

**SOCIETÀ BOTANICA ITALIANA**  
**GRUPPO DI ALGOLOGIA**  
***RIUNIONE SCIENTIFICA ANNUALE***



**Ancona, 4-5 novembre 2011**

***Aula del Mare, Molo Santa Maria***

**Società Botanica Italiana**  
**Gruppo di Algologia**  
**Riunione Scientifica Annuale**

Ancona, 4-5 novembre 2011

Aula del Mare, Molo Santa Maria

**Comitato organizzatore:**

Stefano Accoroni, Giacomo Ciampi, Mario Giordano, Serena Palma, Chiara Pennesi, Fabio Rindi, Tiziana Romagnoli, Cecilia Totti

2011

Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente

Università Politecnica delle Marche

Via Brezze Bianche

60131 Ancona

## **Freshwater red algae: Historical perspective and European contributions**

**Morgan L. Vis**

*Department of Environmental and Plant Biology, Ohio University, Athens, OH 45701, USA*  
vis-chia@ohio.edu

Freshwater red algae comprise approximately 5% of the Rhodophyta. These algae are important contributors to stream and wetland ecosystems providing food and shelter for macroinvertebrates and fish. Many freshwater rhodophytes are closely related to marine taxa and have secondarily invaded freshwaters. There are only a few orders, which are exclusively freshwater. Among them, the Batrachospermales is the most species rich and best known. Research in the past 12 years has shown that the traditional taxonomy within the order was artificial and not based on evolutionary relationships. In particular the '*Batrachospermum*' morphology is common and does not necessarily unite species of that genus. In addition, the '*Lemanea*' morphology has also arisen at least three times independently. Molecular systematics studies underway are providing a more natural classification based on phylogenetic relationships. However, this new taxonomy requires numerous nomenclatural changes. Current research is focused on Europe because there is a rich history of freshwater red algal taxonomic study. Researchers in the 1800s and early 1900s described numerous taxa, many of which are still recognized today. Since those initial studies, there has been much research on the taxonomy, ecology and physiology of these organisms. However, Europe has been woefully under sampled for modern molecular phylogenetic studies hindering systematic and biogeographic assessments and collaborations have been initiated to rectify this situation. The addition of specimens from Europe to the larger dataset on North America, South America, Australasia and Africa has been quite fruitful and will be discussed.

## The marine diatom *Pseudo-nitzschia multistriata*: insights and perspectives

**Marina Montresor, Maria Immacolata Ferrante, Wiebe H.C.F. Kooistra, Gabriele Procaccini, Eleonora Scalco, Sylvie Tesson**

*Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Napoli, Italy*  
marina.montresor@szn.it

The pennate diatom *Pseudo-nitzschia multistriata* occurs in the Gulf of Naples (GoN) in summer and in autumn. Although the species is a minor bloom former, it is economically and environmentally relevant because it produces domoic acid, the agent causing Amnesic Shellfish Poisoning.

*Pseudo-nitzschia multistriata* life cycle consists of a prolonged period of mitotic divisions, during which progressive reduction of the average cell size occurs, followed by a short but obligate period of sexual reproduction within which the maximum cell size is restored. We have investigated the life cycle progression – by estimating cell size patterns – in the natural environment, providing evidence that sexual reproduction occurs on a regular basis. Laboratory experiments provide evidence for the requirement of a threshold cell concentration for the onset of sex and suggest that the sexual phase is mediated by a chemical signal.

We assessed the population genetic structure in *P. multistriata* in the GoN using seven polymorphic microsatellite markers over three consecutive years. Results revealed high levels of genetic diversity and the occurrence of two genetically distinct populations. Mating experiments between compatible strains were successful irrespective of their population assignment. These results suggest that widely distributed coastal phytoplankton species such as *P. multistriata* form meta-populations composed of genetically distinct sub-populations that even occur in sympatry.

*Pseudo-nitzschia multistriata* has a heterothallic life cycle – i.e. sex is induced only when mixing strains of compatible mating type – that can be controlled in laboratory conditions. This renders this species an ideal model for forward genetic approaches. Within the EC project Gypsy, we will attempt to establish *P. multistriata* as a model genetic organism, generating loss of function mutants and creating functional genomics resources to expand our knowledge of gene function in diatoms. This, together with the availability of the genome sequence, will provide experimental tools to address a broad set of questions on the mechanisms that regulate the life cycle, physiology and speciation in marine diatoms.

## **Caratterizzazione della comunità fitoplanctonica in settori ad elevato impatto antropico della laguna di Grado e Marano (Friuli Venezia Giulia)**

**Ilaria De Rosa<sup>1</sup>, Antonella Zanello<sup>2</sup>, Massimo Celio<sup>2</sup>, Alessandro Acquavita<sup>2</sup>, Livio Zanatta<sup>2</sup>,  
Alessandro D'Aietti<sup>2</sup>, Giorgio Honsell<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali Università degli Studi di Udine,  
via delle Scienze, 91-93 33100 Udine, Italy*

<sup>2</sup> *ARPA Friuli Venezia Giulia, via Cairoli 14, 33057 Palmanova (UD), Italy  
ilaria.derosa@uniud.it*

Una ricerca effettuata sul fitoplancton della laguna di Grado e Marano dal 2008 al 2010 aveva evidenziato la presenza di situazioni critiche in prossimità dei principali sbocchi fluviali (fiumi Cormor, Stella, Zellina e Natissa) e in corrispondenza della ex valle da pesca Valle Cavanata, dove si erano verificate proliferazioni algali.

Tali risultati hanno indotto ad operare un controllo più approfondito in questi settori della laguna particolarmente influenzati dall'attività antropica. Sono state condotte dieci campagne mensili (da maggio 2010 a maggio 2011) per l'analisi qualitativa e quantitativa del fitoplancton. Contestualmente al campionamento sono state misurate le principali variabili chimico fisiche della colonna d'acqua e sono stati analizzati i nutrienti.

Nelle campagne di campionamento mensili effettuate, la quantità di fitoplancton rilevata è risultata essere particolarmente elevata, soprattutto in corrispondenza dello sbocco fluviale del fiume Cormor e della stazione di Valle Cavanata.

In occasione delle proliferazioni algali la componente principale della comunità fitoplanctonica è rappresentata da alghe flagellate (criptofite ed euglenofite), che prediligono acque ricche di sostanza organica e nutrienti. Inoltre nella stazione di Valle Cavanata, in occasione del campionamento di agosto 2010 è stata rinvenuta la presenza di *Chattonella* sp., alga potenzialmente tossica con una concentrazione pari a  $3 \times 10^6$  cell./l. Nella medesima stazione, sia nella campagna di febbraio sia in quella di marzo 2011, si è osservata una quantità rilevante di cellule di *Prorocentrum minimum*, dinoflagellato potenzialmente tossico.

Questa ricerca mette in evidenza il persistere di situazioni critiche in prossimità dei principali sbocchi fluviali. Notevoli risultano le differenze qualitative e quantitative della comunità fitoplanctonica rispetto agli altri settori della laguna. La comunità sembra essere fortemente influenzata dall'immissione nella laguna di acque ricche di nutrienti derivanti principalmente dall'attività agricola e occasionalmente da fonti puntuali. Ulteriori studi atti a comprendere la dinamica del fitoplancton dovranno tener conto della circolazione delle masse d'acqua lagunari, che in sinergia con il carico trofico regola e controlla l'instaurarsi dei blooms algali.

## Struttura delle comunità fitoplanctoniche nel Parco Marino Riviera dei Cedri (Mar Tirreno-Calabria)

Daniele Cugliari<sup>1</sup>, Diana Sarno<sup>2</sup>, Davide Cozza<sup>1</sup>, Luisa Ruffolo<sup>1</sup>, Radiana Cozza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università della Calabria - Dipartimento di Ecologia, 87030 Arcavacata di Rende, Cosenza, Italy

<sup>2</sup> Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Napoli, Italy  
rad.cozza@unical.it

In questo lavoro si riportano i primi dati relativi alla struttura delle comunità fitoplanctoniche presenti in un tratto costiero dell'Alto Tirreno calabrese, monitorate a cadenza mensile, nell'arco di un anno. La zona studiata rientra nel Parco Regionale Riviera dei Cedri, dove sono stati considerati 12 punti stazione posizionati su tre transetti localizzati in corrispondenza rispettivamente delle isobate dei 10, 50 e 100 metri. Parallelamente sono stati rilevati i principali parametri chimico-fisici. I risultati ottenuti evidenziano come la concentrazione totale fitoplanctonica varia notevolmente nell'arco dell'anno con un minimo di densità totale di 223 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$  in dicembre ad un massimo di 895 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$  in settembre. Il gruppo più rappresentativo è quello dei flagellati autotrofi di taglia inferiore ai 10  $\mu\text{m}$  che presenta un intervallo di concentrazioni che varia da un minimo di 29 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$  nel mese di dicembre a un massimo di 434 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$  nel mese di agosto. Gli stessi flagellati costituiscono mediamente circa il 74 % del popolamento totale, a cui seguono le Dinofitee (16% del popolamento totale) e i Coccolitoforidi (6% del popolamento totale); il gruppo meno abbondante è rappresentato dalle Bacillariofitiee (circa il 4% del totale). Tra le Bacillariofitiee, le specie *Chaetoceros* spp. sono quelle maggiormente rappresentate, in tutte le stazioni di campionamento; in particolare, nel periodo maggio-giugno, esse raggiungono il 5% del totale delle Bacillariofitiee. Sempre nello stesso periodo, lungo l'isobata dei 10 metri, sono state rinvenute *Navicula* spp. e *Pseudo-nitzschia multistriata*. Quest'ultima specie risulta interessante non tanto per la sua abbondanza quanto per il fatto che si tratta della prima segnalazione di questa specie potenzialmente tossica lungo le coste della Calabria. La biomassa fitoplanctonica raggiunge il suo picco massimo nei mesi estivi (luglio-settembre) quando la componente dominante è costituita da diverse specie appartenenti ai flagellati autotrofi di taglia inferiore ai 10  $\mu\text{m}$  (70% del popolamento totale). Sempre per il periodo estivo, tra i flagellati con taglia superiore a 10  $\mu\text{m}$ , si segnalano le specie appartenenti alla classe delle Prasinofitee, *Pyramimonas* spp. con circa 865 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$  e *Tetraselmis* sp. con circa 763 cellule  $10^3 \text{ l}^{-1}$ . Tra le Bacillariofitiee si registrano specie appartenenti al genere *Pseudo-nitzschia*, in particolare *Pseudo-nitzschia delicatissima* e *P. pseudodelicatissima*, anche queste note come potenziali produttori di acido domoico. Tra le Dinofitee, si segnalano, sempre nel periodo estivo, oltre alle forme non tectate di taglia inferiore ai 15  $\mu\text{m}$ , alcune specie appartenenti al genere *Ceratium* e specie quali *Dinophysis caudata* e *D. tripos*, note per la produzione di acido okadaico. Nel periodo autunnale (ottobre-novembre) si registra una diminuzione dell'abbondanza di tutti i gruppi fitoplanctonici che raggiungono la minima concentrazioni nel periodo invernale, quando la comunità è fortemente dominata da piccoli flagellati. I dati ottenuti vengono discussi in relazione alle variabili ecologiche e con analisi statistiche applicate alle matrici fitoplanctoniche specie-campioni.

## Resting vs active stages in plankton dynamics

**Manuela Belmonte<sup>1</sup>, Genuario Belmonte<sup>2</sup>, Fernando Rubino<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *CNR Istituto per l'Ambiente Marino Costiero, UOS Talassografico "A. Cerruti",  
via Roma 3, 74123 Taranto, Italy*

<sup>2</sup> *Università del Salento, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, s.p.  
Monteroni, 73100 Lecce, Italy  
manuela.belmonte@iamc.cnr.it*

Marine coastal plankton undergoes seasonal fluctuations and interannual variations in its composition mainly justified with the alternation of active stages in the water column and resting stages (cysts) in the sediments. As a consequence, to fully understand the functioning of planktonic system in marine coastal areas we need to integrate information coming from pelagos and benthos into a *continuum* that could help us to quantify the transfer of biodiversity between these two domains. To achieve this goal we have set up at the confined coastal system of the Taranto Seas (southern Italy, Ionian Sea) an experimental design to gain information from the key elements in plankton dynamics.

