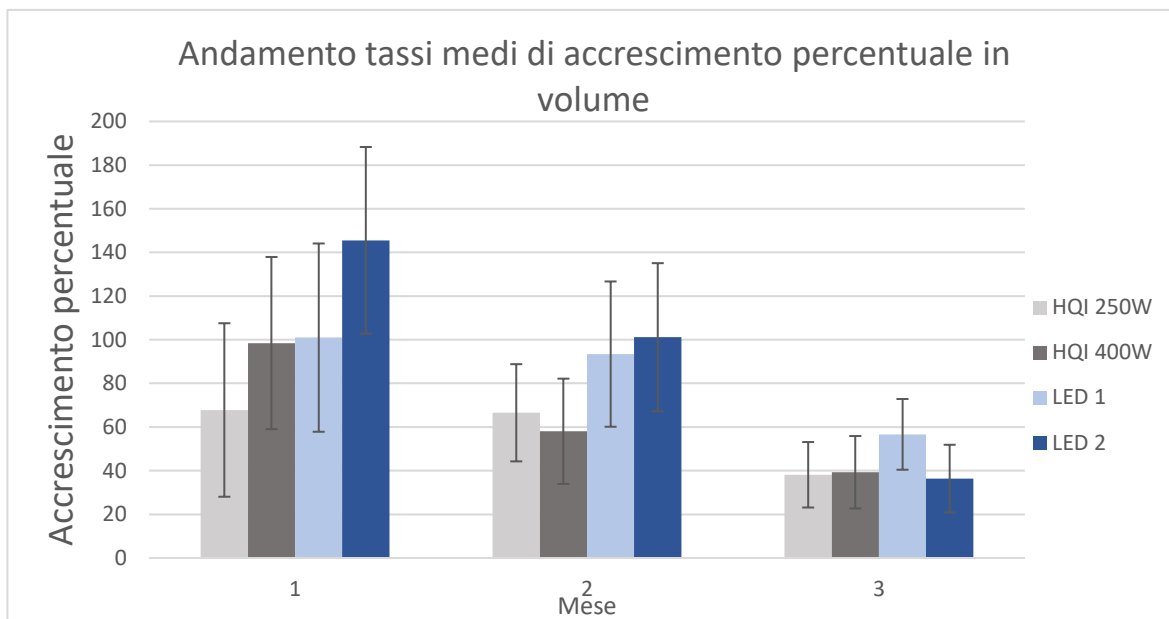


Figura 29: andamento dei tassi medi di accrescimento percentuale in volume.

3.2. Risultati dell'indice mitotico e densità delle zooxantelle

Successivamente vengono riportati i dati ottenuti dalle analisi di laboratorio effettuate con lo scopo di ricavare gli indici mitotici, calcolati mensilmente da Settembre a Gennaio (un mese in più rispetto ai valori metrici, come spiegato nel capitolo riguardante materiali e metodi), suddivisi in gruppi sulla base delle lampade utilizzate. In ogni tabella vengono riportati sia i valori ricavati da ogni replica, sia le medie relative ad ogni campionamento mensile. Ad ogni tabella sono associati dei grafici che riassumono l'andamento degli indici e della densità delle zooxantelle nella durata dello studio.

HQI 250W (Vasca Coralli B)

Campionamento	Zooxantelle/corallite			Zooxantelle/cm2 (10 ⁶)	Indice mitotico			Media ± DS (%)
	Repliche			Media ± DS	Repliche			
	1	2	3		1	2	3	
0 (27/09)	29639	28792	35075	1,26 ± 0,14	2,00%	2,40%	3,20%	2,53 ± 0,61
1 (29/10)	33086	21424	18175	0,98 ± 0,32	2,60%	2,40%	3,00%	2,67 ± 0,31
2 (28/11)	33523	34796	35451	1,40 ± 0,04	2,20%	1,80%	1,80%	1,93 ± 0,23
3 (20/12)	42045	35531	55482	1,79 ± 0,41	2,60%	2,20%	2,40%	2,4 ± 0,2
4 (22/01)	54375	37009	49130	1,89 ± 0,36	1,60%	1,00%	1,20%	1,27 ± 0,31

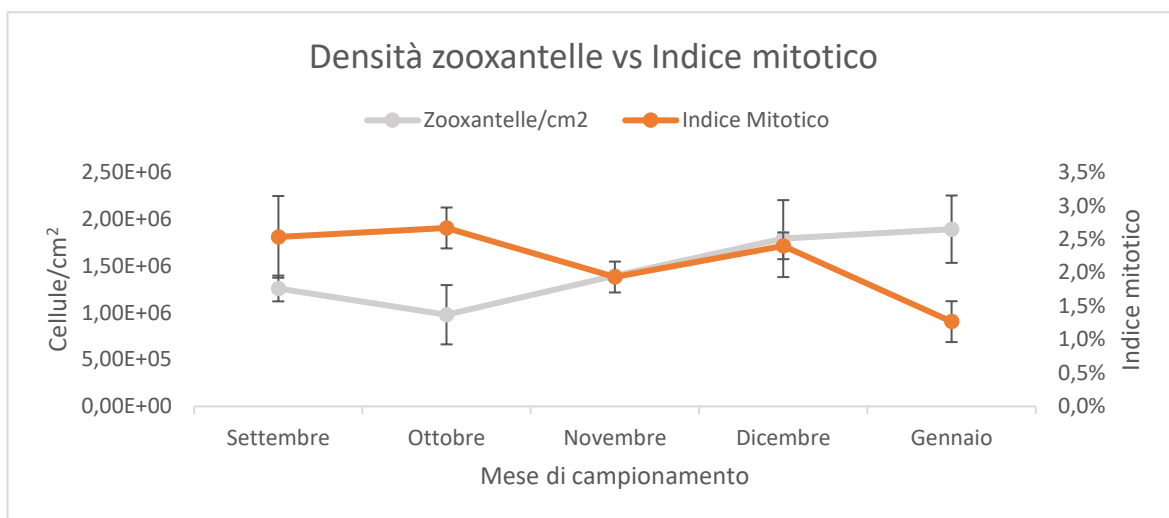


Figura 30: andamento della densità delle zooxantelle e dell'indice mitotico per le talee del gruppo HQI250 (Vasca Coralli B).

HQI 400W (Vasca Coralli A)

Campionamento	Zooxantelle/corallite			Zooxantelle/cm2 (10 ⁶)	Indice mitotico			Media ± DS (%)
	Repliche			Media ± DS	Repliche			
	1	2	3		1	2	3	
0 (27/09)	36898	33273	36955	1,44 ± 0,85	2,20%	4,80%	5,00%	4 ± 1,56
1 (29/10)	31792	23767	38659	1,27 ± 0,30	3,80%	3,20%	2,20%	3,07 ± 0,81
2 (28/11)	52176	45591	40789	1,87 ± 0,23	1,60%	1,60%	1,80%	1,67 ± 0,12
3 (20/12)	37071	38583	46747	1,65 ± 0,21	2,80%	2,80%	3,20%	2,93 ± 0,23
4 (22/01)	46897	43250	59000	2,01 ± 0,33	1,60%	1,80%	1,60%	1,67 ± 0,12

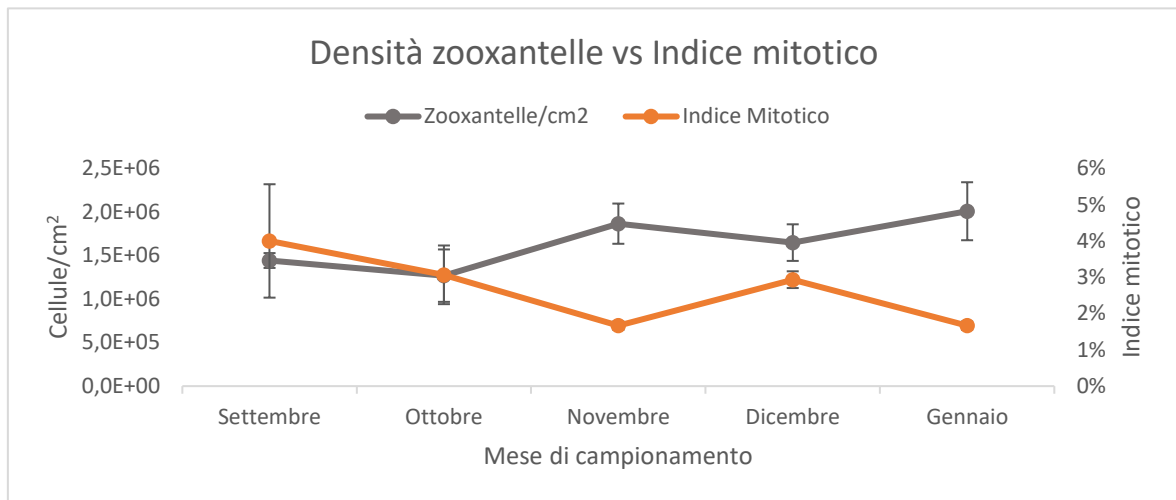


Figura 31: andamento dell'indice mitotico e della densità delle zooxantelle per le talee del gruppo HQI400 (Vasca Coralli A).

Per i due gruppi di talee cresciute sotto lampade HQI, l'analisi statistica (one-way ANOVA) della densità zooxantellare e dell'indice mitotico ha messo in evidenza differenze significative ($p < 0.05$) per i valori di entrambi gli indicatori nella durata dello studio. I confronti multipli hanno identificato differenze significative nei seguenti raffronti:

- Per quanto riguarda i dati sulla densità zooxantellare, i confronti multipli sono riassunti nella Figura 32.

Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.7592	Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.9051
Settembre vs. Novembre	No	ns	0.9744	Settembre vs. Novembre	No	ns	0.2934
Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.2367	Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.8418
Settembre vs. Gennaio	No	ns	0.1281	Settembre vs. Gennaio	No	ns	0.1065
Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.4387	Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.0842
Ottobre vs. Dicembre	Yes	*	0.0398	Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.3864
Ottobre vs. Gennaio	Yes	*	0.0206	Ottobre vs. Gennaio	Yes	*	0.0282
Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.4920	Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.8144
Novembre vs. Gennaio	No	ns	0.2940	Novembre vs. Gennaio	No	ns	0.9506
Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.9921	Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.4329

Figura 32: risultati dei test di comparazione multipla sui dati della densità delle zooxantelle per i gruppi HQI250 (sinistra) e HQI400 (destra).

- Gli esiti dei confronti multipli delle serie di dati degli indici mitotici sono riassunti nella Figura 33.

Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.9901	Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.6214
Settembre vs. Novembre	No	ns	0.3179	Settembre vs. Novembre	Yes	*	0.0316
Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.9901	Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.5072
Settembre vs. Gennaio	Yes	*	0.0107	Settembre vs. Gennaio	Yes	*	0.0316
Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.1702	Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.2715
Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.8892	Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.9995
Ottobre vs. Gennaio	Yes	**	0.0055	Ottobre vs. Gennaio	No	ns	0.2715
Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.5393	Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.3545
Novembre vs. Gennaio	No	ns	0.2347	Novembre vs. Gennaio	No	ns	>0.9999
Dicembre vs. Gennaio	Yes	*	0.0214	Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.3545

Figura 33: risultati del test di comparazione multipla sui dati dell'indice mitotico per i gruppi HQI250 (sinistra) e HQI400 (destra).

LED 1 (Vasca Coralli A)

Campionamento	Zooxantelle/corallite			Zooxantelle/cm ² (10 ⁶)	Indice mitotico			Media ± DS (%)
	Repliche			Media ± DS	Repliche			
	1	2	3		1	2	3	
0 (27/09)	30278	47358	25634	1,39 ± 0,46	3,40%	3,60%	4,20%	3,73 ± 0,42
1 (29/10)	29576	35257	41796	1,44 ± 0,25	2,00%	3,40%	2,80%	2,73 ± 0,70
2 (28/11)	43118	41964	44403	1,74 ± 0,05	2,40%	2,00%	1,40%	1,93 ± 0,50
3 (20/12)	50762	43407	44215	1,86 ± 0,16	2,40%	2,80%	3,20%	2,80 ± 0,40
4 (22/01)	73657	91887	74928	3,24 ± 0,41	3,40%	3,00%	3,40%	3,27 ± 0,23

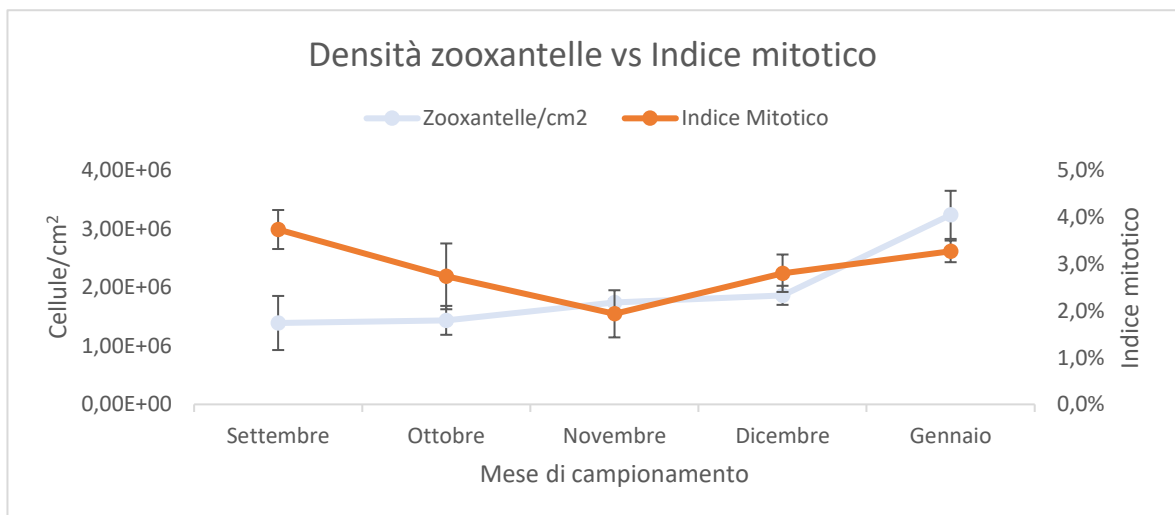


Figura 34: andamento della densità delle zooxantelle e dell'indice mitotico per le talee sotto lampada LED 1 (Vasca Coralli A).

LED 2 (Vasca Coralli B)

Campionamento	Zooxantelle/corallite			Zooxantelle/cm ² (10 ⁶)	Indice mitotico			Media ± DS (%)
	Repliche			Media ± DS	Repliche			
	1	2	3		1	2	3	
0 (27/09)	28641	43500	27578	1,34 ± 0,36	4,60%	5,40%	6,20%	5,40 ± 0,80
1 (29/10)	31114	38333	38125	1,45 ± 0,17	4,00%	3,20%	3,40%	3,53 ± 0,42
2 (28/11)	50446	42076	52063	1,95 ± 0,22	2,80%	1,80%	2,20%	2,27 ± 0,50
3 (20/12)	75600	85040	74655	3,17 ± 0,23	2,00%	2,20%	3,20%	2,47 ± 0,64
4 (22/01)	95598	138095	75991	4,17 ± 1,28	2,80%	4,20%	2,60%	3,20 ± 0,87

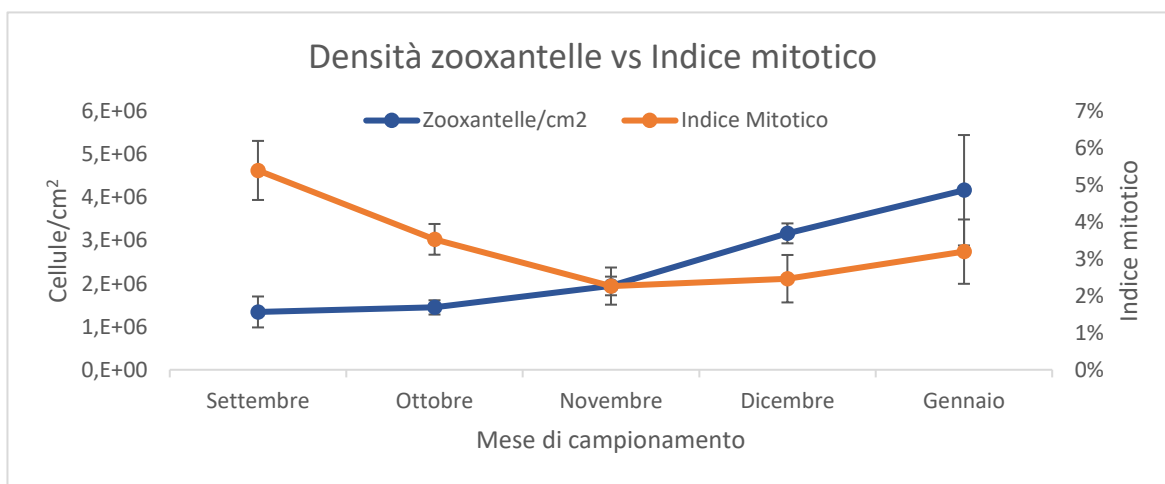


Figura 35: andamento della densità delle zooxantelle e dell'indice mitotico per le talee sotto lampada LED 2 (Vasca Coralli B).

L'analisi statistica dei gruppi di talee poste sotto lampade LED ha evidenziato, per entrambi gli indicatori valutati, delle differenze significative ($p < 0.05$). Dai test di comparazione multipla sono emersi i seguenti confronti significativi:

- Per quanto riguarda i dati sulla densità delle zooxantelle, i confronti sono riassunti nella Figura 36.

Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.9997	Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.9995
Settembre vs. Novembre	No	ns	0.6376	Settembre vs. Novembre	No	ns	0.7519
Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.3836	Settembre vs. Dicembre	Yes	*	0.0298
Settembre vs. Gennaio	Yes	***	0.0002	Settembre vs. Gennaio	Yes	**	0.0016
Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.7378	Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.8542
Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.4733	Ottobre vs. Dicembre	Yes	*	0.0413
Ottobre vs. Gennaio	Yes	***	0.0002	Ottobre vs. Gennaio	Yes	**	0.0022
Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.9878	Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.1855
Novembre vs. Gennaio	Yes	**	0.0010	Novembre vs. Gennaio	Yes	**	0.0089
Dicembre vs. Gennaio	Yes	**	0.0019	Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.3364

Figura 36: risultati dei test di comparazione multipla sui dati della densità delle zooxantelle per i gruppi LED1 (sinistra) e LED2 (destra).

- I risultati dei confronti multipli tra i dati degli indici mitotici sono riassunti nella Figura 37.

Tukey's multiple comparisons test	Significant?	Summary	Adjusted P Value	Tukey's multiple comparison	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Settembre vs. Ottobre	No	ns	0.1496	Settembre vs. Ottobre	Yes	*	0.0412
Settembre vs. Novembre	Yes	**	0.0065	Settembre vs. Novembre	Yes	**	0.0014
Settembre vs. Dicembre	No	ns	0.1920	Settembre vs. Dicembre	Yes	**	0.0023
Settembre vs. Gennaio	No	ns	0.7515	Settembre vs. Gennaio	Yes	*	0.0161
Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.3077	Ottobre vs. Novembre	No	ns	0.2161
Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.9998	Ottobre vs. Dicembre	No	ns	0.3525
Ottobre vs. Gennaio	No	ns	0.6570	Ottobre vs. Gennaio	No	ns	0.9702
Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.2444	Novembre vs. Dicembre	No	ns	0.9955
Novembre vs. Gennaio	Yes	*	0.0403	Novembre vs. Gennaio	No	ns	0.4709
Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.7515	Dicembre vs. Gennaio	No	ns	0.6739

Figura 37: risultati del test di comparazione multipla sui dati dell'indice mitotico per i gruppi LED1 (sinistra) e LED2 (destra).

