



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA

**DOTTORATO DI RICERCA IN
BIOLOGIA APPLICATA E MEDICINA SPERIMENTALE
Ciclo XXIX**

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Salvatore Cuzzocrea

**Distribuzione spazio-temporale del mollusco pteropode
Limacina helicina antarctica,
specie chiave nella zona occidentale del Mare di Ross
(Oceano Antartico)**

Tesi di Dottorato:
Dott. Roberto Alampi

Tutor: Chiar.mo Prof. Giacomo Zagami

Co-Tutor: Chiar.ma Prof.ssa Maria Rosa Felice

Triennio 2014-2016

INDICE

INTRODUZIONE

STATO DELLE CONOSCENZE	3
-------------------------------------	---

CAPITOLO 1.

1.1. L'ANTARTIDE	4
1.2. ACIDIFICAZIONE DEGLI OCEANI	7

CAPITOLO 2.

GLI PTEROPODI

2.1. TASSONOMIA	9
2.2. MORFOLOGIA E MOVIMENTO DELLA CONCHIGLIA	11
2.3. FORMAZIONE E FUNZIONE DEL GUSCIO DI ARAGONITE	11
2.4. BIOLOGIA E NUTRIZIONE	13
2.5. CICLO DI VITA E RIPRODUZIONE	14
2.6. DISTRIBUZIONE GLOBALE E VERTICALE	15
2.7. LE FLUTTUAZIONI NELLA DISPONIBILITÀ DI CIBO E LA QUALITÀ DEGLI ALIMENTI	18
2.8. PREDAZIONE	20
2.9. RIPRODUZIONE	21
2.10. DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA	22
2.11. RUOLO ECOLOGICO	23

CAPITOLO 3.

3.1. DNA BARCODING: UN NUOVO APPROCCIO TASSONOMICO NELL'ERA DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE	24
3.2. CARATTERISTICHE MOLECOLARI DEI GENI MARCATORI UTILIZZATI NEL DNA BARCODING	25
3.3. FASI PROCEDURALI PER L'ANALISI DI UN CAMPIONE MEDIANTE DNA BARCODING	26

SCOPO DELLA TESI	27
-------------------------------	----

CAPITOLO 4.

MATERIALI E METODI

4.1. AREA DI STUDIO	28
4.2. CAMPIONAMENTO	31
4.2.1. Campagna POLAR QUEEN (1987-88)	32

4.2.2. Campagna CARIBOO (1989-90)	34
4.2.3. Campagna ROSSMIZE (1994-95).....	36
4.2.4. Campagna PIPEX (1997-98).....	38
4.2.5. Campagna ECOFISH (2005-06).....	39
4.2.6. Campagna CEFA (2015-16).....	40
4.3. PROCEDURE DI LABORATORIO.....	41
4.3.1. Analisi quali-quantitative.....	41
4.3.2. Analisi molecolare.....	42
<i>CAPITOLO 5.</i>	
RISULTATI	
5.1. POLAR QUEEN.....	45
Distribuzione orizzontale	45
Distribuzione verticale	47
5.2. CARIBOO.....	48
Distribuzione orizzontale	48
Distribuzione verticale	50
5.3. ROSSMIZE.....	52
Distribuzione orizzontale	52
Distribuzione verticale	53
5.4. PIPEX.....	57
5.5. ECOFISH.....	58
5.6. CEFA.....	59
Barcoding	59
<i>CAPITOLO 6.</i>	
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	64
BIBLIOGRAFIA	71