We considered (in brackets the sampler used): active stages dynamics in the water column (Niskin bottles, plankton nets); cyst production (sediment traps); cyst accumulation (sediment cores); cyst germination (inverted traps, Niskin bottles very close to the sediment). The whole study was structured in two times, one in autumn mainly to observe the encystment dynamics, and one in the following spring, to observe the excystment and its consequence on the water column. Different species showed different behaviours so justifying the unpredictability of plankton dynamics in confined coastal areas.

## Proprietà ottiche delle diatomee: fotoluminescenza dei frustuli e studi *in vivo*

Alessandra Antonucci<sup>1,2</sup>, Mario De Stefano<sup>2</sup>, Roberta Congestri<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorio di Biologia delle Alghe, Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", via della Ricerca scientifica, 00133 Roma, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Ambientali, Seconda Università di Napoli, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, Italy  
alessandrantonucci84@libero.it*

Le peculiari interazioni con la luce da parte dei frustuli delle diatomee riscontrano attualmente un vivo interesse nella comunità scientifica, le proprietà fotoniche della silice amorfa *per se* e in associazione alla presenza di perforazioni complesse, regolari e ripetute nello spessore dei frustuli (areole) conferiscono a queste microalghe un promettente potenziale applicativo nel settore delle nanotecnologie (cristalli fotonici, biosensori, filtri molecolari).

Nell'ambito di un progetto nazionale triennale "Proprietà fotoniche e micromeccaniche delle diatomee" (FIRB 2008 - Programma "Futuro in Ricerca") è stato avviato lo studio dell'interazione di un numero selezionato di diatomee con radiazioni monocromatiche a diverse lunghezze d'onda al fine di esaminare sia le proprietà fotoniche associate alla parete silicea sia le risposte fotosintetiche delle cellule in coltura. I risultati contribuiranno a delineare, se esiste, un ruolo funzionale della morfologia generale del frustulo e dei differenti pattern di areole nell'attività fotosintetica delle diatomee. Forme e pattern areolari specifici sono più vantaggiosi di altri? Possono rispondere diversamente alla luce incidente e fornire protezione dalle radiazioni nocive o maggiore efficienza nell'utilizzo della PAR?

Verranno presentati i primi risultati dell'analisi comparata sulle differenti morfologie delle specie di diatomee ritenute "promettenti" in termini di proprietà fotoniche (tipo e morfometria della cella elementare, dimensioni e morfologia generale dei frustuli). Queste specie, acquisite nella fase iniziale del progetto da collezioni algali e da materiale isolato in laboratorio, vengono mantenute in coltura in condizioni standard e sottoposte a sperimentazione in camere spettrali per valutarne le risposte di crescita a diverse lunghezze d'onda (UV, blu, rosso e IR). L'analisi spettrale in microscopia confocale (CLSM-SA) *in vivo* consente un esame preliminare dell'interazione con la luce (fotoluminescenza) dei frustuli delle diatomee in coltura, evidenziando anche eventuali variazioni nel corredo pigmentario, nella morfologia e disposizione dei plastidi indotte dall'esposizione alle diverse luci testate.

## Updating of alien macrophytes in the Adriatic Sea and in the Venice Lagoon (2010)

Adriano Sfriso<sup>1</sup>, Ester Cecere<sup>2</sup>, Antonella Petrocelli<sup>2</sup>, Isabella Moro<sup>3</sup>, Marion Wolf<sup>3</sup>, Marc Verlaque<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Environmental Sciences, Informatics & Statistics, University of Venezia, Calle Larga, S. Marta 2137, 30123 Venice, Italy

<sup>2</sup> Institute for Marine Coastal Environment C.N.R., v. Roma 3, 74123 Taranto, Italy

<sup>3</sup> Department of Biology, University of Padova, v. U. Bassi 58b, 35131 Padova, Italy

<sup>4</sup> UMR 6540, CNRS, Aix-Marseille University, F13288 Marseille Cedex 9, France

sfrisoa@unive.it

An inventory of the macroalgal Non-Indigenous Species (NIS) that have been recorded in the Adriatic Sea and the Venice Lagoon is presented. Climatic changes, the increase of aquaculture and commercial ship traffic with extra-Mediterranean seas have strongly enhanced the introduction and spreading of alien taxa that sometimes become invasive changing the dominant flora of these regions.

On a total of 125 alien taxa recorded in the Mediterranean Sea by December 2010, 49 species (5 Chlorophyta, 11 Ochrophyta, 32 Rhodophyta, 1 Magnoliophyta), i.e. 39.2%, have been found in the Adriatic Sea and 33 of them (3 Chlorophyta, all the Ochrophyta, 19 Rhodophyta) have colonised the Lagoon of Venice. Out of these, 14 are invasive or potentially invasive alien taxa in the Adriatic Sea and 6 in the Lagoon of Venice. In the Adriatic Sea, three Chlorophyta are the most important NIS: *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*, *Caulerpa taxifolia* and *Codium fragile* subsp. *fragile*. However, these taxa are not abundant and mostly colonize the central and southern Adriatic basins. The two Ochrophyta, *Sargassum muticum* and *Undaria pinnatifida*, collected in the lagoon in the early '90s, are the most abundant invasive NIS established in the Lagoon of Venice. These species, almost exclusive for this lagoon, exhibit a luxuriant growth in May-June, especially along the banks of the historical centre, then disappear till the cold season. More recently (2008), the Rhodophyta *Gracilaria vermiculophylla* was also recorded. This species was firstly reported along the European coasts in 1996, introduced with oysters imported from Virginia. It preferentially colonises mud sheltered bottoms in eutrophic and turbid waters of bays and estuaries. In the Mediterranean Sea, it was firstly recorded in the Po Delta in 2008 (Sfriso *et al.*, 2010). In the same year, *G. vermiculophylla* was also recorded in the Emilia-Romagna transitional systems and in the Lagoon of Venice, where it forms tangled mats mixed with other Gracilariaceae, Solieriaceae and Ulvaceae, reaching biomass values up to 15 kg FW m<sup>-2</sup>.

Sfriso, A., Maistro, S., Andreoli, C., Moro, I. (2010). First record of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Po Delta lagoons, Mediterranean Sea (Italy). *Journal of Phycology*, 46: 1024-1027.

## **Corsi e ricorsi storici: il ritorno dell'alga alloctona *Agardhiella subulata* (Rhodophyta, Gigartinales) nel Mar Piccolo di Taranto**

**Ester Cecere<sup>1</sup>, Giuseppe Portacci<sup>1</sup>, Antonella Petrocelli<sup>1</sup>, Marion A. Wolf<sup>2</sup>, Katia Sciuto<sup>2</sup>,  
Isabella Moro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Istituto per l'Ambiente Marino Costiero, C.N.R., UOS Taranto, via Roma 3, 74123 Taranto, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Biologia, Università di Padova, via U. Bassi 58b, 35131 Padova, Italy  
ester.cecere@iamc.cnr.it*

Il Mar Piccolo di Taranto è uno dei principali hot spot per l'introduzione di specie alloctone nel Mar Mediterraneo. Tra le macroalghe, le Solieriaceae *Agardhiella subulata* (C. Agardh) Kraft et Wynne e *Solieria filiformis* (Kützinger) Gabrielson furono le prime specie alloctone rinvenute. Il loro ritrovamento risale alla seconda metà degli anni '80 e rappresentò la prima segnalazione anche per il Mar Mediterraneo. Entrambe le specie, tra la fine degli anni '80 e gli anni '90, sono state dominanti nel popolamento bentopleistofitico presente nel bacino, soprattutto in estate. Durante quegli anni, non furono mai rinvenuti talli fertili né aptofitici; pertanto, poiché l'identificazione già a livello di genere si basa sulla struttura del cistocarpo maturo, e anche del sistema di attacco al substrato, furono individuati altri caratteri morfologici vegetativi che potessero consentire di identificare le due specie e distinguerle fra loro (Perrone & Cecere, 1994). Alla fine degli anni '90, i popolamenti di entrambe le specie subirono un drastico declino, fino a scomparire. Nel giugno 2011, nel Secondo Seno, in una zona caratterizzata da smercio di mitili e altri molluschi eduli importati, sono stati raccolti numerosi talli di una rodoficea mai osservata precedentemente, che all'esame microscopico si è rivelata *Agardhiella subulata*. Le analisi molecolari, condotte utilizzando come marker molecolare il gene *rbcL*, codificante per la subunità grande dell'enzima Rubisco, hanno permesso di affermare che si tratta di *Agardhiella subulata* con un supporto del 100% di identità nucleotidica, confermando l'identificazione tassonomica e dimostrandosi a tal fine un supporto di grande importanza. Da un punto di vista morfologico, i talli attualmente raccolti sono notevolmente diversi da quelli presenti nel bacino tra gli anni '80 e i '90. Infatti, sono molto robusti e irregolarmente ramificati a causa di numerose rigenerazioni e proliferazioni dovute a un'intensa attività di "grazing". Sono stati raccolti gametofiti maschili e femminili. Non sono mai stati ritrovati talli tetrasporici, presenti invece negli anni '90, ma solo nei mesi invernali. Di particolare interesse è poi la presenza di rametti laterali rigonfi che potrebbero avere il ruolo di propaguli, i quali furono osservati anche sui talli presenti negli anni '90. Nella stessa stazione, è già presente un'altra rodoficea alloctona, *Hypnea cornuta* (Kützinger) J. Agardh, probabilmente introdotta tramite l'importazione di molluschi eduli.

Il nuovo ritrovamento di *A. subulata* nel Mar Piccolo di Taranto è sicuramente dovuto ad una nuova introduzione, e amplia l'areale di distribuzione di questa specie nel Mediterraneo, dove si è notevolmente diffusa, soprattutto in località in cui sono presenti attività di molluschicoltura (es. Etang de Thau, Laguna di Venezia, Lago di Ganzirri). Ciò evidenzia ancora una volta il ruolo svolto dall'importazione dei molluschi come vettore elettivo di introduzione di macroalghe alloctone.

Perrone C., Cecere E. (1994). Two solieriacean algae new to the Mediterranean: *Agardhiella subulata* and *Solieria filiformis*. *Journal of Phycology* 30: 98-108.

## ***Ulva* (Chlorophyta, Ulvales) biodiversity in the North Adriatic Sea (Mediterranean, Italy): cryptic species and new introductions**

**Marion A. Wolf\*, Katia Sciuto\*, Carlo Andreoli, Isabella Moro**

\* These authors contributed equally to this work

*Department of Biology, University of Padova, via U. Bassi 58/B, 35131 Padova, Italy*  
marionadelheid.wolf@unipd.it

*Ulva* Linnaeus (Ulvophyceae, Ulvales), one of the first algal taxa described, is a ubiquitous genus of macroalgae, with species occurring in all aquatic habitats from freshwater through estuarine to marine environments. *Ulva* thalli are either distromatic and foliose (blades) or monostromatic and tubular. The tubular forms were previously regarded as belonging to a distinct taxon, *Enteromorpha* Link, until recent phylogenetic studies have demonstrated that these two genera are not separate. As presently circumscribed, 127 species are recognized under the genus *Ulva*. Besides their importance as components of biodiversity and indicators of eutrophic environments, several members are notorious biofoulers of ships' hulls and ballast waters and, for this reason, they result among the most commonly transported and widely introduced macroalgal species.

Members of this genus show a very simple morphology and a certain degree of phenotypic plasticity, heavily influenced by environmental conditions. Moreover the existence of cryptic species in this group further complicates *Ulva* identification on a morphological basis alone and, for this reason, up to recent times Mediterranean communities have been largely underestimated due to the co-occurrence of genetically distinct but morphologically overlapping species or species complexes.