Di seguito vengono presentati due grafici riassuntivi (Figura 38 e 39).

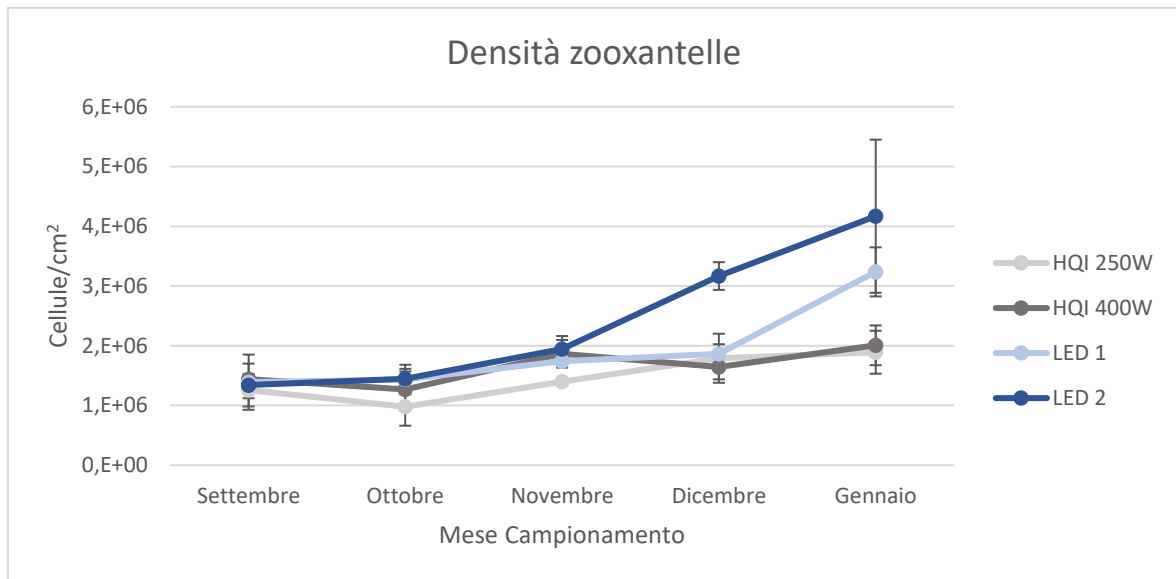


Figura 38: andamento della densità delle zooxantelle durante il periodo di studio.

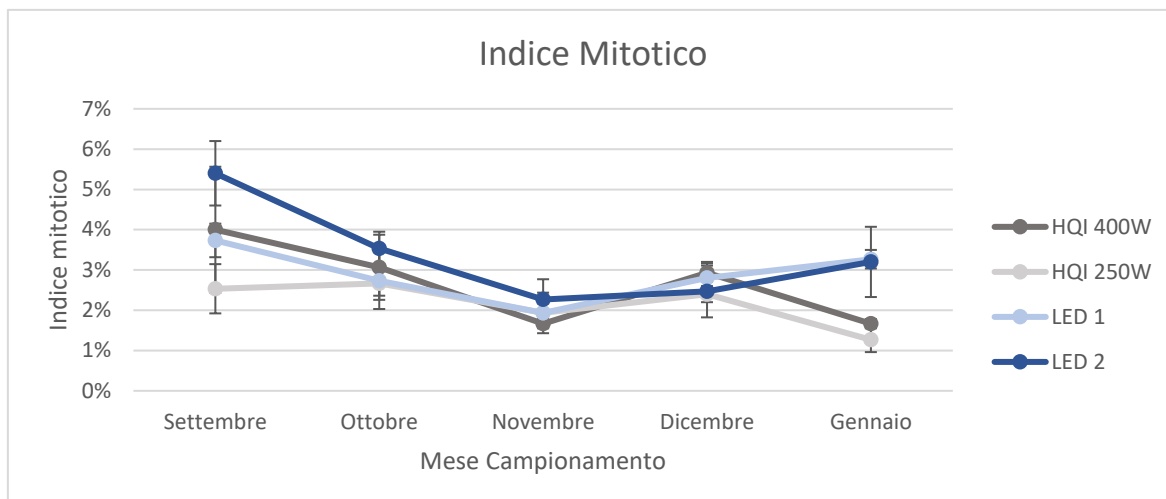


Figura 39: andamento dell'indice mitotico nel periodo di studio.

Focus sul mese di Gennaio

Come spiegato precedentemente, nel mese di Gennaio sono state effettuate analisi supplementari a causa dell'abbassamento della temperatura del Sistema A.

Dal punto di vista statistico, per entrambi i gruppi HQI, sono state individuate differenze significative ($p < 0.05$) nel confronto dei valori di densità delle zooxantelle registrati a Ottobre e Gennaio, in aggiunta al confronto Ottobre – Dicembre, risultato significativo per il gruppo HQI250 (Figura 32). Nelle controparti poste sotto luci LED, che mostravano sintomi di malessere ridotti o assenti, si nota invece un incremento marcato (Figura 38), confermato anche dalla significatività statistica ($p < 0.05$) presente in tutti i confronti tra i valori del mese di Gennaio e gli altri mesi (escluso il confronto Dicembre – Gennaio per il gruppo LED 2 che risulta non significativo) (Figura 36).

Il confronto tra i gruppi di talee nel mese di Gennaio evidenzia una differenza significativa ($p < 0.05$) in tutti i confronti, ad eccezione di quello tra i due gruppi HQI (Figura 40).

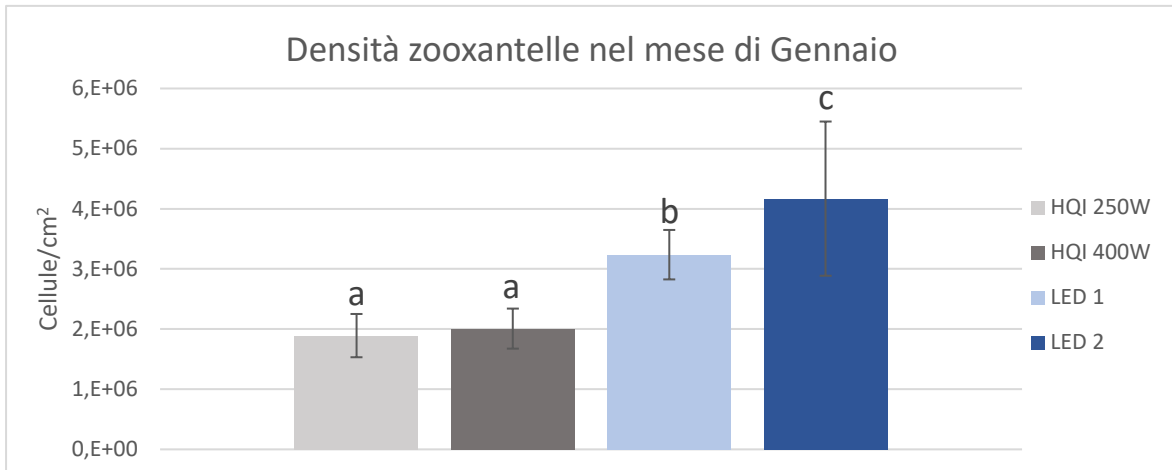


Figura 41: densità delle zooxantelle misurate nel mese di Gennaio. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.05$).

In riferimento agli indici mitotici calcolati (Figura 39), si nota come, per i gruppi di talee con lampade HQI, l'andamento sia in calo nel periodo preso in analisi, in contrapposizione con quanto si osserva per gli indici dei gruppi con lampade LED che manifestano un andamento stabile (non ci sono differenze tra gli ultimi due mesi). Dal punto di vista statistico, sono state individuate delle differenze significative ($p < 0.05$) tra i gruppi di talee solo nel primo e nell'ultimo mese (Figura 41). In particolare, nel mese di Gennaio, la differenza si concretizza nei confronti tra gruppi con lampade diverse, mentre i confronti tra gruppi con illuminazione uguale non sono significativi.

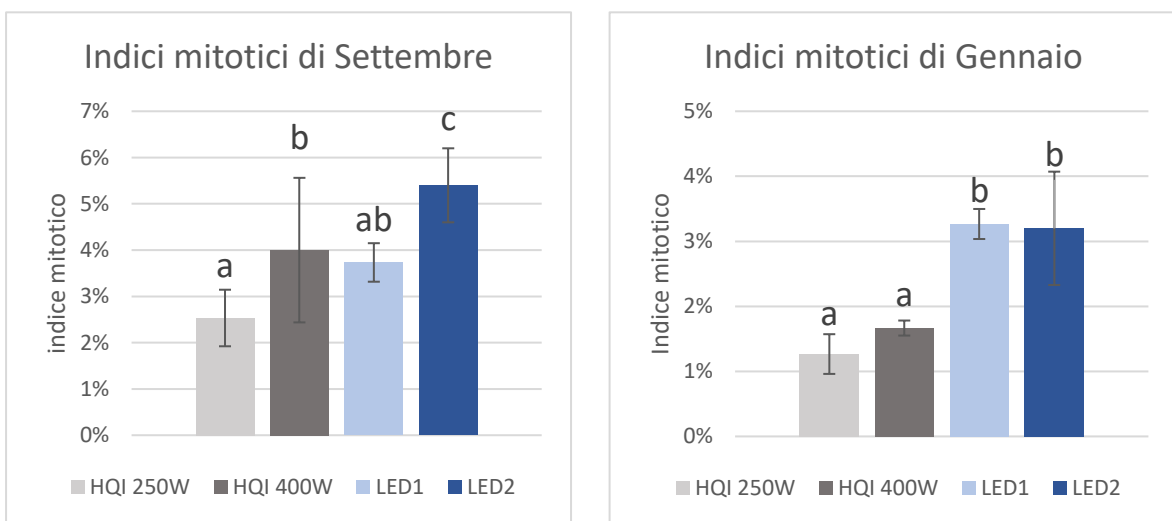


Figura 40: indici mitotici dei mesi di Settembre e Gennaio. I gruppi che non condividono la stessa lettera sono significativamente differenti ($p < 0.05$).

4. DISCUSSIONE

4.1. Modelli 3D

Dai dati ottenuti dall'analisi dei modelli tridimensionali e dalle analisi statistiche effettuate viene messo in evidenza, che c'è un effetto delle lampade LED sulla crescita delle talee, rispetto alle tradizionali lampade HQI. Nella fattispecie, in tutti gli indicatori presi in considerazione l'effetto dell'illuminazione LED è chiaramente positivo, si traduce cioè in tassi di crescita maggiori rispetto alle talee cresciute sotto luce HQI. Questo effetto positivo è riscontrabile sia nei valori di crescita di superficie sia in quelli della crescita volumetrica (Figure 24, 25, 27, 28).

4.2. Indice mitotico e densità delle zooxantelle

I valori dell'indice mitotico e della densità delle zooxantelle vengono spesso utilizzati come indicatori dello stress nei coralli (Hueerkamp et al., 2001). Per quanto riguarda la densità di zooxantelle per centimetro quadrato, i risultati ottenuti evidenziano una tendenza di aumento dei valori medi nel corso dell'esperimento. Considerato che il periodo in cui è stato svolto lo studio è quello autunnale, l'andamento osservato può essere confrontato con altri andamenti rinvenuti in bibliografia. Fitt (2000), effettuando analisi al fine di identificare dei pattern stagionali della densità simbiotica nei tessuti di coralli, ha osservato che questa aumenta nel periodo dell'anno più freddo, per poi diminuire durante il periodo primaverile-estivo. La spiegazione proposta dall'autore vede le variazioni in densità come una risposta fisiologica della relazione simbiotica tra corallo e zooxantella: la diminuzione nel periodo "caldo" riflette l'aumento del metabolismo respiratorio e della fotoinibizione, come conseguenza dell'incremento della temperatura dell'acqua.

Stimson (1997) ha condotto osservazioni con lo stesso scopo, focalizzandosi esclusivamente su colonie di *P. damicornis* in ambiente sia naturale che controllato. I risultati ottenuti mostrano un ciclo annuale, con un periodo di minima in corrispondenza dei mesi caldi, seguito dall'aumento della densità microalgale nei mesi freddi. Questo pattern è stato riconosciuto sia in natura, sia in condizioni sperimentali. Quest'ultimo studio mostra degli andamenti comparabili con quelli ricavati in questo lavoro: in particolare, il ciclo annuale di densità delle zooxantelle osservato da Stimson in colonie in ambiente naturale mostra un andamento paragonabile soprattutto con le serie delle lampade HQI, sia per quanto riguarda i mesi presi in analisi (Settembre – Gennaio), sia per i valori riportati (Figura 42 e 43). Il fatto che gli andamenti rinvenuti nei due studi mostrino un'affinità particolarmente marcata solo per le serie di talee sotto lampade HQI potrebbe essere una conseguenza del repentino abbassamento di temperatura dell'acqua del Sistema A durante il mese di Gennaio, causa di un forte evento di stress. Le talee sotto HQI sono state infatti le uniche a mostrare chiari e diffusi sintomi di malessere, situazione che potrebbe essersi tradotta in una riduzione dell'aumento nella popolazione microalgale.

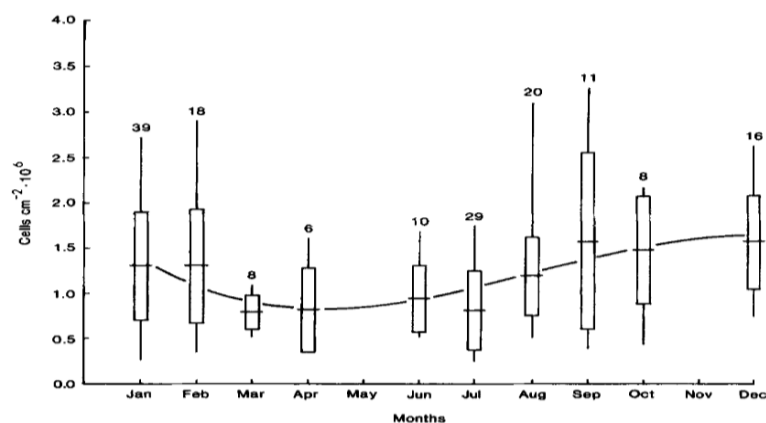


Figura 42: ciclo annuale della densità delle zooxantelle nel tessuto di *Pocillopora damicornis* in situ. Le barre orizzontali rappresentano i valori medi, le scatole rappresentano le deviazioni standard, le linee verticali rappresentano l'intervallo dei valori (Stimson, 1997).

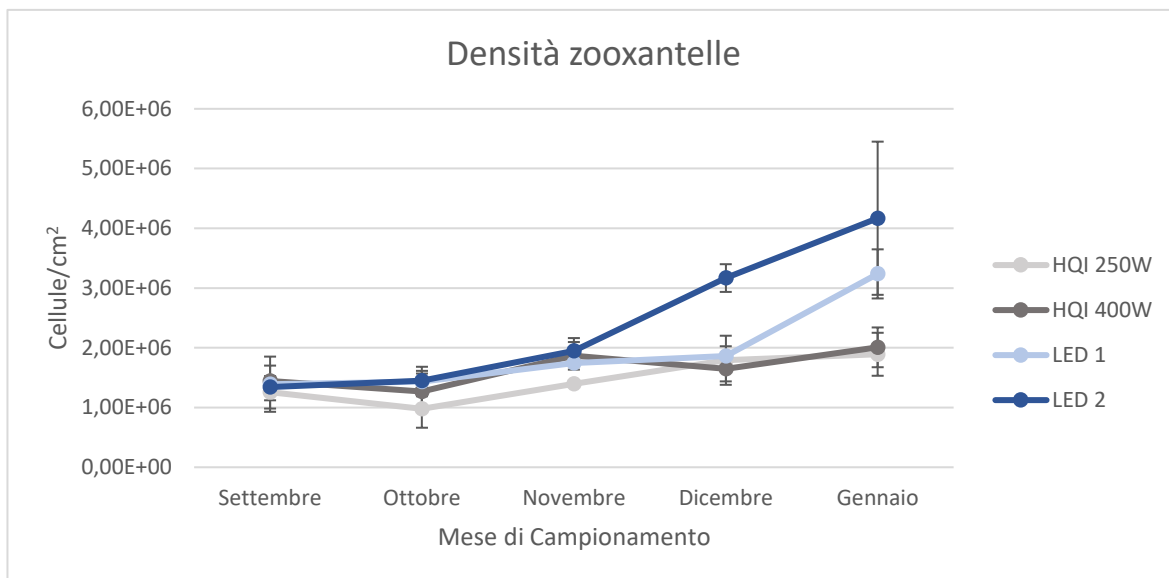


Figura 43: andamento della densità di zooxantelle nel periodo di studio.

Andando a confrontare simultaneamente gli andamenti delle densità delle zooxantelle e gli indici mitotici, per i gruppi di talee cresciute sotto le lampade HQI si nota una relazione inversa (Figura 44), con la densità che aumenta da Ottobre a Gennaio e l'indice mitotico che invece diminuisce (HQI 250) o rimane costante (HQI 400). Tale relazione è stata riscontrata anche da diversi autori: Cervino (2003) ha effettuato delle indagini riguardanti gli effetti del cianuro su coralli ed anemoni, riscontrando una relazione inversa tra densità microalgale e indice mitotico quando i coralli vengono trattati con l'agente

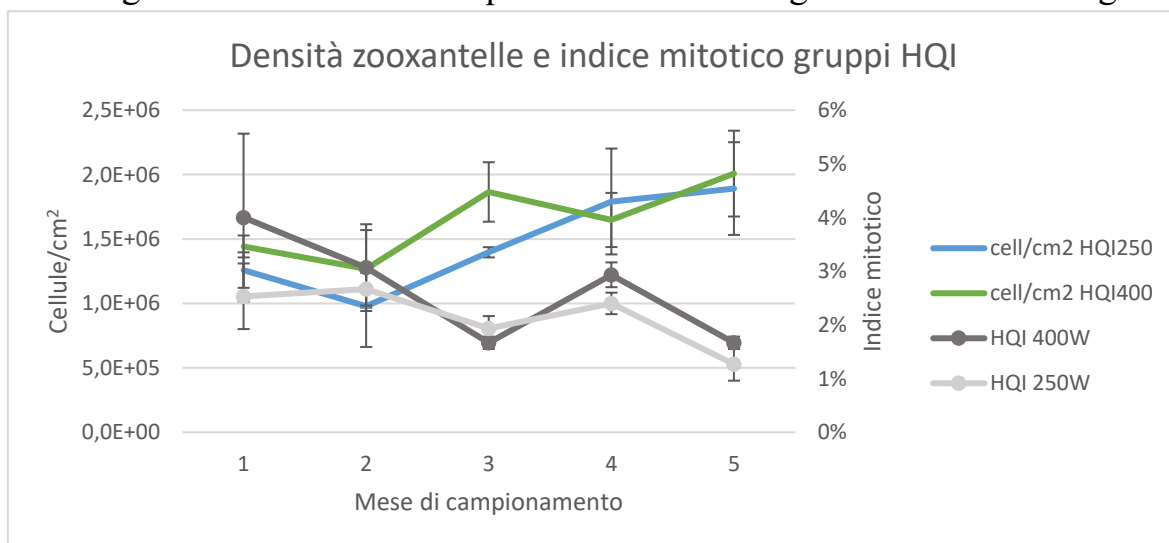


Figura 44: comparazione dell'andamento della densità delle zooxantelle e gli indici mitotici per i gruppi con lampade HQI.

tossico. Jones (1997) ha osservato che nei polipi con una maggiore densità di zooxantelle, l'indice mitotico risultava basso, e viceversa. Tale relazione si basa sul fatto che la popolazione simbiotica all'interno del corallo viene regolata costantemente dall'ospite. Se all'aumento della popolazione microalgale non corrisponde una diminuzione del tasso di divisione, l'equilibrio tra espulsione delle zooxantelle e divisione cellulare andrebbe a sbilanciarsi a favore del secondo fattore, comportando un incremento eccessivo della densità delle zooxantelle. È stato infatti osservato, negli studi precedentemente citati, che i valori di divisione mitotica più elevati siano stati rinvenuti nelle zone del corallo colpite da uno stress (Cervino et al., 2003) oppure nelle parti di corallo in crescita (Jones et al., 1997), caratterizzate da una densità simbiotica minore.