DNA barcoding removes the reliance on morphological feature in order to discriminate taxa and for this reason it is a good way to have an objective survey of entities present in different regions. Here we report the first results of a survey on *Ulva* biodiversity in the North Adriatic Sea (Mediterranean, Italy). To start we focused on the Venice Lagoon and in particular on three sampling sites greatly affected by naval traffics: Venice Lagoon, Chioggia inlet, and Lido of Venice. The phylogenetic analyses, carried out using the *rbcl* and the *tufA* genes as molecular markers, revealed the presence of two new alien introductions in the North Adriatic Sea: *U. californica*, never recorded before in the Mediterranean, and the cryptic invasive species *U. pertusa*, reported for the first time in the Adriatic area. In addition we found a potential new *Ulva* entity, which needs further investigations to be confirmed.

**Atlante fotografico e chiavi tassonomiche delle Chlorophyta multicellulari e delle fanerogame acquatiche:  
ambienti di transizione italiani e litorali adiacenti**

**Adriano Sfriso<sup>1</sup>, Carla Ferrari<sup>2</sup>, Attilio Rinaldi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica, Università di Venezia, Calle Larga, S. Marta 2137, 30123 Venezia, Italy*

<sup>2</sup> *ARPA - Sede Struttura Oceanografica Daphne (c/o C.R. Marine), viale Vespucci 2, 47042 Cesenatico (Forli-Cesena), Italy  
sfrisoa@unive.it*

Una delle esigenze più sentite da chi affronta e vuole approfondire la conoscenza degli organismi presenti in un determinato ambiente è la possibilità di disporre di atlanti e chiavi tassonomiche per la loro identificazione. In letteratura sono disponibili numerosi testi sull'argomento ma questi riguardano le specie che popolano mari stranieri oppure presentano semplicemente delle liste o delle chiavi tassonomiche non semplici da interpretare senza il compendio di tavole iconografiche adeguate. Questo atlante vuole essere un primo aiuto per tentare di riconoscere le alghe verdi multicellulari e le fanerogame acquatiche degli ambienti di transizione italiani prendendo in considerazione anche i litorali marini immediatamente adiacenti.

In tutto sono presentate 94 tavole per un totale di 1349 foto che presentano le alghe sia come appaiono nel loro ambiente che visualizzando i principali dettagli morfologici e tassonomici derivati da fotografie fatte al microscopio. Ogni tavola è corredata da una scheda in cui vengono fornite informazioni sui cambiamenti della nomenclatura, sulla morfologia, sulle principali caratteristiche ecologiche e sulla distribuzione delle specie considerate. Le tavole sono precedute da chiavi tassonomiche con classificazioni scalari partendo dal phylum Chlorophyta attraverso chiavi che riguardano le classi, gli ordini, le famiglie, i generi e da ultimo le specie e i taxa intraspecifici. Spesso le difficoltà sono notevoli poiché molte specie presentano adattamenti ambientali convergenti o c'è ibridazione tra specie affini, tuttavia in molti casi la determinazione è enormemente facilitata, anche se non sempre si riescono a rintracciare e fotografare campioni con i caratteri tassonomici che distinguono le specie oggetto di studio. Inoltre, la nomenclatura è in continua evoluzione sia per i continui progressi genetico-molecolari che per i mezzi di diffusione come Internet che permettono di confrontare le specie provenienti da ogni parte del mondo. Sicuramente il lavoro da fare è ancora molto, tuttavia questo volume può essere una base d'inizio sia per i neofiti che per i ricercatori più esigenti poiché sono trattate "le nostre specie" quelle degli ambienti di transizione, i meno studiati dal punto di vista tassonomico, senza dover disperderci nella molteplicità di testi e di chiavi tassonomiche che solo i ricercatori più esperti sono in grado di integrare ed interpretare.

## **Ocean acidification and its effects on early algal colonization stages**

**Lucia Porzio, Maria Cristina Buia**

*Benthic Ecology Group, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Punta San Pietro, Ischia (NA),  
80077, Italy  
mcbuia@szn.it*

Benthic marine plants exhibit different responses to ocean acidification, suggesting that an increase of the pCO<sub>2</sub> does not always favour marine photosynthetic organisms. In order to understand the effects of acidification on the algal community development, early colonization stages have been investigated using carbon dioxide vents around the Castello Aragonese (island of Ischia, Italy) as a natural laboratory. Algal occurrence and cover on artificial substrata were followed up from April to July according to the *in situ* pH gradient (8.1, 7.8 and 6.7) and to the coastal exposition (South and North). Changes in the settlement of early colonizing species at different time intervals among sectors with different pH and exposition were evident. After the first two months, the hydrodynamic regime drives the algal colonization, while at the end of the experiment, pH is resulted the main forcing factor. Although the well known succession of encrusting, filamentous, and corticated forms has been recorded at different pH conditions, at acid waters soft encrusting algae replaced calcareous species, and thin and filamentous forms were dominant in cover; more complex thalli started to occur only at pH over 7.8. These data support previous findings on long-term changes of shallow algal communities induced by ocean acidification.

## ***Ostreopsis* cf. *ovata* blooms in the northern Adriatic Sea: ecology and toxin production**

**Stefano Accoroni<sup>1</sup>, Federica Colombo<sup>1</sup>, Salvatore Pichierrì<sup>1</sup>, Tiziana Romagnoli<sup>1</sup>, Cecilia Battocchi<sup>2</sup>, Antonella Penna<sup>2</sup>, Cecilia Totti<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via Brezze Bianche, 60131 Ancona, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari, sezione Biologia Ambientale, Università di Urbino, viale Trieste 296, 61121 Pesaro, Italy*  
s.accoroni@univpm.it

In the last decade, blooms of toxic benthic dinoflagellates belonging to *Ostreopsidaceae* (*Ostreopsis* cf. *ovata* and *O.* cf. *siamensis*) became intense and frequent on all the rocky coasts of the Mediterranean Sea. Such blooms have been associated with noxious effects on human health and also with mortality of benthic marine organisms, due to the production of palytoxin-like compounds. Since 2006, blooms of *O.* cf. *ovata* occur along the rocky coasts of the northern Adriatic Sea. In this study, we investigated the temporal trend of *O.* cf. *ovata* bloom on the Conero Riviera (N Adriatic Sea) and the role of environmental factors (temperature, hydrodynamism and nutrient concentration) and type of substratum on the bloom dynamics.

Sampling was carried out in 2006, 2007, 2009 and 2010 on several benthic substrata (macroalgae, pebbles, mussels) and in the water column. Samples were processed to allow the detachment of dinoflagellate cells from substrata and analyzed under the inverted microscope. Cell abundances were finally expressed as cells g<sup>-1</sup> fw/dw, cells cm<sup>-2</sup>. Molecular analysis revealed the presence of the only genotype *ovata* in all samples.

Annual maxima on macrophyte samples were always observed in late summer, with abundances of the order of magnitude of 10<sup>6</sup> cells g<sup>-1</sup> fw (corresponding to 10<sup>7</sup> cells g<sup>-1</sup> dw and 10<sup>4</sup> cells cm<sup>-2</sup>). Comparing the mean abundances of *O.* cf. *ovata* settled on seaweeds with those growing on hard substrata, significantly higher abundances were observed on the latter. Other toxic benthic dinoflagellates, such as *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* and *Amphidinium* cf. *carterae* are recorded in association with *O.* cf. *ovata* with lower abundances. Hydrodynamism seems to play a major role in regulating the bloom dynamics of *O.* cf. *ovata*: significantly higher abundances were observed in sheltered sites compared with exposed ones, particularly during the exponential bloom phase. Differently from what observed in other Mediterranean areas, blooms developed when temperature values were decreasing. Although recent studies have given increasing evidence of a link between the nutrient enrichment of coastal waters and harmful algal events, such a relationship has not been shown for *O.* cf. *ovata* in our study area. Toxin analysis in natural samples revealed a high total toxin content (up to 75 pg cell<sup>-1</sup>). Episodes of death of both benthic invertebrates (limpets, sea urchins and mussels) and several macroalgae were observed during *O.* cf. *ovata* bloom peak.

## **Produzione di tossine in *Ostreopsis cf. ovata***

**Laura Pezzolesi<sup>1</sup>, Franca Guerrini<sup>1</sup>, Silvana Vanucci<sup>2</sup>, Rossella Pistocchi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Centro Interdipartimentale di Ricerca per le Scienze Ambientali, Università di Bologna, via S'Alberto 163, 48123 Ravenna, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università di Messina, viale Ferdinando d'Alcontres 31, 98166 S. Agata, Messina, Italy*  
laura.pezzolesi@unibo.it

Le dinoflagellate rappresentano il gruppo di microorganismi marini con il maggior numero di specie tossiche che si differenziano ampiamente per: la specie chimica prodotta, la variabilità nel profilo tossicologico della singola specie, la velocità di sintesi, il periodo preferenziale per la produzione e per le risposte, in termini di tossicità, alle variabili ambientali. Le problematiche relative alla presenza di *Ostreopsis cf. ovata* in Mediterraneo sono abbastanza recenti, tuttavia, dato che la specie è ampiamente distribuita e causa problemi ricorrenti, gli studi di caratterizzazione della tossicità sono utili sia perché le tossine si possono accumulare lungo la catena trofica sia per il fatto che queste molecole possono rappresentare dei marker biochimici della specie.

I primi studi effettuati con colture di *O. cf. ovata* ci hanno permesso di delineare alcune caratteristiche della tossicità, di confrontarla con quanto noto per altre classi di tossine, di evidenziare alcune difficoltà metodologiche nello studio di questa specie e di saggiare alcune ipotesi di funzione delle tossine.

Dalle analisi effettuate finora appare evidente che tutti i ceppi di *O. cf. ovata* prelevati in Mediterraneo producono analoghi della palitossina di cui, fino ad ora, ne sono stati caratterizzati sei; contrariamente a quanto evidenziato in un primo momento, esiste una certa variabilità nel profilo tossicologico dei diversi ceppi, non collegato al luogo di provenienza.

Le tossine vengono accumulate durante il progredire della crescita della coltura raggiungendo livelli massimi in fase stazionaria quando aumenta anche il rilascio nell'ambiente.

Fattori ambientali che, come la temperatura, hanno un effetto sulla crescita determinano un contenuto di tossine per cellula con andamento inverso. Altri fattori, come ad es. la carenza di nutrienti, che ugualmente determinano minore crescita non stimolano la produzione di tossine, come invece osservato per altre dinoflagellate.

Infine, l'interazione di *O. cf. ovata* con altri organismi non sembra suggerire una funzione allelopatica delle tossine.

## **New approach using real-time PCR method for the quantification of *Ostreopsis cf. ovata* in environmental samples**

**Cecilia Battocchi<sup>1</sup>, Federico Perini<sup>1</sup>, Anna Casabianca<sup>2</sup>, Stefano Accoroni<sup>3</sup>, Cecilia Totti<sup>3</sup>, Antonella Penna<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari, sez. Biologia Ambientale, Università di Urbino, viale Trieste 296, 61121, Pesaro, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari, sez. di Biochimica, Università di Urbino, via Saffi 2, 61029, Urbino, Italy*

<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via Breccie Bianche, 60131 Ancona, Italy*  
cecilia.battocchi@uniurb.it

*Ostreopsis* is a benthic/epiphytic dinoflagellate known to produce palytoxin-like compounds. In particular two species belonging to this genus: *O. cf. ovata* and *O. cf. siamensis* are being found with increasing frequency in the Mediterranean Sea causing negative impact on economical activities and environmental health, and above all, serious cases of human poisoning with toxic aerosol associated with their bloom events. The correct identification and enumeration of these two species by microscopy is very difficult due to the high morphological and morphometrical variability of the cells. To this purpose we developed a real-time PCR assay for the quantitative monitoring of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* in marine environment. The method is based on the SYBR GREEN I real-time PCR technology and use both a plasmid standard curve and a gold standard curve created with pooled environmental samples collected during a bloom event of *O. cf. ovata*. Based on their similar PCR efficiencies (95% and 98%, respectively), the exact rDNA copy number per cell was obtained in cultured and environmental samples. This procedure allowed us to normalize the variability of ribosomal DNA copy number per cells between analyzed samples and to calculate the number of cells per each sample. The analytical sensitivity of the PCR was set at two rDNA copy number and  $8.0 \times 10^{-4}$  cell per reaction for plasmid and gold standards respectively. The reproducibility, determined on the total linear quantification range of both curves, confirmed the accuracy of the technical set-up in the complete ranges of quantification over time. This innovative molecular system of qrt-PCR, which can give rapid, specific and sensitive results, can be a useful tool, alternative to traditional microscopy, in the control and management of harmful coastal *Ostreopsis* spp. blooms.