Per quanto riguarda i gruppi di talee cresciuti sotto lampade LED (Figura 45), si nota un andamento crescente, con le microalghe che raddoppiano la popolazione rinvenuta a Settembre in entrambi i casi. Gli indici mitotici rimangono pressoché costanti (differenze non significative).

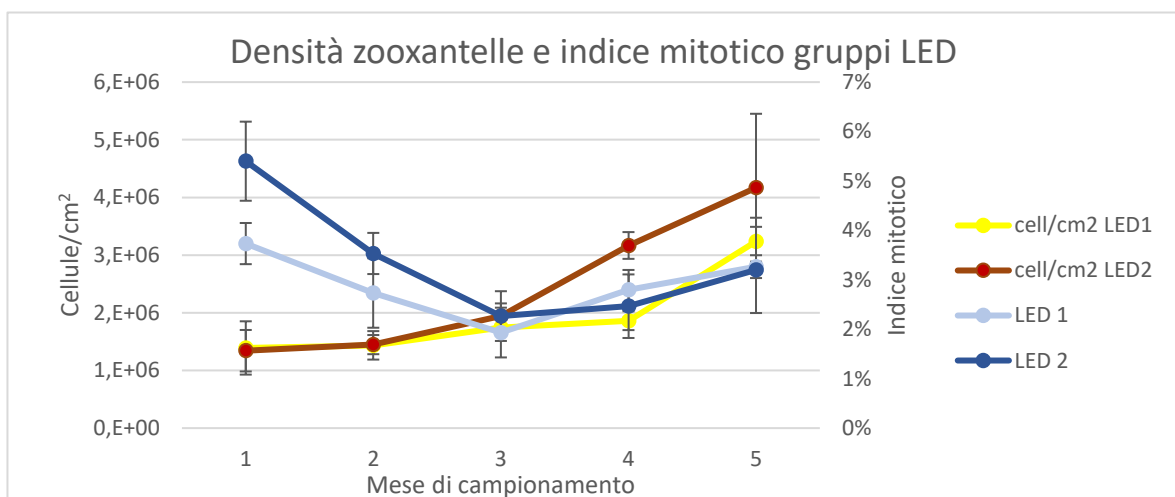


Figura 45: comparazione delle densità delle zooxantelle e gli indici mitotici per i gruppi con lampade LED.

Anche in questo caso potrebbero essere presenti gli estremi per accomunare gli andamenti rinvenuti per i gruppi LED con quelli citati precedentemente: in

questo caso non si assiste ad una relazione negativa, considerato che i valori degli indici mitotici non variano significativamente né in positivo né in negativo, ma il continuo aumento della densità zooxantellare potrebbe indicare uno stadio primitivo di quella situazione che poi si trasformerà in una relazione negativa, come quella riscontrata da Jones e Cervino (Jones et al., 1999; Cervino et al. 2003).

Ponendo particolare attenzione ai valori ricavati nel mese di Gennaio, periodo in cui è stato registrato l'abbassamento di temperatura, si nota una riduzione degli indici mitotici nelle talee sotto lampade HQI, mentre nella controparte LED il calo non è pervenuto. Questo evento potrebbe suggerire un impatto maggiore sulle cellule algali nei gruppi HQI da parte dell'abbassamento delle temperature, che si riflette in una riduzione metabolica che potrebbe causare la diminuzione della frequenza di divisione. Il fatto che le talee sotto lampade LED non sembrano affette dal calo della temperatura, né dal punto di vista fisiologico, né da quello visivo (non mostrano sintomi diffusi di malessere) sembra indicare una migliore condizione fisiologica, che consente una maggiore resistenza allo stress.

Quello che questo studio ha messo in evidenza è che le lampade LED garantiscono una migliore crescita, sia in tasso mensile che in accrescimento totale; dal punto di vista fisiologico, le talee dei gruppi LED mostrano valori di densità microalgale maggiori rispetto alla controparte HQI, così come mostrano valori di indice mitotico almeno uguali. Tutte queste osservazioni portano alla conclusione che le lampade LED fornite hanno un effetto positivo sulla crescita del corallo *P. damicornis*, rispetto alle lampade HQI BLV che rimangono, in ogni caso, delle ottime soluzioni per l'illuminazione di acquari tropicali. La motivazione della maggiore efficacia delle lampade LED nell'accrescimento

dei coralli potrebbe risiedere nella differenza tra gli spettri di emissione delle lampade prese in considerazione in questo studio: entrambe le lampade HQI, che condividono lo spettro emesso, hanno un picco di emissione di 420 nm (Figura 46), leggermente minore rispetto all'optimum di assorbimento di *Symbiodinium*, sia in simbiosi che in coltura, che si attesta a circa 445 nm. Di contro, i sistemi di illuminazione LED utilizzati in questo lavoro mostrano un picco di emissione a 450 nm (Figura 47), più vicino al picco di assorbimento dei simbionti (Figura 48).

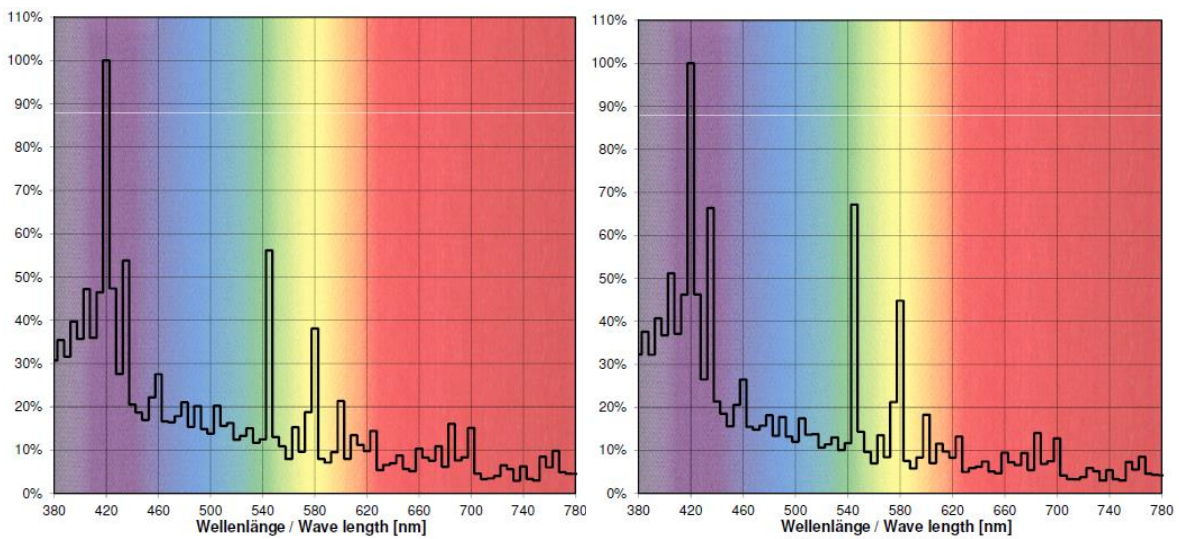


Figura 48: spettri di assorbimento delle lampade HQI BLW da 250W (sinistra) e 400W (destra).

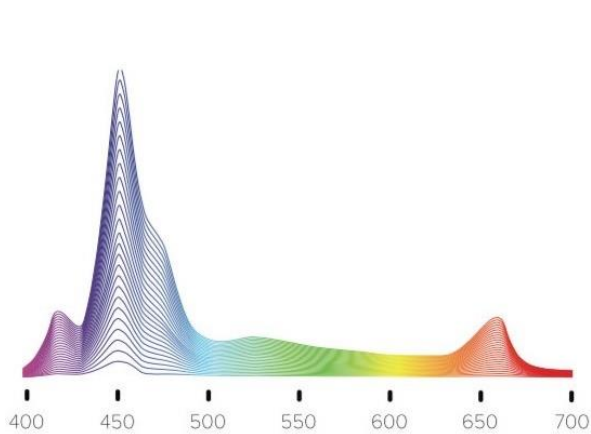


Figura 47: spettro di emissione delle lampade LED utilizzate nello studio.

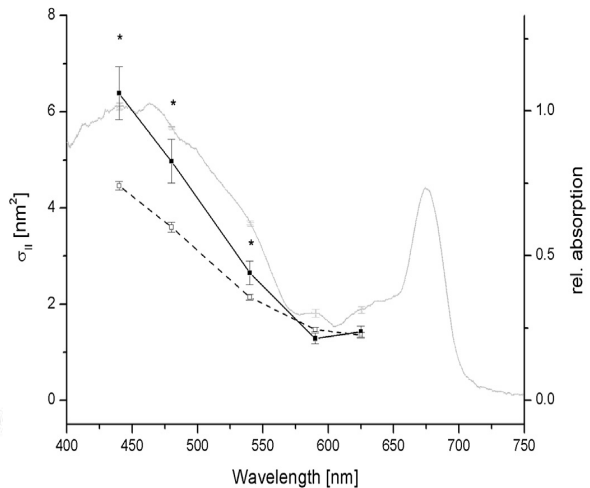


Figura 46: spettro di assorbimento del PSII di *Symbiodinium microadriaticum* (linea nera continua), *Pocillopora damicornis* (linea tratteggiata) e spettro di assorbimento relativo di *Symbiodinium microadriaticum* (linea grigia continua). (Szabó et al., 2014)

Un ulteriore punto a favore delle lampade LED utilizzate risiede nel fatto che, essendo degli assemblaggi di numerosi diodi luminosi, creano una luce molto diffusa; sono infatti di forma rettangolare, con i punti luminosi distribuiti uniformemente su tutta la superficie rivolta verso la superficie dell'acqua. Le lampade HQI, invece, generano riverberi dovuti alla concentrazione dell'emissione della luce in un solo punto, all'interno del bulbo della lampada. Per questo motivo le lampade LED potrebbero fornire un apporto di radiazione luminosa migliore sia dal punto di vista della lunghezza d'onda, sia per quanto riguarda la diffusione della luce all'interno della vasca.

5. CONCLUSIONI

Lo scopo di questo lavoro di tesi era quello di valutare, tramite l'uso della fotogrammetria e della ricostruzione di modelli tridimensionali, gli effetti sull'accrescimento di talee di *Pocillopora damicornis* dell'illuminazione LED, messa a confronto con lampade HQI specifiche per l'acquariologia.

I risultati ottenuti dalle ricostruzioni tridimensionali mostrano tassi di accrescimento significativamente maggiori nelle talee cresciute sotto lampade LED. Per quanto concerne le analisi riguardanti la densità delle zooxantelle e l'indice mitotico delle stesse, considerati per il loro valore come indicatori di stress, i dati ottenuti non mostrano effetti avversi delle lampade LED rispetto alla controparte HQI. Risultati a conferma degli effetti positivi dei LED, o quantomeno non avversi, sono stati evidenziati anche da altri autori: Mendes et al. (2017) hanno osservato, su coralli molli, tassi di crescita migliorati con l'utilizzo di LED monocromatici; nello stesso lavoro sono stati riportati anche effetti positivi riguardanti la sopravvivenza, il recupero e la densità zooxantellare. Wijgerde (2012), lavorando con coralli duri, ha acquisito dati di accrescimento paragonabili con quelli pubblicati in altri studi basati sull'utilizzo di sistemi di illuminazione tradizionali. Entrambi i lavori, in aggiunta ai risultati ottenuti in questo lavoro di tesi, confermano la validità delle lampade LED come tecnologie adatte per l'acquacoltura dei coralli. Tuttavia, non è chiaro se l'illuminazione LED abbia effetti fisiologici sulle zooxantelle o direttamente sul corallo, così come necessita approfondimenti l'ipotesi che i LED conferiscano maggiore resistenza allo stress alle talee.

Per tutti questi motivi, i sistemi di illuminazione LED possono essere presi in considerazione dagli organi di gestione dell'Acquario di Cattolica come valida

alternativa alle lampade HQI. Sempre dal punto di vista gestionale, la tecnologia LED offre, a parità di performance, un consumo energetico minore e un costo di manutenzione più basso rispetto alle lampade HQI che devono essere cambiate annualmente a causa del progressivo decremento nella qualità dello spettro emesso. Nonostante il costo iniziale maggiore, il passaggio ai sistemi LED potrebbe rappresentare un risparmio sia economico che di risorse energetiche sensibile, aspetto di sicuro rilievo per un complesso come quello dell'Acquario.

Osservando un quadro più ampio, il presente lavoro, insieme ad altri studi, potrebbe fornire informazioni supplementari a sostegno della diffusione dei sistemi LED nelle pratiche colturali marine. Nelle applicazioni terrestri, le lampade LED sono già largamente utilizzate, soprattutto nel campo dell'orticoltura, dove la continua ricerca ed innovazione permette un costante aumento della qualità e della crescita dei prodotti alimentari coltivati (Jones, 2018). Nell'ambito marino, questi sistemi di illuminazione potrebbero trovare applicazione in svariati campi; i tassi di crescita elevati riscontrati in questo ed altri lavori potrebbero, ad esempio, essere dati utili per il settore dell'allevamento dei coralli, ramo rilevante sia a fini commerciali, sia per propositi di tipo ecologico quali la conservazione ed il recupero. In particolare, la continua produzione di coralli potrebbe sostenere operazioni di reinserimento e ripristino delle barriere nelle zone colpite da *mass bleaching*. Anche nella sfera della ricerca medica, i coralli rappresentano un'importante risorsa: sono numerose, infatti, le specie utilizzate nel campo farmaceutico grazie alla loro capacità di sintetizzare composti biochimici a scopo difensivo, che trovano applicazione nella medicina come agenti anti-infiammatori, anti-cancerogeni e neuroprotettivi (Cooper, Hirabayashi, Strychar, & Sammarco, 2014).

Un'ulteriore osservazione riguardo a questo lavoro riguarda l'utilizzo della fotogrammetria come strumento di misura. Questa tecnica, ad ora, è relativamente poco diffusa come pratica volta allo studio sia di singole colonie di corallo, sia di intere porzioni di barriera o comunità bentoniche in generale. Per semplicità di utilizzo e rapidità di esecuzione, nonché per la mancanza di strumenti o requisiti particolarmente complessi, i metodi più utilizzati per l'analisi della crescita sono tutti basati su misure bidimensionali (tassi di estensione lineare, crescita delle colonie in diametro). Tali tecniche non consentono una valutazione adeguata ed accurata della complessità strutturale sia del singolo corallo che dell'intera comunità. L'approccio tridimensionale, grazie alla stima di superfici e volumi, riesce invece a catturare e riportare queste caratteristiche di fondamentale importanza anche per lo studio dell'ecosistema bentonico. Le informazioni ricavate tramite i modelli possono inoltre fornire la base per l'estrazione di altri dati: dai valori di volume del corallo, conoscendo la densità scheletrica, possono essere ricavati i tassi di calcificazione mettendo così a disposizione importanti informazioni riguardo i flussi di carbonio che coinvolgono sia il singolo corallo che l'intera comunità di barriera. Un altro aspetto a favore delle tecniche fotogrammetriche è la non invasività: tramite queste pratiche è possibile effettuare misure precise e ripetibili senza dover prelevare e/o maneggiare gli individui osservati. La fotogrammetria, inoltre, permette lo studio sia di entità singole (ad esempio le talee utilizzate in questo studio), sia di intere porzioni di fondale (Burns et al., 2015), con la possibilità di ampliare le conoscenze delle comunità profonde (Kwasnitschka et al., 2013; Price et al., 2019).

Negli ultimi anni, il continuo progresso nel campo informatico ed in quello fotografico, sta fornendo strumenti, come software intuitivi e macchine fotografiche più performanti, sempre più accessibili ed economici. Questi

requisiti possono facilitare la diffusione delle tecniche fotogrammetriche e consentire il passaggio, da parte della comunità scientifica, dalle misure bidimensionali tradizionali a quelle tridimensionali, aumentando il numero e la significatività delle informazioni ricavate.

6. BIBLIOGRAFIA

- Allemand, D., & Furla, P. (2018). How does an animal behave like a plant? Physiological and molecular adaptations of zooxanthellae and their hosts to symbiosis. *Comptes Rendus - Biologies*, 341(5), 276–280. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2018.03.007>
- Allemand, D., Furla, P., & Bénazet-Tambutté, S. (1998). Mechanisms of carbon acquisition for endosymbiont photosynthesis in Anthozoa. *Canadian Journal of Botany*, 76(6), 925–941. <https://doi.org/10.1139/b98-086>
- Allemand, D., & Osborn, D. (2019). Ocean acidification impacts on coral reefs: From sciences to solutions. *Regional Studies in Marine Science*, 28, 100558. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100558>
- Allsopp, M., Page, R., Johnston, P., & Santillo, D. (2009). State of the world's oceans. In M. Allsopp, R. Page, P. Johnston, & D. Santillo (Eds.), *State of the World's Oceans*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9116-2>
- Anderson, K. D., Cantin, N. E., Heron, S. F., Pisapia, C., & Pratchett, M. S. (2017). Variation in growth rates of branching corals along Australia's Great Barrier Reef. *Scientific Reports*, 7(1), 2920. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03085-1>
- Anderson, K., Pratchett, M., & Baird, A. (2012). Summer growth rates of corals at Lord Howe Island, Australia. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*, (July), 9–13. Retrieved from <http://eprints.jcu.edu.au/22380/>
- Anthony, K. R. N., Kline, D. I., Diaz-Pulido, G., Dove, S., & Hoegh-Guldberg,

- O. (2008). Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(45), 17442–17446. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804478105>
- Armon, R. H., & Hänninen, O. (2015). Environmental indicators. *Environmental Indicators*, 1–1068. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9499-2>
- Atkinson, K. B. (1994). Close Range Techniques and Machine Vision. *The Photogrammetric Record*, *14*(84), 1001–1003. <https://doi.org/10.1111/j.1477-9730.1994.tb00300.x>
- Banaszak, A. T., & Lesser, M. P. (2009a). Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. *Photochemical and Photobiological Sciences*, *8*(9), 1276–1294. <https://doi.org/10.1039/b902763g>
- Banaszak, A. T., & Lesser, M. P. (2009b). Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. *Photochemical and Photobiological Sciences*, *8*(9), 1276–1294. <https://doi.org/10.1039/b902763g>
- Banin, F., Ben-Haim, Y., Israely, T., Loya, Y., & Rosenberg, E. (2000). Effect of the environment on the bacterial bleaching of corals. In *Water, Air, and Soil Pollution* (Vol. 123, pp. 337–352). https://doi.org/10.1007/978-94-011-4369-1_27
- Bhamla, M. S., Benson, B., Chai, C., Katsikis, G., Johri, A., & Prakash, M. (2017). Hand-powered ultralow-cost paper centrifuge. *Nature Biomedical Engineering*, *1*(1), 0009. <https://doi.org/10.1038/s41551-016-0009>
- Brusca, R., & Brusca, G. (2003). *Invertebrates* (2nd ed.).