## **Presenza di *Prorocentrum rhathymum* nel litorale veneto**

**Mauro Bastianini<sup>1</sup>, Fabrizio Bernardi Aubry<sup>1</sup>, Stefania Finotto<sup>1</sup>, Tiziana Romagnoli<sup>2</sup>, Cecilia Totti<sup>2</sup>, Giorgio Socal<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ISMAR CNR Istituto di Scienze Marine, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Castello 1364/a,  
30122 Venezia, Italy

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via  
Brecce Bianche - 60131 Ancona, Italy  
mauro.bastianini@ismar.cnr.it

Da più di vent'anni ARPAV, in collaborazione con ISMAR CNR, effettua l'analisi quali-quantitativa del fitoplancton per la classificazione ambientale delle acque marino-costiere del Veneto; da alcuni anni è stata inoltre potenziata la ricerca di specie potenzialmente tossiche lungo il litorale, con una particolare attenzione, nel 2008 e 2009, per il rinvenimento della dinoflagellata bentonica *Ostreopsis*.

Il progetto messo in atto specificatamente per la ricerca di questa microalga ha dato esiti negativi: *Ostreopsis* non è mai stata rinvenuta lungo il litorale veneto.

Nel corso delle indagini, nella zona di Pellestrina, è stata invece determinata la presenza della specie *Prorocentrum rhathymum*, descritta come dinoflagellata bentonica potenzialmente tossica, che non era mai stata segnalata nell'area di studio. Il suo ritrovamento è avvenuto sia in agosto che in settembre 2009, e proseguito nel 2010. In letteratura la sua tossicità è piuttosto dibattuta, anche se esistono dei casi in cui fioriture di questa specie hanno provocato danni di un certo rilievo ad allevamenti di molluschi. I risultati di un'indagine mirata svolta nel corso dell'estate 2010 confermano la presenza della specie nell'area. Lo studio al microscopio elettronico a scansione ha permesso di raggiungere un maggior dettaglio tassonomico alle specie presenti e le analisi delle sabbie hanno evidenziato delle peculiarità dell'area di studio che potrebbero essere messe in relazione con la presenza di *P. rhathymum*.

## **MiDTAL: a microarray approach for the detection of harmful algal blooms (HABs)**

**Lucia Barra<sup>1</sup>, Maria Valeria Ruggiero<sup>1</sup>, Pasquale De Luca<sup>1,2</sup>, Wiebe H.C.F. Kooistra<sup>1</sup>, Marina Montresor<sup>1</sup>, Diana Sarno<sup>1</sup>, Adriana Zingone<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Napoli, Italy*

<sup>2</sup> *BIOGEM, Ariano Irpino, Avellino, Italy*

lucia.barra@szn.it

MiDTAL is developing what will be the first commercially available microarray (phylochip) capable of rapidly detecting the presence of specific harmful algal species before they develop into harmful blooms (HABs). This microarray is based on fluorescent detection of labelled RNA hybridised to immobilised oligonucleotide probes. The phylochip will enable agencies to check for the presence of toxic algae in their waters at an early stage and to take the proper measures to prevent seafood contamination and the economic losses associated with it.

Within the MiDTAL project, the goal of our team is to develop probes for the diatom genus *Pseudo-nitzschia*, which includes species capable of producing domoic acid, a neurotoxin responsible for amnesic shellfish poisoning (ASP). *Pseudo-nitzschia* species are important components of the phytoplankton community in coastal waters and several species show high cryptic or pseudo-cryptic diversity, making their identification problematic. We assessed the specificity of 44 Large Subunit rRNA (LSU) 25 bp-long probes for fifteen *Pseudo-nitzschia* species through dot blot and microarray analyses. Most of these probes were species-specific. The hybridisation protocol was optimized, and additional thymine nucleotides were added above the six-carbon spacer to raise the probe signal. We will present preliminary results of the hybridization of natural samples collected in the Gulf of Naples with the 2<sup>nd</sup> generation of microarrays and their validation with cell counts in light microscopy.

## Utilizzo di microarray per il monitoraggio di specie microalgali tossiche in Mediterraneo

Luca Galluzzi<sup>1</sup>, Alessandra Cegna<sup>1</sup>, Silvia Casabianca<sup>2</sup>, Antonella Penna<sup>2</sup>, Nick Saunders<sup>3</sup>,  
Mauro Magnani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Sez. Biotecnologie, Università di Urbino, via  
Campanella 1, 61032 Fano (PU), Italy

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Sez. Biologia Ambientale, Università di Urbino, viale  
Trieste 296, 61121 Pesaro (PU), Italy

<sup>3</sup> Centre for Infections, HPA (Colindale), 61 Colindale Avenue, London, England  
silvia.casabianca@uniurb.it

L'identificazione delle specie HAB attraverso il riconoscimento di caratteristiche morfologiche risulta laborioso e richiede conoscenze tassonomiche approfondite da parte dell'operatore. Recentemente sono stati sviluppati metodi molecolari per il riconoscimento delle specie, rapidi e sensibili, basati su sonde di DNA e su tecniche di PCR. In questo studio è stato messo a punto un metodo basato sulla tecnologia microarray per il rilevamento simultaneo di 9 specie di dinoflagellate in Mediterraneo. Le specie target comprendono *Alexandrium andersoni*, *A. tamarense* ME clade, *A. tamarense* WE clade, *A. catenella*, *A. minutum*, *A. taylori*, *A. pseudogoniaulax*, *Protoceratium reticulatum* e *Lingulodinium polyedrum*. Le sonde specie-specifiche hanno una lunghezza di 45-47 nucleotidi, e sono state disegnate con il software Oligoarray 2.1 sulle regioni ITS1-5.8S-ITS2 del DNA ribosomiale. Il vetrino per il saggio microarray è costituito da 24 subarrays, ognuno formato da 18 colonne e 22 righe. Un singolo subarray contiene 10 repliche di ciascuna sonda per un totale di 200 spot. Le regioni di DNA target sono state amplificate e marcate tramite PCR, usando primers universali e dUTP biotinitato. I prodotti di PCR, marcati e ibridati sul vetrino, sono stati rilevati utilizzando Cy5-streptavidina tramite scansione laser dei vetrini. La specificità del saggio è stata testata utilizzando DNA genomico estratto da 20 isolati algali. Tale specificità veniva mantenuta anche miscelando differenti prodotti di PCR nella stessa mix di ibridazione o amplificando simultaneamente DNA genomico estratto da 4 specie diverse di *Alexandrium*. Per quanto riguarda la sensibilità del sistema microarray, le sonde specie-specifiche hanno permesso la rilevazione di 2 ng di prodotto di PCR marcato, derivato dall'amplificazione di DNA estratto da coltura. Il saggio microarray è stato testato su campioni di retinata provenienti dall'Adriatico nord-occidentale. Questi campioni sono stati analizzati anche dopo la contaminazione con un numero noto di cellule appartenenti alle specie target. I risultati hanno confermato la specificità osservata negli esperimenti precedenti e hanno rilevato la presenza di cellule di *A. pseudogoniaulax*. Cellule appartenenti al genere *Alexandrium* erano state rilevate anche attraverso osservazione dei campioni al microscopio ma, a differenza del saggio microarray, non era stato possibile identificare con certezza le differenti specie. Dall'analisi dei campioni contaminati con quantità note di cellule è stato possibile determinare il limite di sensibilità di 2-8 cell./ml nei campioni ambientali di retinata, con una certa variabilità tra una specie e l'altra. Il saggio microarray è al momento solo qualitativo e non quantitativo a causa della variabilità introdotta dalla PCR con primers universali. Il metodo risulta comunque rapido e sensibile e permette di processare fino a 24 campioni nel singolo vetrino rendendo tale metodo applicabile a programmi di monitoraggio (Galluzzi et al., 2011).

**Effect of nitrogen depletion on biomass and lipid productivity  
in *Skeletonema marinoi***

**Elena Bertozzini<sup>1</sup>, Luca Galluzzi<sup>1</sup>, Antonella Penna<sup>2</sup>, Mauro Magnani<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari – Sez. Biotecnologie, Università di Urbino, via  
Campanella 1, 61032 Fano (PU), Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari – Sez. Biologia Ambientale, Università di Urbino, viale  
Trieste 296, 61121 Pesaro (PU), Italy*

<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienze Biomolecolari – Sez. Biochimica, Università di Urbino, via Saffi 2,  
61029 Urbino (PU), Italy  
luca.galluzzi@uniurb.it*

Microalgae are considered one of the most promising biodiesel feedstock due to their efficiency in CO<sub>2</sub> fixation and to the high neutral lipids productivity. Nutrient-stress conditions, including nitrogen-starvation, enhance neutral lipids content but at the same time lead to a reduction of biomass. In this study, two different nitrogen starvation approaches were attempted on the diatom *Skeletonema marinoi* with particular attention to changes in neutral lipids content and biomass production. In the first experiment four parallel cultures with decreasing nitrate concentration in each culture were investigated, in the second one, nitrate concentration was gradually reduced from f/2 standard level in a semi-continuous system. In the first approach, the neutral lipids accumulation was coupled with a strong biomass reduction (as expected), while the semi-continuous system generated cultures with significantly higher neutral lipids content without affecting biomass. In conclusion, a two-phases strategy can be a good approach for enhance neutral lipids productivity in *S. marinoi* with positive insides regarding a possible employ as biofuel feedstock.

## **Ecology and distribution of the *Trentepohlia arborum* (Trentepohliales, Chlorophyta) in Brazilian biomes**

**Nadia Martins Lemes da Silva, Luis Henrique Zanini Branco**

*UNESP/IBILCE – Department of Zoology and Botany, São Paulo State University (campus of São José do Rio Preto/SP, Brazil)*  
nadialemes@gmail.com

Trentepohliales is an order of strictly terrestrial organisms, growing on soil, rocks, barks of trees, leaves, fruits and artificial substrates. This group of green algae is very abundant in terrestrial environments and also it is poorly known and studied, being the tropical regions considered the centre of diversity of this organisms. *Trentepohlia* is the most specious genus of the order and *T. arborum* is one of the most widely distributed species, mainly in tropical regions, in which it was recorded in all the areas where the Trentepohliales have been studied. The goal of this study was to present information about ecology and distribution of this specie in distinct Brazilian biomes in a large geographic area and different ecology characteristics. The study was carried out in six Brazilian areas with occurrence of natural vegetation: Serra da Canastra National Park/MG and Chapada dos Veadeiros National Park/GO (savanna), Serra do Mar State Park/SP (rainforest and sandy coastal vegetation), Itatiaia National Park/RJ (rainforest and highland vegetation), Campos do Jordão State Park/SP (Araucaria moist forest) and northwest of São Paulo State/SP (seasonal semideciduous forest). *T. arborum* was recorded in three of the six areas studied, in Serra do Mar State Park/SP (rainforest and sandy coastal vegetation), Itatiaia National Park/RJ (rainforest) and Serra da Canastra National Park, and it was the most frequent specie in rainforest and sandy coastal vegetation regions. This specie was prevalent in the edge from wet biomes, mainly on barks of trees, posts and soil. *T. arborum* is a well-distributed species in tropical regions and it has records from Australia, Java and Bali, Tasmania, Hawaii, French Guiana and Panama. Whereas *T. arborum* had been recorded in a lot of regions, in this study it was not found in low moisture, light environments and neither altitudes above 800 meters, where the radiation level is more elevated, and therefore these can be the stringent factors for the development of this species.

Financial support: FAPESP (proc. 2008/10740-3, 2009/03587-7).