- Buglass, S., Donner, S. D., & Alemu I, J. B. (2016). A study on the recovery of Tobago's coral reefs following the 2010 mass bleaching event. *Marine Pollution Bulletin*, 104(1–2), 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.038>
- Burns, J. H. R., Delparte, D., Gates, R. D., & Takabayashi, M. (2015). Utilizing underwater three-dimensional modeling to enhance ecological and biological studies of coral reefs. *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences - ISPRS Archives*, 40(5W5), 61–66. <https://doi.org/10.5194/isprsarchives-XL-5-W5-61-2015>
- Castro, & Huber. (1949). Marine biology. In *Nature* (Vol. 164). <https://doi.org/10.1038/164914a0>
- Cervino, J. M., Hayes, R. L., Honovich, M., Goreau, T. J., Jones, S., & Rubec, P. J. (2003). Changes in zooxanthellae density, morphology, and mitotic index in hermatypic corals and anemones exposed to cyanide. *Marine Pollution Bulletin*, 46(5), 573–586. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00071-7](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00071-7)
- Cohen, I., Dubinsky, Z., & Erez, J. (2016). Light enhanced calcification in hermatypic corals: New insights from light spectral responses. *Frontiers in Marine Science*, 2(JAN), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00122>
- Colin, P. L., & Arneson, C. (1995). *Tropical Pacific Invertebrates: A Field Guide to the Marine Invertebrates*. Coral Reef Press.
- Connell, J. H., Hughes, T. P., & Wallace, C. C. (1997). A 30-Year Study of Coral Abundance, Recruitment, and Disturbance at Several Scales in Space and Time. *Ecological Monographs*, 67(4), 461.

<https://doi.org/10.2307/2963466>

- Cooper, E. L., Hirabayashi, K., Strychar, K. B., & Sammarco, P. W. (2014). Corals and their potential applications to integrative medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014(Figure 1), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/184959>
- Cuif, J. P., Dauphin, Y., & Gautret, P. (1999). Compositional diversity of soluble mineralizing matrices in some recent coral skeletons compared to fine-scale growth structures of fibres: Discussion of consequences for biomineralization and diagenesis. *International Journal of Earth Sciences*, 88(3), 582–592. <https://doi.org/10.1007/s005310050286>
- D’Croz, L., & Maté, J. L. (2000). The role of water temperature and UV radiation in the recovery of the experimentally bleached coral *Pocillopora damicornis* from the eastern Pacific Ocean (Panama). *Proceedings of the Ninth International Coral Reef Symposium, Bali, Indonesia 23-27 October 2000*, 2(October), 1111–1116.
- Danovaro, R. (2018). *Biologia Marina*. Città Studi Edizioni.
- Ditlev, H. (2015). *Indo-Pacific Corals by*. National Science Museum Ministry of Science and Technology, Thailand.
- Drap, P., Merad, D., Seinturier, J., Peloso, D., Boï, J., & Chemisky, B. (2013). Underwater photogrammetry for archaeology and marine biology. *2013 Digital Heritage International Congress*, 1, 97–104.
- Dunn, S. R., Thomason, J. C., Le Tissier, M. D. A., & Bythell, J. C. (2004). Heat stress induces different forms of cell death in sea anemones and their endosymbiotic algae depending on temperature and duration. *Cell Death and Differentiation*, 11(11), 1213–1222.

<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401484>

- Dykens, J., Shick, J. M., Benoit, C., Buettner, G. R., & Winston, G. W. (1992). Oxygen Radical Production in the Sea Anemone *Anthopleura Elegantissima* and its Endosymbiotic Algae. *Journal of Experimental Biology*, *168*(1), 219–241.
- Ferrari, R., Figueira, W. F., Pratchett, M. S., Boube, T., Adam, A., Kobelkowsky-Vidrio, T., ... Byrne, M. (2017). 3D photogrammetry quantifies growth and external erosion of individual coral colonies and skeletons. *Scientific Reports*, *7*(1), 16737. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16408-z>
- Fitt, W. K., McFarland, F. K., Warner, M. E., & Chilcoat, G. C. (2000). Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology and Oceanography*, *45*(3), 677–685. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.3.0677>
- Fonstad, M. A., Dietrich, J. T., Courville, B. C., Jensen, J. L., & Carbonneau, P. E. (2013). Topographic structure from motion: A new development in photogrammetric measurement. *Earth Surface Processes and Landforms*, *38*(4), 421–430. <https://doi.org/10.1002/esp.3366>
- Franklin, D. J., Hoegh-Guldberg, O., Jones, R. J., & Berges, J. A. (2004). Cell death and degeneration in the symbiotic dinoflagellates of the coral *Stylophora pistillata* during bleaching. *Marine Ecology Progress Series*, *272*, 117–130. <https://doi.org/10.3354/meps272117>
- Fridovich, I. (1998). Oxygen toxicity: A radical explanation. *Journal of Experimental Biology*, *201*(8), 1203–1209.

- Gates, R. D., Baghdasarian, G., & Muscatine, L. (1992). Temperature stress causes host cell detachment in symbiotic cnidarians: implications for coral bleaching. *Biological Bulletin*, 182(3), 324–332. <https://doi.org/10.2307/1542252>
- Gattuso, J. P., Reynaud-Vaganay, S., Furla, P., Romaine-Lioud, S., Jaubert, J., Bourge, I., & Frankignoulle, M. (2000). Calcification does not stimulate photosynthesis in the zooxanthellate scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography*, 45(1), 246–250. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.1.0246>
- Gilmour, J. P., Smith, L. D., Heyward, A. J., Baird, A. H., & Pratchett, M. S. (2013). Recovery of an isolated coral reef system following severe disturbance. *Science*, 340(6128), 69–71. <https://doi.org/10.1126/science.1232310>
- Goreau, T. J. (1959). The Physiology of Skeleton Formation in Corals. A Method for Measuring the Rate of Calcium Deposition By Corals Under Different Conditions. *The Biological Bulletin*, 116(1), 59–75. <https://doi.org/10.2307/1539156>
- Graham, N. A. J., & Nash, K. L. (2013). The importance of structural complexity in coral reef ecosystems. *Coral Reefs*, 32(2), 315–326. <https://doi.org/10.1007/s00338-012-0984-y>
- Guo, T., Capra, A., Troyer, M., Gruen, A., Brooks, A. J., Hensch, J. L., ... Dubbini, M. (2016). Accuracy assessment of underwater photogrammetric three dimensional modelling for coral reefs. *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences - ISPRS Archives*, 41(July), 821–828. <https://doi.org/10.5194/isprsarchives->

XLI-B5-821-2016

- Guzman, H. M., & Cortes, J. (1989). Growth rates of eight species of scleractinian corals in the eastern Pacific (Costa Rica). *Bulletin of Marine Science*, 44(3), 1186–1194.
- Harriott, V. J. (1999). Coral growth in subtropical eastern Australia. *Coral Reefs*, 18(3), 281–291. <https://doi.org/10.1007/s003380050195>
- Hellman, T., & Lahiti, M. (2018). *Photogrammetric 3D Modeling for Virtual Reality*. (August), 160–175.
- Helman, Y., Natale, F., Sherrell, R. M., LaVigne, M., Starovoytov, V., Gorbunov, M. Y., & Falkowski, P. G. (2008). Extracellular matrix production and calcium carbonate precipitation by coral cells in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(1), 54–58. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710604105>
- Hoegh-Guldberg, O. (1999). Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and Freshwater Research*, 50(8), 839–866. <https://doi.org/10.1071/MF99078>
- Hoegh-Guldberg, O., & Smith, G. J. (1989). The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 129(3), 279–303. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(89\)90109-3](https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90109-3)
- Hueerkamp, C., Glynn, P. W., D'Croze, L., Maté, J. L., & Colley, S. B. (2001). Bleaching and recovery of five eastern Pacific corals in an El Niño-related temperature experiment. *Bulletin of Marine Science*, 69(1), 215–236.

- Hughes, T. P., Kerry, J. T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J. G., Anderson, K. D., Baird, A. H., ... Wilson, S. K. (2017). Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*, *543*(7645), 373–377. <https://doi.org/10.1038/nature21707>
- Jiménez, C., & Cortés, J. (2003). Growth of seven species of scleractinian corals in an upwelling environment of the eastern Pacific (Golfo de Papagayo, Costa Rica). *Bulletin of Marine Science*, *72*(1), 187–198.
- Jones, M. A. (2018). Using light to improve commercial value. *Horticulture Research*, *5*(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0049-7>
- Jones, R. J. (1997). Zooxanthellae loss as a bioassay for assessing stress in corals. *Marine Ecology Progress Series*, *149*(1–3), 163–171. <https://doi.org/10.3354/meps149163>
- Jones, R. J., & Hoegh-Guldberg, O. (1999). Effects of cyanide on coral photosynthesis: Implications for identifying the cause of coral bleaching and for assessing the environmental effects of cyanide fishing. *Marine Ecology Progress Series*, *177*, 83–91. <https://doi.org/10.3354/meps177083>
- Jones, R. J., & Yellowlees, D. (1997). Regulation and control of intracellular algae (= zooxanthellae) in hard corals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *352*(1352), 457–468. <https://doi.org/10.1098/rstb.1997.0033>
- Kerswell, A. P., & Jones, R. J. (2003). Effects of hypo-osmosis on the coral *Stylophora pistillata*: Nature and cause of “low-salinity bleaching.” *Marine Ecology Progress Series*, *253*, 145–154. <https://doi.org/10.3354/meps253145>
- Kobluk, D. R., & Lysenko, M. A. (1994). “Ring” bleaching in southern

Caribbean *Agaricia agaricites* during rapid water cooling. *Bulletin of Marine Science*, 54(1), 142–150.