## **Molecular systematics of *Prasiola* (Prasiolales, Trebouxiophyceae) from Antarctica and the subantarctic islands**

**Mónica B.J. Moniz<sup>1</sup>, Fabio Rindi<sup>2</sup>, Michael D. Guiry<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Irish Seaweed Research Group, Ryan Institute, National University of Ireland, Galway, Ireland*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy  
f.rindi@univpm.it*

*Prasiola* is a genus of Trebouxiophycean green algae widely distributed in polar and cold-temperate regions, where it is found in a wide range of marine, terrestrial and freshwater habitats. New molecular data produced in recent years have shed light on the evolution and systematics of this genus. Most of the information available, however, refers to species from the northern hemisphere, and comparatively little is known for the southern hemisphere. The widespread occurrence of *Prasiola* in Antarctica has been known since the 1840 collections of J.D. Hooker; algae of this genus are usually referred to *P. crispa* subsp. *antarctica* and occur at terrestrial sites subject to enrichment by organic nitrogen (mostly as guano from penguin rookeries). The systematics of representatives of *Prasiola* from Antarctica and subantarctic islands were studied by morphological examination and molecular studies based on sequences of the *rbcL* and *psaB* genes. The results show that Antarctic taxa of *Prasiola* are among the most derived lineages in the phylogeny of the Prasiolales and belong to three different clades referable to different species, one distributed in freshwater habitats and the others in terrestrial habitats. The freshwater species was identified in previous studies as *Prasiola calophylla* (type locality: Lismore, Scotland); however, it is unrelated to populations of this species from the northern hemisphere and may represent an undescribed species. The two terrestrial species represent a complex of cryptic taxa that cannot be discriminated morphologically. One can be unambiguously identified as *Prasiola crispa* (type locality: Scotland) because the clade associated with this species includes the *rbcL* sequence of the type material. For the other species, we propose, provisionally, the reinstatement of *Prasiola antarctica* Kützing as an independent taxon.

## **Multigene phylogenetic approach to study dispersal mechanisms and population structure of Cyanidiophyceae from Iceland**

**Claudia Ciniglia<sup>1</sup>, Antonino Pollio<sup>2</sup>, Manuela Iovinella<sup>1</sup>, Gabriele Pinto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze della Vita – Seconda Università di Napoli, via Vivaldi 43, 81100 Caserta, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento delle scienze Biologiche, Sez. Biologia Vegetale - Università degli Studi di Napoli Federico II, via Foria 224, 80134 Napoli, Italy*  
claudia.ciniglia@unina2.it

Studies and experimental data about microbial biogeography of protists have contributed to raise conflicting opinions and viewpoints. If on one hand the richness of individuals in microbial species, along with their small size and metabolic plasticity, would suggest that they cannot be affected by geographic or ecological limits to dispersal, admitting a panmictic distribution across the globe, on the other hand the extremely high global protistan species diversity would corroborate the hypothesis on the existence of geographical barriers to dispersion. Neither the former nor the latter hypotheses are rejectable, but neither the one nor the other are satisfactorily adapted in advance to all types of microorganisms; for example, continuous large-scale dispersal is quite difficult to accept for extremophilic microorganisms which require peculiar growth conditions for their survival. Cyanidiophyceae are an example of “worldwide-but-discontinuous colonization”, inhabiting mainly acidic (pH 0.0-4.0) and thermal sites (25-55°C) around worldwide occurring hot springs; traditional approach based on microscopy has revealed a high convergent morphology among genera, species and strains, thus failing in clearly defining the species concept for these thermoacidophilic algae and providing a very limited view in total Cyanidiophyceae diversity; in addition, nor resistance forms in their life cycle or desiccation tolerance have ever been admitted, thus precluding the ability to survive in “normal conditions”. So, how can thermoacidophiles straggle throughout the world, and reach new geothermal habitat to conquer? Is Cyanidiophyceae population structure thoroughly identical in all the thermoacidic sites? As for all protists, the most considerable question knot for Cyanidiophyceae is linked to where and what to sample for getting a real picture of their biogeography and biodiversity, and what is the best methodological approach.

Icelandic territory was chosen for these studies essentially for three important reasons: Iceland is a geologically young land, geographically isolated, formed by raising of the ocean floor, due to intense underground volcanic activity; numerous and extensive hydrothermal areas are present around the country where Cyanidiophyceae are largely occurring; the existence of different ecological conditions (hydrothermal vents in the form of geysers or hot lakes, geysers, boiling mud). These considerations make this area an excellent model in which to analyze the biodiversity and distribution of Cyanidiophyceae.

Multigene approach (psbA, psaA, rbcL and calmodulin gene introns) have revealed neither *C. caldarium* nor *C. merolae* sequences among Icelandic isolates; only one genus has been found among isolates by phylogenetic analyses, mainly ascribable to *Galdieria maxima* and *G. daedala*. Phylogenetic analyses have shown discrepancies among genes with a different time scale of chloroplast evolutionary changes; some organisms more closely clustered with *G. daedala* from rbcL and psaA, were more closely related to *G. sulphuraria* or to *G. maxima* by psbA. These results suggest a hypothetical lateral gene transfer among Icelandic thermoacidophilic strains.

## **Selezione di cianobatteri isolati da biofilm per la produzione di esopolisaccaridi per applicazioni biotecnologiche**

**Francesca Di Pippo<sup>1</sup>, Alessandra Gismondi<sup>2</sup>, Laura Bruno<sup>2</sup>, Angelo Perilli<sup>1</sup>,  
Patrizia Albertano<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *CNR–IAMC, Consiglio Nazionale delle Ricerche-Istituto Ambiente Marino e Costiero Località Sa Mardini, Torregrande, 09072 Oristano, Italy*

<sup>2</sup> *LBA-Laboratorio di Biologia delle Alghe, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”, via della Ricerca scientifica, 00133 Roma, Italy  
francesca.dipippo@cnr.it*

Il sempre maggiore interesse per la struttura e il funzionamento dei biofilm fototrofi è legato alla loro importanza ecologica e all'elevata potenzialità di applicazione in campo biotecnologico [1]. I microrganismi fototrofi ed eterotrofi, che formano i biofilm adesi a superfici di varia natura, sono immersi in una matrice esopolimerica costituita principalmente di esopolisaccaridi [2]. Da un punto di vista applicativo, gli esopolisaccaridi rappresentano una valida alternativa all'utilizzo dei polisaccaridi di origine vegetale in molti settori industriali. La natura anionica degli esopolisaccaridi ne consente, ad esempio, l'uso nella rimozione di metalli e altri inquinanti dalle acque, mentre i residui solfato, caratteristici di alcuni cianobatteri, conferiscono a tali polimeri proprietà antivirali e antinfiammatorie molto ricercate in campo farmacologico [3].

Poiché la produzione e la composizione degli esopolisaccaridi dipendono strettamente dalla specie e dalle condizioni di crescita, in questo lavoro alcuni ceppi di cianobatteri, isolati da biofilm di diversa provenienza, sono stati cresciuti in differenti condizioni di coltura. I microrganismi venivano identificati su base morfologica mediante osservazioni al microscopio ottico e genetica, mediante sequenziamento del gene 16S rRNA. La registrazione di curve di crescita consentiva, al raggiungimento della fase stazionaria, di stimare la produzione di biomassa in diverse condizioni di coltura. Da ciascun ceppo venivano inoltre estratte due frazioni esopolisaccaridiche, successivamente quantificate e analizzate da un punto di vista chimico-fisico al fine di valutarne la carica anionica.

Alcuni tra i ceppi testati sono risultati buoni produttori di biomassa e di esopolisaccaridi complessi costituiti da almeno sei zuccheri neutri e un acido uronico. La carica anionica era conferita anche dalla presenza di residui solfato nelle guaine di alcuni ceppi e nella mucillagine rilasciata nel mezzo, evidenziati tramite colorazioni citochimiche al microscopio ottico. Inoltre, molte frazioni esopolisaccaridiche estratte risultavano stabili da un punto di vista conformazionale al variare del pH, così come messo in evidenza dalle analisi di discroismo circolare. I risultati sembrano promettenti, soprattutto se si tiene conto del fatto che l'utilizzo di microrganismi adesi contribuisce all'abbattimento dei costi di raccolta e che è, inoltre, possibile ottimizzare i processi di produzione di biomassa e di esopolisaccaridi in sistemi su larga scala e in associazione ad altri processi estrattivi, in modo da compensare anche i costi di produzione oltre che di raccolta.

[1] Roeselers G., van Loosdrecht M.C.M., Muyzer G. (2008). *Journal of Applied Phycology* 20, 227-235.

[2] Flemming H.C., Wingender J. (2010). *Nature Reviews Microbiology* 8, 623-633.

[3] Pereira S., Zille A., Micheletti E., Moradas-Ferreira P., De Philippis R., Tamagnini P. (2009). *FEMS Microbiology Reviews* 33, 917-941.

## Phosphatase activities of cultured phototrophic biofilms

Neil T.W. Ellwood<sup>1</sup>, Francesca Di Pippo<sup>2</sup>, Patrizia Albertano<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Department of Geological Sciences, University of Rome "Roma Tre", Largo San Leonardo Murialdo 1, 00146 Rome, Italy*

<sup>2</sup> *CNR-IAMC, National Research Council, Institute for Coastal Marine Environment, Località Sa Mardini, Torregrande, 09072 Oristano, Italy*

<sup>3</sup> *LBA-Laboratory for Biology of Algae, Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", via della Ricerca Scientifica, 00133 Rome, Italy*

ellwood@uniroma3.it

The responses of cultured phototrophic biofilms to diverse phosphorus (P) regimes were assessed using a semi-continuous flow incubator. Three biofilms were grown over 18 days under three different P regimes: replete inorganic P, organic P-only and limited inorganic P. Assessing the response of the biofilms took into account the rate of phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities, biofilm nutrient contents and biomass accrual across the growth period. Phosphorus limitation was indicated by slower biomass accumulation and higher phosphatase activities of the organic P only and P limited biofilms compared to the P replete biofilms. The cyanobacterium *Phormidium* sp. dominated the later stages in all the treatments forming a dense layer at the biofilm-medium interface. This layer possibly led to a reduction of light and nutrient diffusion to sub-surface cells and may account for the production of phosphatases under P replete conditions. In addition this *Phormidium*-layer possibly produced a top-heavy P (and N) distribution and could explain the large reductions in areal nutrient concentrations. End-product repression and de-repression of phosphatase activity was suggested to be a main controlling factor of phosphatase activity. Consequently, it is proposed that for efficient nutrient removal from wastewaters biofilms should be regularly removed to continually maintain biofilms at the initial stages (3-7 days).

## **Preliminary morphological and molecular analysis of filamentous Cyanobacteria present in the "Culture Collection of Algae" of Sardinia**

**Veronica Malavasi<sup>1</sup>, Nicole Sausen<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Life and Environmental Sciences, Section of Botany and Botanical Garden, University of Cagliari, viale Sant'Ignazio da Laconi 13, 09123 Cagliari, Italy*

<sup>2</sup> *Biocenter Cologne, Department of Botany, University of Cologne, Zùlpicher Srt. 47b, 50674 Köln, Germany*

veronica.malavasi@unica.it

The present work is part of the project "Culture collection of microalgae in Sardinia - A resource for environmental restoration and biotechnology"<sup>1</sup>. The first purpose of this project is to realize a "Culture Collection" of photosynthetic microorganisms from different regional habitats from Sardinia. Today the collection comprises fifty-three non-axenic unialgal strains of prokaryotic and eukaryotic microalgae. In the present study we aim to describe those members of the Cyanophyta division, more specifically the filamentous forms with or without heterocysts. Among the eleven filamentous cyanobacteria present in the Culture Collection which has been chosen to begin the investigation show the four genera that they had the more interesting morphological characters. All cultures are grown in liquid BG11-H and acclimated to 23-17°C. Four strains of cyanobacteria have been investigated, DNA was extracted; the 16S rDNA genes amplified by PCR, and sequenced. Preliminary molecular analyses have been performed. These investigations confirmed the status of genera. We hope for that further studies, currently underway, will allow for an identification to species level. For each of these organisms a morphological observation including cell size, cell shape and arrangement of cells has been conducted, paying particular attention to the variability of characters in culture.

<sup>1</sup>Supported by RAS research grand cofinanced by PO Sardegna FSE 2007-2013 L.R.7/2007.

## **Should we care about Arctic marine microbes?**

**Michel Poulin**

*Research Division, Canadian Museum of Nature, Ottawa, ON K1P 6P4, Canada*  
mpoulin@mus-nature.ca

Arctic marine protists (i.e. autotrophic microalgae and non-autotrophic flagellates) are well adapted to live in the upper water column of coastal and oceanic regions (known as phytoplankton), or in the bottom layers of polar sea ice (known as sea-ice communities). There are roughly 5000 recognized legitimate marine phytoplankton species worldwide and an unknown number of sea-ice protists. Although phytoplankton and sea-ice protists have been described since the first Arctic expeditions up to the early 20<sup>th</sup> century, no current inventory provides the exact number and species composition at a pan-Arctic scale. In a first attempt to assess the pan-Arctic diversity of these marine protists, a wealth of data from various sources were reviewed (e.g. scientific publications, theses, published and unpublished reports, databases), while species names were confirmed with current classification. We report here for the Arctic a total of 2106 marine single-celled protist species, including 1874 phytoplankton and 1027 sea-ice species. Comparisons are presented with other biodiversity inventories reported from various regions of the world. Given current concerns about climate change threatening more rapidly the Arctic regions, how these marine protist communities will be affected by global warming? Obviously they will not disappear but the structure and functionality of the polar marine ecosystem may be altered.

## **Prima segnalazione dei gametofiti di *Polysiphonia perforans* Cormaci *et al.* in Mediterraneo**

**Giuseppina Alongi**

*Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Catania  
via Antonino Longo 19, 95125 Catania, Italy  
g.alongi@unict.it*

*Polysiphonia* Greville è un genere ad ampia distribuzione le cui specie mostrano una notevole variabilità morfologica che ha portato spesso ad una dubbia attribuzione tassonomica.

In Mediterraneo, il genere *Polysiphonia* è rappresentato da circa 42 specie che vivono in differenti habitat dal mesolitorale al circalitorale. Tra queste, *Polysiphonia perforans* Cormaci *et al.*, cresce su *Peyssonnelia* sp.pl. ed ha la capacità di attraversare lo spessore della lamina di queste specie, assumendo così un habitus caratteristico; sia la descrizione della specie che tutte le successive segnalazioni sono basate su esemplari sterili o su tetrasporofiti, non essendo stati ritrovati gametofiti fertili. Pertanto, alla luce dei più recenti studi sul genere l'attribuzione al genere *Polysiphonia* non era del tutto certa.

Nel corso di uno studio sulla biodiversità macroalgale di alcune grotte sommerse dell'AMP "Plemmirio" sono stati rinvenuti sia tetrasporofiti sia gametofiti maschili e femminili di *P. perforans*.

La presenza di assi spermatangiali che rimpiazzano i tricoblasti e rami carpogoniali costituiti di 4 cellule sono caratteri che, aggiunti a quelli già precedentemente riportati nel protologo (la presenza di 4 cellule pericentrali, i rizoidi in aperta connessione con le pericentrali e tetraspore in serie lineari), portano a confermare che la specie appartiene al genere *Polysiphonia*.

Infine, il ritrovamento dei gametofiti di *P. perforans* in ambienti di grotta lascia supporre che questa specie abbia il suo *optimum* di crescita in condizioni di bassa luminosità.

## ***Rhodomela* (Rhodophyta, Ceramiales) in the North Atlantic: preliminary results of a molecular investigation**

**Katia Sciuto\*<sup>1</sup>, Marion A. Wolf\*<sup>1</sup>, Isabella Moro<sup>1</sup>, Christine A. Maggs<sup>2</sup>**

\* These authors contributed equally to this work

<sup>1</sup> *Department of Biology, University of Padova, via U. Bassi 58/B, 35131 Padova, Italy*

<sup>2</sup> *School of Biological Sciences, Queen's University of Belfast, 97 Lisburn Road, Belfast BT9 7BL, Northern Ireland*

katia.sciuto@unipd.it

Molecular techniques have revolutionized biology in diverse fields of investigation. One of these is systematics and in the last few years several macroalgal taxa have undergone considerable revision based on molecular and phylogenetic data.

The genus *Rhodomela* C. Agardh belongs to the phylum Rhodophyta, order Ceramiales, family Rhodomelaceae and is a group of red algae widely distributed in the colder seas of the Northern Hemisphere (Masuda 1982). The species of the genus have been confusing to algal taxonomists, because of their plastic morphology. The North Atlantic members of *Rhodomela* show such a high degree of morphological variability that different authors recognized three, two, or just one species in this group. In particular, Kjellman (1883) reported three species from North West Europe: *R. confervoides* (Hudson) Silva, *R. lycopodioides* (Linnaeus) C. Agardh, and *R. virgata* Kjellman. After comparing several specimens from Danish populations, Rosenvinge (1923, 1924) concluded that the apparent morphological and phenological differences between *R. confervoides* and *R. virgata* were adaptations to ecological conditions, *R. virgata* being just the deeper water morphotype of the single species *R. confervoides*. Thus this author recognized two species of Atlantic *Rhodomela*: *R. confervoides* and *R. lycopodioides*.

The finding of specimens with intermediate features led Price & Tittley (1978) and Hiscock (1986) to suggest that the taxonomic status of *R. lycopodioides* also had to be established. After examination of a range of specimens collected subtidally and intertidally from different habitats in the British Isles, Maggs and Hommersand (1993) concurred with Rosenvinge that, based on morphological data, *R. confervoides* and *R. virgata* cannot be regarded as different species, while *R. lycopodioides* seemed distinct. Nevertheless, they confirmed also the frequent morphological overlap among the forms attributed to this genus, as well as the difficulty in the identification of particular specimens, advocating the need of a complete taxonomic revision for the Atlantic members of *Rhodomela*.

Currently, in the International database Algaebase ([www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)) *R. confervoides* and *R. lycopodioides* are recognized as distinct species, while *R. virgata* is considered a synonym of *R. confervoides*. Up to now, there has been no molecular investigation of the taxonomic positions of the Atlantic forms of *Rhodomela* and only one sequence for the *rbcl* gene of *R. confervoides*, the type species of the genus, is available in the public databases. We have therefore started an investigation on this group of red algae, using the *rbcl* gene, the *cox1* gene, and the *rbcl-rbcS* intergenic spacer as molecular markers. Here we present the results of this survey obtained to date.

## Studio delle comunità algali litorali delle Isole Pontine e calibrazione statistica dell'indice CARLIT

Simona Sirago<sup>1</sup>, Edoardo Scepi<sup>1</sup>, Maria Alessandra Tullio<sup>2</sup>, Giovanna Jona Lasinio<sup>2</sup>,  
Alessio Pollice<sup>3</sup> & Nadia Abdelahad<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Dipartimento di Biologia Ambientale, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma, Italy*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Statistiche, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma, Italy*

<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienza Statistiche "Carlo Cecchi", Università degli Studi di Bari, Largo Abbazia Santa scolastica 53, 70124 Bari, Italy*  
simonasirago@libero.it

Le comunità algali delle scogliere superficiali rispondono ai disturbi antropici attraverso un cambiamento sia nella composizione in specie che nella relativa abbondanza (Arévalo et al., 2007, Mangialajo et al., 2008). Sono pertanto considerate uno degli elementi biologici chiave per la determinazione dello stato ecologico delle acque costiere nella WDF 2000/60/EU. Tre indici basati sulle macroalghe sono attualmente applicati nei vari paesi europei che si affacciano sul Mediterraneo: EEI (Ecological Evaluation Index) (Grecia, Slovenia, Cipro) BENTHOS (Spagna), EQV (Environmental Quality Value) (Spagna, Francia, Italia). Quest'ultimo indice si ottiene utilizzando il metodo CARLIT (Cartography of littoral and upper-sublittoral benthic communities) che combina, mediante la tecnologia GIS, la cartografia delle comunità algali litorali e le informazioni disponibili sul valore di queste comunità come indicatori della qualità delle acque. La presenza e l'abbondanza delle comunità algali litorali non è determinata solo dalla qualità dell'acqua ma dipende anche dalle caratteristiche geomorfologiche della costa. Per valutare il ruolo che queste caratteristiche hanno nel determinare la presenza in particolare di popolamenti algali con alto valore di sensibilità (composti da varie specie di *Cystoseira*), è stato effettuato uno studio in ambienti meno disturbati delle Isole Pontine (Ponza, Zannone, Palmarola, Ventotene, S. Stefano). È stata realizzata una cartografia, archiviata in GIS, delle comunità algali litorali di queste isole in funzione delle caratteristiche geomorfologiche delle coste. L'estensione delle cinture superficiali a *Cystoseira* (che ha notevole importanza nel calcolo del CARLIT) è risultata ridotta su tutte le coste pontine. Questa riduzione è da riferire, tuttavia, non alla qualità mediocre delle acque - che risulta invece elevata secondo i dati chimico-fisici del monitoraggio regionale - ma alle condizioni geomorfologiche delle coste, in cui dominano falesie alte strapiombanti, poco adatte all'insediamento delle specie superficiali, eliofile, di *Cystoseira*. Testimonia, in particolare, questa situazione Palmarola, dove, malgrado la presenza di un "trottoir" a *Litophyllum byssoides* (biocostruzione indicatrice di acque non inquinate), l'EQV è risultato basso a causa della scarsa presenza di cinture a *Cystoseira*. L'utilizzo di un modello di regressione auto-logistica (ovvero, un modello di tipo logistico in cui si considera l'auto-correlazione spaziale) che descrive il ruolo che svolgono le caratteristiche geomorfologiche della costa nel determinare la presenza delle *Cystoseira* ha rivelato che la variabile morfologica che assume un ruolo fondamentale per l'insediamento delle *Cystoseira* è l'inclinazione del substrato (Jona Lasinio et al., 2011). Questo studio suggerisce di rivedere il protocollo CARLIT per tener meglio conto di questa condizione geomorfologica.

Arévalo R., Pinedo S., Ballesteros E. (2007). *Marine Pollution Bulletin*, 55: 104-113.

Jona Lasinio G., Golini N., Abdelahad N., Scepi E., Sirago S., Pollice A. (2011). *Spatial Data Methods for Environmental and Ecological Processes, 2nd edition – Proceedings*, 4 pp.

Mangialajo L., Chiantore M., Cattaneo-Vietti R. (2008). *Marine Ecology-Progress Series*, 358: 63-74.

## **New approaches to investigate *Posidonia oceanica* (L.) Delile**

**Alessandro Belmonte<sup>1</sup>, Alice Rotini<sup>2</sup>, Luigi M. Valiante<sup>3</sup>, Luciana Migliore<sup>2</sup>, Carla Micheli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ENEA Centro Ricerche Casaccia, Roma. UTRINN-BIO Laboratorio Biomasse e Bioenergie, via Anguillarese 301, 00123 S. Maria Di Galeria, Roma, Italy

<sup>2</sup>Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", via Cracovia, 1 – 00133 Roma, Italy

<sup>3</sup>Bioservice s.c.r.l., via Cinthia, Parco S. Paolo is. 25, 80126 Napoli, Italy  
ales.belmonte@gmail.com

*Posidonia oceanica* (L.) Delile is the dominant endemic seagrass in the Mediterranean Sea, where it forms meadows which play a crucial role in coastal ecosystems dynamics. The study was conducted on the *P. oceanica* meadow of Santa Marinella (Rome, Italy), a Site of Community Importance (according to Habitat Directive 92/43/EEC). Sampling was carried out in April 2010: 20 sampling stations were randomly chosen in the central area of the meadow (13 patches). In each sampling station, three shoots were collected for phenological analyses, phenols determination and for RAPD marker analyses. The study is based on two approaches:

- standard monitoring indicators, which can be classified as structural descriptors at individual level (shoot phenology and biomass) or at population level (bed density and coverage);
- putative diagnostic tools: phenolic compounds and Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers.