Kotb, M. (2001). Growth Rates of Three Reef-Building Coral Species in the Northern Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 5(4), 165–185. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2001.1715>

Kwasnitschka, T., Hansteen, T. H., Devey, C. W., & Kutterolf, S. (2013). Doing fieldwork on the seafloor: Photogrammetric techniques to yield 3D visual models from ROV video. *Computers and Geosciences*, 52, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.cageo.2012.10.008>

Ladriere, O., Compere, P., Decloux, N., Vandewalle, P., & Poulicek, M. (2008). Morphological alterations of zooxanthellae in bleached cnidarian hosts. *Cahiers de Biologie Marine*, 49(3), 215–227.

LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic Revision of Symbiodiniaceae Highlights the Antiquity and Diversity of Coral Endosymbionts. *Current Biology*, 28(16), 2570-2580.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.008>

Lee, R. E. (2008). *Phycology* (Fourth). <https://doi.org/10.1017/CBO9780511812897>

Lilley, R. M., Ralph, P. J., & Larkum, A. W. D. (2010). The determination of activity of the enzyme Rubisco in cell extracts of the dinoflagellate alga *Symbiodinium* sp. by manganese chemiluminescence and its response to short-term thermal stress of the alga. *Plant, Cell and Environment*, 33(6), 995–1004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02121.x>

Lizcano-Sandoval, L. D., Londoño-Cruz, E., & Zapata, F. A. (2018). Growth

and survival of *Pocillopora damicornis* (Scleractinia: Pocilloporidae) coral fragments and their potential for coral reef restoration in the Tropical Eastern Pacific. *Marine Biology Research*, 14(8), 887–897. <https://doi.org/10.1080/17451000.2018.1528011>

Marshall, P. A. (2006). *A Reef Manager's Guide to Coral Bleaching*. Great Barrier Reef Marine Park Authority.

Mate, J. L., Lessios, H. A., & Macintyre, I. G. (1997). Experimental responses of Panamanian reef corals to high temperature and nutrients. *Proceedings of the Eighth International Coral Reef Symposium, Panama, June 24-29, 1996.*, 515–520.

McNaught, A. D., & Wilkinson, A. (2009). IUPAC Compendium of Chemical Terminology. In *IUPAC Compendium of Chemical Terminology* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1351/goldbook>

Mendes, C., Fernandes, C., Moreira, A., Chambel, J., Maranhao, P., & Leandro, S. (2017). Effect of LEDs Light Spectrum on Success of Fragmentation and Growth of Leather Coral *Sarcophyton* spp. *International Journal of Aquaculture*, 7(8), 57–63. <https://doi.org/10.5376/ija.2017.07.0008>

Moberg, F., & Folke, C. (1999). Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecological Economics*, 29(2), 215–233. [https://doi.org/10.1016/S0921-8009\(99\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0921-8009(99)00009-9)

Muller-Parker, G., & Davy, S. K. (2001). Temperate and tropical algal-sea anemone symbioses. *Invertebrate Biology*, 120(2), 104–123. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2001.tb00115.x>

Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y., & Allakhverdiev, S. I. (2007). Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica*

et Biophysica Acta - Bioenergetics, 1767(6), 414–421.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2006.11.019>

Muscatine, L. (1990). The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in coral reefs. *Ecosystems of the World*, 25, 75–87.

Pechenik, J. A. (2014). *Biology of the Invertebrates*. McGraw - Hill.

Perry, C. T., & Morgan, K. M. (2017). Post-bleaching coral community change on southern Maldivian reefs: is there potential for rapid recovery? *Coral Reefs*, 36(4), 1189–1194. <https://doi.org/10.1007/s00338-017-1610-9>

Pochon, X., & Gates, R. D. (2010). A new Symbiodinium clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 492–497. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.040>

Powles, S. B. (1984). Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 15–44. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.000311>

Price, D. M., Robert, K., Callaway, A., Lo lacono, C., Hall, R. A., & Huvenne, V. A. I. (2019). Using 3D photogrammetry from ROV video to quantify cold-water coral reef structural complexity and investigate its influence on biodiversity and community assemblage. *Coral Reefs*, 38(5), 1007–1021. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01827-3>

Rowan, R. (1998). Diversity and ecology of zooxanthellae on coral reefs. *Journal of Phycology*, 34(3), 407–417. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1998.340407.x>

Saxby, T., Dennison, W. C., & Hoegh-Guldberg, O. (2003). Photosynthetic responses of the coral *Montipora digitata* to cold temperature stress.

Marine Ecology Progress Series, 248, 85–97.
<https://doi.org/10.3354/meps248085>

- Schuttenberg, H. (2001). Coral Bleaching: Causes, Consequences and Response. *9th International Coral Reef Symposium*, 231(October), 107.
- Sicuranza, F. (2013). *Sperimentazione di sistemi di structure from motion per la restituzione di apparati decorativi*.
- Smith, E. G., Ketchum, R. N., & Burt, J. A. (2017). Host specificity of Symbiodinium variants revealed by an ITS2 metahaplotype approach. *ISME Journal*, 11(6), 1500–1503. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.206>
- Stimson, J. (1997). The annual cycle of density of zooxanthellae in the tissues of field and laboratory-held *Pocillopora damicornis* (Linnaeus). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 214(1–2), 35–48. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02753-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02753-0)
- Suggett, D. J., Warner, M. E., Smith, D. J., Davey, P., Hennige, S., & Baker, N. R. (2008). Photosynthesis and production of hydrogen peroxide by Symbiodinium (Pyrrhophyta) phylotypes with different thermal tolerances. *Journal of Phycology*, 44(4), 948–956. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00537.x>
- Suharsono, & Brown, B. E. (1992). Comparative measurements of mitotic index in zooxanthellae from a symbiotic cnidarian subject to temperature increase. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 158(2), 179–188. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(92\)90225-Y](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90225-Y)
- Szabó, M., Wangpraseurt, D., Tamburic, B., Larkum, A. W. D., Schreiber, U., Suggett, D. J., ... Ralph, P. J. (2014). Effective light absorption and absolute electron transport rates in the coral *Pocillopora damicornis*. *Plant*

Physiology and Biochemistry, 83, 159–167.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.07.015>

Trench, R. K. (1993). Microalgal–invertebrate symbioses: a review. *Endocytobiosis and Cellular Research*, 9, 135–175.

Ulstrup, K. E., Berkelmans, R., Ralph, P. J., & Van Oppen, M. J. H. (2006). Variation in bleaching sensitivity of two coral species across a latitudinal gradient on the Great Barrier Reef: The role of zooxanthellae. *Marine Ecology Progress Series*, 314, 135–148.
<https://doi.org/10.3354/meps314135>

Veron, J. E. N. (1976). *Scleractina of western Australia* (Vol. 1). Australian Institute of Marine Science Monograph Series.

Wang, J.-T., & Douglas, A. E. (1997). Nutrients, Signals, and Photosynthate Release by Symbiotic Algae. *Plant Physiology*, 114(2), 631–636.

Weis, V. M. (2008). Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: Stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211(19), 3059–3066. <https://doi.org/10.1242/jeb.009597>

West, J. M., & Salm, R. V. (2003). Resistance and Resilience to Coral Bleaching: Implications for Coral Reef Conservation and Management. *Conservation Biology*, 17(4), 956–967. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.02055.x>

Wiedenmann, J., D'Angelo, C., Smith, E. G., Hunt, A. N., Legiret, F. E., Postle, A. D., & Achterberg, E. P. (2013). Nutrient enrichment can increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change*, 3(2), 160–164. <https://doi.org/10.1038/nclimate1661>

- Wijgerde, T., Henkemans, P., & Osinga, R. (2012). Effects of irradiance and light spectrum on growth of the scleractinian coral *Galaxea fascicularis* - Applicability of LEP and LED lighting to coral aquaculture. *Aquaculture*, 344–349, 188–193. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.025>
- Wilkerson, F. P., Kobayashi, D., & Muscatine, L. (1988). Mitotic index and size of symbiotic algae in Caribbean Reef corals. *Coral Reefs*, 7(1), 29–36. <https://doi.org/10.1007/BF00301979>
- Yamashita, H., Suzuki, G., Kai, S., Hayashibara, T., & Koike, K. (2014). Establishment of Coral–Algal Symbiosis Requires Attraction and Selection. *PLoS ONE*, 9(5), e97003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097003>

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare in primo luogo il professore Carlo Cerrano per la sua disponibilità, i suggerimenti, i consigli e gli insegnamenti che mi ha dato nello svolgimento della presente tesi, utili sia al fine del lavoro che nella mia crescita accademica.

Ringrazio Ubaldo Pantaleo per tutto l'impegno, la disponibilità e la vicinanza, nonostante i chilometri, dimostrati. Spero, in futuro, di lavorare spesso con persone come lui.

Ringrazio Stefano Gridelli e Simone Canini per il sostegno, la continua disponibilità e l'esperienza messa a disposizione per la buona riuscita di questo lavoro. Ringrazio inoltre tutto lo staff dell'Acquario di Cattolica, una grande famiglia che mi ha fatto sentire a mio agio fin dai primi giorni.