Phenolic compounds, as in terrestrial plants, can work as biochemical markers of environmental stress. High phenol concentrations were found in *P. oceanica* leaves exposed to different environmental pressures: competition with *Caulerpa taxifolia* an invasive seaweed, contamination by metals and proximity to intensive fish aquaculture. The increase of phenolic compounds represent a generic response to different environmental stress and hence it can be used to screen the meadows health state. RAPD markers have been used to assess the pattern of genetic diversity and the genetic structure of rare and endangered plants, which provide information for the conservation. The decline of *P. oceanica* can be facilitated by low genetic diversity, which results from a restricted gene flow. Low genetic diversity may result in low resistance, low resilience and limited adaptability to environmental changes. Hence, total phenol content in rhizome and RAPD markers in leaves are inexpensive and uncomplicated methods, potentially useful for *P. oceanica* meadows monitoring. According to standard indicators, the Santa Marinella meadow is defined as "disturbed bed": high levels of total phenols identify the endangered conservation status of the meadow, as RAPD markers identified a low genetic variability. These results confirm that RAPDs, as the total phenols, provide important informations on the meadow. The approach is repeatable and uncomplicated, and it could be useful to introduced in the set of test to state the conservation of *P. oceanica* meadows.

## **Struttura ecologica di *Posidonia oceanica* lungo le coste del Tirreno centrale**

**Giulia Grosso, Alessandro Belmonte, Carla Micheli**

*ENEA Centro Ricerche Casaccia Roma UTRINN-BIO Laboratorio Biomasse e Bioenergie, via  
Anguillarese 301, 00123 S. Maria Di Galeria, Roma, Italy  
giulia\_grosso@libero.it*

Le praterie di *Posidonia oceanica* (L.) Delile occupano circa il 2% della superficie del Mediterraneo. Per i molteplici ruoli che riveste nel mantenere gli equilibri ecologici della fascia costiera, *Posidonia* è considerata essere lo stadio climax di una successione ecologica, utile anche come indicatore della qualità delle condizioni dell'ambiente marino in cui risiede. L'importanza delle praterie, sia da un punto di vista ecologico che economico, ha portato le autorità nazionali, europee e internazionali ad adottare misure di tutela. Nel Mediterraneo si sta assistendo a una progressiva riduzione delle praterie, già in atto da diversi anni. Nel 1959 si estendevano per un totale di 7290 ha, mentre nel 2005 si sono ridotte a 2899 ha, con una perdita del 60% e tale fenomeno non sembra arrestarsi provocando effetti destabilizzanti per l'equilibrio dell'intero ecosistema marino. L'area complessiva occupata dalle formazioni di *P. oceanica* lungo la costa laziale ammonta a circa 14.600 ha, escludendo le isole Pontine. Gran parte di questa è però costituita da "matte" morta o comunque da praterie in evidente stato di degrado. Le praterie della fascia costiera a nord del Tevere hanno una superficie leggermente inferiore rispetto a quelle del settore più meridionale (6.800 ha contro i 7.800 ha). Nel corso degli ultimi anni si sono effettuati aggiornamenti della cartografia di *Posidonia* lungo le coste del Mediterraneo. In questo lavoro l'attenzione si è centrata nell'area del Tirreno centrale compresa tra Civitavecchia e Ladispoli. Si è cercato di definire il più possibile, oltre alla loro estensione, anche il margine superiore e inferiore e lo stato di salute (copertura, presenza di matte morta, ecc.) delle praterie presenti. Da una prima osservazione delle carte (Side Scan Sonar) è stato possibile farsi un'idea generale della varietà del fondale. La presenza di *P. oceanica* non risulta essere di altrettanto facile interpretazione, per questo si è ricorso all'integrazione dei dati tramite immersioni puntuali e transetti ROV. L'area presa in considerazione per questo lavoro racchiude quattro Siti d'Importanza Comunitaria. I 54 Km di piattaforma continentale antistante Punta Capo Linaro fino alla foce del fiume Tevere sono più stretti e acclivi della media delle piattaforme italiane, con ampiezza di circa 20 km. Le praterie del Lazio presentano una fisionomia simile caratterizzata dalla presenza di tre fasce sub parallele alla costa. 1) Nella prima, situata sotto costa, prevale il substrato roccioso con fasci più o meno densi. 2) Segue un'ampia zona di *Posidonia* su "matte" fino ai 15-20 metri di profondità. A causa delle modificazioni delle condizioni ambientali degli ultimi anni, la densità (tra i 200 e i 350 shoot/mq) e le percentuali di ricoprimento (60-80%) risultano essere basse. 3) Infine troviamo una zona costituita da un mosaico di roccia e sabbia che a volte può terminare in un'area di "matte" morta solitamente al confine del fondale sabbioso. È stato quindi possibile determinare come la distribuzione attuale delle praterie del Tirreno centrale non sia variata sostanzialmente a livello dei limiti, superiore e inferiore, rimasti più o meno gli stessi. Ma la condizione di regressione delle praterie è chiaramente documentata dall'abbondante presenza di "matte" morta concentrata nella fascia batimetrica tra i 15-20 metri, soprattutto nella zona compresa tra S. Marinella e S. Severa, che non risulta essere aumentata nel corso di questi ultimi anni ma è un evidente segnale di regressione avvenuta negli anni passati. Per tale motivo in quest'area è iniziata un'opera di riforestazione a partire dagli anni 2004-05, supportata sia da studi fisiologico-genetici che da monitoraggi satellitari.

## **Corallinales Identification Integrated System**

**Guido Bressan<sup>1</sup>, Lorenza Babbini<sup>2</sup>, Furio Poropat<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli studi di Trieste, via Weiss, 2, 34127 Trieste*

<sup>2</sup> *Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale (ISPRA), via di Casalotti, 300, 00166 Roma*  
gbressan@units.it

Una ricca quanto specialistica letteratura scientifica comprova che le Corallinales rivestono un ruolo fondamentale negli ecosistemi marini, considerate spesso come veri e propri “indicatori ecologici” in grado di fornire informazioni sostanziali sui cambiamenti ambientali nel medio – lungo periodo (persino a livello di ere come palaeomarkers). Un riscontro è fornito, ad esempio, dai processi adattativi meccanomorfici che imprime un'impronta spesso intelligibile sui talli calcarei. Non è raro, infatti che, fenomeni di polimorfismo (variabilità intraspecifica), convergenza morfologica (variabilità interspecifica), variazioni morfometriche anche rilevanti, si manifestino con una certa frequenza rendendo l'identificazione particolarmente impegnativa se non impossibile. Queste difficoltà sono accentuate spesso in particolare dalla mancanza/scarsità di caratteri tassonomici diacritici, fortemente determinanti, affidabili, difficili da reperire. Nell'intento di contribuire a un pronto e relativamente agevole riconoscimento dei campioni raccolti, il nucleo del presente lavoro è stato costruito attorno a due diversi processi identificativi mirati a perseguire finalità diverse anche se complementari: l'uno, sotto il titolo di “Glossario - Atlante”, l'altro, di “Identi-Key”. La prima chiave (“Glossario - Atlante”) ha la struttura tipica di una chiave dicotomica canonica (monotetica), dove si procede per scelte singole (Single Access Key – SAK) all'“interno” di una sequenza guidata, di domande e risposte alternative, gerarchizzate dalla più generale alla più particolare, proposte al lettore secondo criteri pre-scelti, indotti dall'autore, quindi obbligati, per cui si parla di una struttura “chiusa”, dove l'identificazione tassonomica avviene per la presenza di almeno un carattere discriminante (diacritico). La seconda chiave (“Identi-Key”) ha struttura aperta, le scelte possono essere multiple (Multiple Access Key – MAK), e indipendenti dal rango dei caratteri come in una vera e propria chiave ad accesso casuale, quale appunto un “Identikit”, dove l'identificazione avviene in funzione di una “combinazione di caratteri” (chiave politetica). La scelta della forma “Glossario - Atlante”, ricca d'immagini, è stata mirata all'introduzione di un “glossario figurato” che diventa non solo accessorio, ma strumento e parte integrante per facilitare l'apprendimento del linguaggio (quindi con finalità formative) durante e attraverso la selezione dei caratteri determinanti. Con questo metodo viene contestualmente proposto un modello di approccio “empirico”, secondo il quale l'ordine di analisi dei caratteri tassonomici va da quelli macromorfologici (prevalentemente fenotipici, esterni e più variabili) a caratteri micro-, anatomico - citologici, più costanti, quindi più affidabili. La scelta dell'“IdentiKey” è rivolta non soltanto a neofiti, ma anche, e piuttosto, a chi ricerca uno strumento in grado di fornire con pronto riscontro, una immediatezza di consultazione e precisione nella identificazione delle Corallinales del Mediterraneo. Va sottolineato che con questo complesso di guide e database (Corallinales Identification Integrated System) ci si è proposti di fornire un insieme di strumenti mirati alla determinazione di campioni raccolti anche in presenza di caratteri esclusivamente vegetativi, pur riconoscendo che una identificazione macroscopica può portare spesso solo a una ragionevole probabilità di appartenenza di un dato campione a un determinato taxon.

## Constraints of the application of the Growth Rate Hypothesis to microalgae

Matteo Palmucci, Mario Giordano

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via  
Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy  
m.palmucci@univpm.it*

The Growth Rate Hypothesis (GRH) predicts a positive correlation between growth rate, RNA and P content of organisms, because the growth rate depends on the protein synthesis machinery. However the application of this hypothesis to the photoautotrophic organisms is questionable and appears to be verified only when environmental N:P is low. It should be noted that in a large number of microalgae P is stored as polyphosphate and the P cell quota could therefore be appreciably affected by the size of the polyphosphate pool. The GRH hypothesis may thus be masked by the utilization of P as its indicator. In this paper we tested the GRH hypothesis on four species of different taxonomy and investigated the actual relationship between RNA, P and proteins.

We cultivated two microalgae belonging to the green lineage (*Dunaliella salina* and *Tetraselmis suecica*) and two belonging to the red lineage (*Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana*). We used an artificial culture medium with different  $[\text{SO}_4^{2-}]$  and with a constant N:P of 8.3. We measured the cells and the average cell volume with an automatic cell counter and we calculated the specific growth rate for each condition. The N content was measured with an elemental analyzer and the P content by Total Reflection X-ray Fluorescence (TXRF) spectroscopy. The protein content was measured with a modified Lowry's method. The RNA was extracted and its content was determined spectrophotometrically. We also acquired the Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra of extracted RNA and found that the peaks occurring at  $\sim 1260$  and  $\sim 1014$   $\text{cm}^{-1}$  best correlated with the measured amount of RNA ( $r = 0.89$ ).

The P quota was positively related to the RNA cell content ( $r = 0.86$ ) and the same was true for the cell RNA and protein contents ( $r = 0.87$ ). The correlation between RNA content and growth rate was strong ( $r = 0.88$ ) only when the growth rate was below  $0.78 \text{ d}^{-1}$ . Interestingly, when the results were expressed with respect to the  $\text{SO}_4^{2-}$  availability in the medium, the protein to RNA ratio of the green algae increased when  $\text{SO}_4^{2-}$  increased, whereas it decreased in the two algae of the red lineage. This may suggest that the protein synthesis machinery of the two algae of the red lineage was more efficient (i.e. required less RNA per protein synthesized) than that of the two green algae. This fits with the fact that the red lineage started to dominate marine phytoplankton in the Mesozoic, when the  $\text{SO}_4^{2-}$  concentration increased.

In conclusion, in our experimental conditions, the GRH hypothesis appears to hold if microalgae have a growth rate between  $0.50$  and  $0.78 \text{ d}^{-1}$ . Interestingly, the availability of  $\text{SO}_4^{2-}$  appears to affect differently the RNA to protein ratio in species of the two evolutionary lineages and this may have played a role in the evolution of marine phytoplankton.

## Is algal response to external perturbation influenced by the growth rate?

Andrea Fanesi, Mario Giordano

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via  
Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy  
fanacci@katamail.com*

Microalgae may respond to changes in the external environment by either acclimation (i.e. changes in composition and function to optimize cell functions and growth to the new situation) or by the maintenance of the *status quo* (functional and/or compositional homeostasis). The selection of one of these two strategies was postulated to depend on a combination of intensity and duration of the perturbation, an intense and long term perturbation being more likely to lead to acclimation.

We hypothesized that the cells perceive the duration of perturbation as a function of their division rates. In other words, a population that divides at a slower rate should be more prone to choose homeostasis (or maintain homeostasis for a longer absolute time) than one that divides faster, for a perturbation of equal duration and intensity.

In order to test this hypothesis, semi-continuous cultures of the green algae *Tetraselmis suecica* were maintained at two growth rates, 0.15 d<sup>-1</sup> and 0.43 d<sup>-1</sup>. The cells were then subjected to three environmental changes: an increase in salinity (from 30 to 50 psu), a change in the source of nitrogen (from N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> to N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), and a reduction in irradiance (from 100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> to 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> PAR). The degree of functional and compositional homeostasis in the short (24 hours) and long (20-30 days) term was studied. Compositional homeostasis was assessed by Fourier transform infrared spectroscopy, elemental analysis conducted by a GC elemental analyzer and a X-ray fluorescence total reflection spectrometer, spectrophotometric protein and chlorophyll determinations. Functional homeostasis was assessed in terms of photosynthetic performance and determined with a pulse-amplitude-modulated fluorometer.

The results are discussed with respect to their (eco)physiological and evolutionary implications.

## **Investigation of growth responses and cell composition in four microalgal species grown at very high CO<sub>2</sub> concentration**

**Simona Ratti, Yakov Paz, Mario Giordano**

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via  
Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy  
s.ratti@univpm.it*

Microalgae are potentially able to sequester substantial amounts of CO<sub>2</sub> thanks to the high efficiency of their photosynthesis and their high scope for growth. The use of algal cultures to transiently fix CO<sub>2</sub> from industrial flue gases to mitigate anthropogenic global changes is often mentioned in the popular and scientific literature. However the approach proposed in these publications is mostly empirical and does not take in consideration the physiological ability of different species to cope with high CO<sub>2</sub> concentrations.

Growth of algae is maximal when a correct balance of all nutrients is maintained. An increase of C availability may lead to an alteration of this balance and may not be beneficial in terms of growth. Also resource allocation, and thus the cell composition (e.g. quantity and quality of lipids, carbohydrates, proteins), depends on the absolute and relative amounts of nutrients. Different ratio of nutrient supply rates can affect the quality of microalgal biomass and thus influence its potential utilization. It is obvious, in fact, that the utilization of biomass is necessary to make CO<sub>2</sub> fixation a profitable process from both an environmental and commercial point of view: in fact, the CO<sub>2</sub> fixed cannot be indefinitely stored in the biomass since it would be released as soon as the organic matter is degraded.

The overall productivity of such process strongly depends on species-specific metabolic properties and on the ability of the algae to cope with the consequence on the physical and chemical environ (e.g. pH, temperature) of the provision of very high level of CO<sub>2</sub> as those contained in flue gases.

In this work we investigated growth and photosynthetic responses, resource allocation and biomass quality of four different microalgal species (*Dunaliella salina*, *Botryococcus braunii*, *Phaeodactylum tricorutum* and *Thalassiosira pseudonana*) cultured at atmospheric CO<sub>2</sub> concentration (0.039% CO<sub>2</sub>) and at a typical CO<sub>2</sub> concentration in industrial smokes (8% CO<sub>2</sub>), in the presence of high N concentration (0.55 mM).

The results will be discussed with respect to their ecophysiological and ecological implications and with reference to the potential use of these microalgal species for CO<sub>2</sub> sequestration and bioremediation.

## Do nitrogen assimilation and CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms (CCM) of cyanobacteria compete for energy?

Zuoxi Ruan, Mario Giordano

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, via  
Brecce Bianche, 60131 Ancona, Italy  
run@stu.edu.cn*

Cyanobacteria counteract the usually low ability of rubisco to discriminate in favor of carboxylation rather than for oxygenation by expressing energy dependent CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms (CCM). Cyanobacteria can assimilate N in a variety of inorganic and organic forms. The amount of energy they use for N incorporation into organic matter varies with the N source. Consequently, we hypothesize that, under energy limitation, the source of N may have an impact on CCM activity.

To test this, an oceanic strain of *Synechococcus* sp. was cultured at ambient CO<sub>2</sub> (which determines the induction of the CCM), in the presence of either NO<sub>3</sub><sup>-</sup> or NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and at an irradiance of 100 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (12h light : 12h dark) that affords about 30% of the light saturated photosynthetic rate.

The results showed that *Synechococcus* sp. grew faster (30.6%), contained more pigments (chlorophyll *a* 48%, phycocyanin 37%, allophycocyanine 52%, and phycoerythrin 69%) and protein (28%), and had higher maximum photosynthetic rate (64%) and higher photosynthetic affinity (63.0%) for inorganic C, when NH<sub>4</sub><sup>+</sup> was the N source than when N was supplied as NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. The cell quotas of C, N, S and of micronutrients and the relative amounts of the main organic and elemental pools were not significantly different.

The hypothesis appears thus to be verified: indeed the photosynthetic behavior of *Synechococcus* is indicative of a higher CCM activity when N assimilation was less expensive in terms of energy. Interestingly, the higher growth and photosynthetic performance of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-grown cells was attained without altering the relative organic and elemental stoichiometry (as compared to the NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-grown cells). This suggests that the availability of more energy does not elicit the induction of different metabolic pathways, but only a quantitative modulation of the resource allocation patterns.

## **Isolamento parziale di un gene di *Scenedesmus acutus* omologo al gene *SULP* della solfato permeasi cloroplastica di *Chlamydomonas reinhardtii***

**Anna Torelli, Matteo Marieschi, Corrado Zanni, Valeria La Rosa**

*Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale sez. Biologia Vegetale, Università degli Studi di Parma, Parco delle Scienze 11/A, 43100 Parma, Italy*  
anna.torelli@unipr.it

In *Scenedesmus acutus* si è osservato un aumento della tolleranza al Cr(VI) sia nel ceppo wild type, che in un ceppo Cr-tollerante isolato in laboratorio a seguito di privazione di solfato. Questo aumento di tolleranza è un fenomeno transiente e viene perso dopo 2 giorni di coltura in terreno standard (Gorbi et al. 2007). È noto che il Cr(VI) entra nella cellula attraverso i trasportatori del solfato. Per valutare se l'aumento transiente di tolleranza sia dovuto alla induzione di trasportatori con maggiore affinità per il solfato si è tentato di isolare i geni codificanti per solfato permeasi in *S. acutus*. Il genoma nucleare di *Scenedesmus* non è noto, solo il genoma mitocondriale e cloroplastico sono stati infatti sequenziati (Kuck et al. 1990, Winkler e Kuck, 1991, de Cambiaire et al. 2006). Per identificare i geni omologhi sono stati quindi costruiti dei primer disegnati sulla base delle regioni conservate delle diverse classi di trasportatori del solfato identificati in *Chlamydomonas reinhardtii* e in altre alghe verdi. In questo modo è stato possibile clonare una sequenza parziale di un gene codificante una proteina con elevata omologia per la subunità CysT della solfato permeasi cloroplastica di *C. reinhardtii* (SULP) ed altre alghe verdi e di solfato permeasi di cianobatteri di tipo ABC transporter (Chen et al. 2003). Il frammento clonato contiene 3 dei 6 domini transmembrana presenti nella subunità CysT che insieme alla subunità CysW forma il canale per il trasporto del solfato attraverso l'involucro plastidiale (Lindberg e Melis, 2008). Il gene *CysT* non è stato ritrovato nel genoma né cloroplastico né nucleare delle piante superiori è invece conservato in diverse alghe verdi e nell'epatica *Marchantia polymorpha* dove è localizzato sul genoma cloroplastico. In *C. reinhardtii*, pur codificando per una proteina con destinazione cloroplastica il gene è migrato nel nucleo, acquisendo il codice genetico del genoma nucleare e la presenza di quattro sequenze introniche. Anche in *S. acutus* sembra essere avvenuta una migrazione a livello nucleare, infatti il gene non si ritrova a livello del genoma cloroplastico. Analisi preliminari mediante RT-PCR mostrano che la trascrizione del gene è indotta da privazione di solfato.

Chen H.C., Yokthongwattana K., Newton A.J., Melis A. (2003). *Planta* 218: 98-106  
de Cambiaire J.C., Otis C., Lemieux C., Turmel M. (2006). *BMC Evolutionary Biology* 25: 6-37  
Gorbi G., Zanni C., Corradi M.G. (2007). *Aquatic Toxicology* 84: 457-464  
Kuck U., Godehardt I., Schmidt U. (1990) *Nucleic Acids Research* 18(9): 2691-2697  
Lindberg P., Melis A. (2008) *Planta* 228: 951-961  
Winkler M., Kuck U. (1991). *Current Genetics* 20(6): 495-502

**Indice degli autori**

Accoroni S.	12, 14	Montresor M.	2, 16
Abdelahad N.	28	Moro I.	7, 8, 9, 27
Acquavita A.	3	Palmucci M.	32
Albertano P.	22, 23	Paz Y.	34
Alongi G.	26	Penna A.	12, 14, 17,18
Andreoli C.	9	Perilli A.	22
Antonucci A.	6	Perini F.	14
Babbini L.	31	Petrocelli A.	7, 8
Barra L.	16	Pezzolesi L.	13
Bastianini M.	15	Pichierri S.	12
Battocchi C.	12, 14	Pinto G.	21
Belmonte A.	29, 30	Pistocchi R.	13
Belmonte G.	5	Pollice A.	28
Belmonte M.	5	Pollio A.	21
Bernardi Aubry F.	15	Poropat F.	31
Bertozzini E.	18	Portacci G.	8
Bressan G.	31	Porzio L.	11
Bruno L.	22	Poulin M.	25
Buia M.C.	11	Procaccini G.	2
Casabianca A.	14	Ratti S.	34
Casabianca S.	17	Rinaldi A.	10
Cecere E.	7, 8	Rindi F.	20
Cegna A.	17	Romagnoli T.	12, 15
Celio M.	3	Rotini A.	29
Ciniglia C.	21	Ruan Z.	35
Colombo F.	12	Rubino F.	5
Congestri R.	6	Ruffolo L.	4
Cozza D.	4	Ruggiero M.V.	16
Cozza R.	4	Sarno D.	4, 16
Cugliari D.	4	Saunders N.	17
D'Aietti A.	3	Sausen N.	24
De Luca P.	16	Scalco E.	2
De Rosa I.	3	Scepi E.	28
De Stefano M.	6	Sciuto K.	8, 9, 27
Di Pippo F.	22, 23	Sfriso A.	7, 10
Ellwood N.T.W.	23	Sirago S.	28
Fanesi A.	33	Socal G.	15
Ferrante M.I.	2	Tesson S.	2
Ferrari C.	10	Torelli A.	36
Finotto S.	15	Totti C.	12, 14, 15
Galluzzi L.	17, 18	Tullio M.A.	28
Giordano M.	32, 33, 34, 35	Valiante L.M.	29
Gismondi A.	22	Vanucci S.	13
Grosso G.	30	Verlaque M.	7
Guerrini F.	13	Vis M.L.	1
Guiry M.D.	20	Wolf M.A.	7, 8, 9, 27
Honsell G.	3	Zanatta L.	3
Iovinella M.	21	Zanello A.	3
Kooistra W.H.C.F.	2, 16	Zanini Branco L.H.	19
La Rosa V.	36	Zanni C.	36
Lasinio G.J.	28	Zingone A.	16
Maggs C.A.	27		
Magnani M.	17, 18		
Malavasi V.	24		
Marieschi M.	36		
Martins Lemes da Silva N.	19		
Micheli C.	29, 30		
Migliore L.	29		
Moniz M.B.J.	20		