INTRODUZIONE

STATO DELLE CONOSCENZE

Le ricerche condotte fino ad oggi sullo zooplancton nell'Oceano Meridionale, e specialmente nel Continente Antartico, sono state tradizionalmente focalizzate su una specie che ricopre un ruolo chiave negli ecosistemi di queste regioni, qual è il krill (*Euphausia superba*), includendo anche diverse specie di copepodi come *Calanoides acutus*, *Rhincalanus gigas* e *Metridia gerlachei* (Schnack-Schiel & Hagen 1994; Franz & Gonzalez 1997; Atkinson 1998; Voronina 1998). Più recentemente, è stato aggiunto in questa lista di organismi il tunicato *Salpa thompsoni*, data la sua alta densità stagionale e il suo alto tasso di grazing che hanno contribuito al flusso verticale di materiale particellato, nonché al suo continuo aumento nelle regioni del Sud in risposta al surriscaldamento dell'oceano (Pakhomov et al. 2002; Atkinson et al. 2004). Nonostante ciò, i dati su altri gruppi planctonici sono insufficienti, ed invece, sarebbero interessanti per comprendere meglio il funzionamento degli ecosistemi dell'Oceano Meridionale e gli impatti ecologici dei cambiamenti climatici. Negli ultimi anni, uno di questi gruppi che sta suscitando l'attenzione di diversi studiosi è la classe degli pteropodi, un termine generico utilizzato per indicare un gruppo di molluschi gasteropodi che si sono adattati completamente ad un ciclo di vita pelagica. Sebbene essi rappresentano una grossa percentuale del mesozooplancton delle regioni polari, fino a poco tempo fa il ruolo degli pteropodi negli ecosistemi dell'Oceano Meridionale è stato in gran parte ignorato e pochi studi si sono concentrati sulla loro ecologia e biologia. Solo di recente i tecosomati si trovano al centro di un vasto interesse scientifico per lo studio degli oceani, in quanto, potrebbero subire un forte impatto dai possibili cambiamenti climatici, con conseguenze che andrebbero a ripercuotersi a livello degli ecosistemi polari. La conseguenza dell'aumentata acidità degli oceani, potrebbe portare quindi un cambiamento importante nella distribuzione degli pteropodi, ipotizzando anche una loro eventuale scomparsa dagli ecosistemi dell'Oceano Meridionale, ed un successivo impatto a cascata sull'intera rete trofica marina. Tuttavia, come l'eventuale scomparsa di questa specie possa influire sull'intero ecosistema artico e antartico è ancora da chiarire. Proprio per chiarire queste problematiche, negli ultimi anni le ricerche si sono incentrate sullo studio di una classe di pteropodi e nello specifico, della specie *Limacina helicina* (Phipps, 1774). Essa fu descritta per la prima volta nelle acque artiche da Martens (1675), oggi conosciuta per essere una specie bipolare, cioè comune sia nell'Artico che nell'Antartico (Van der Spoel 1967; Bé & Gilmer 1977). *Limacina helicina* gioca un ruolo chiave negli ecosistemi costieri polari, nei quali essa rappresenta più del 50% di biomassa dello zooplancton (Sakshaug et al. 1994).

1.1. L'ANTARTIDE

Gli ambienti polari rappresentano il luogo principale in cui si realizzano i maggiori scambi tra atmosfera e oceano grazie alle basse temperature che sostengono i processi di assorbimento dei gas atmosferici, in particolare di CO₂. Per questo motivo le alterazioni dei cicli biogeochimici di queste regioni, con la conseguente variazione di CO₂ in atmosfera, possono avere un forte impatto sul clima globale. Il Continente Antartico è circondato interamente dall'Oceano Meridionale o Antartico, che occupa un'area di circa 36 milioni di km², rappresentando il 10% degli oceani della Terra. L'Oceano Meridionale gioca un ruolo molto importante anche nel ciclo globale del carbonio, degli elementi biogenici, come azoto, fosforo e silice (Legendre & Michaud 1998) e nel ciclo globale della materia (Sullivan et al. 1993).

La pompa del carbonio dipende dalla sedimentazione in profondità di organismi che presentano un rivestimento carbonatico. La "soft-tissue pump" (pompa biologica della CO₂) è attivata dall'incorporazione fotosintetica di carbonio inorganico in molecole organiche da parte di alghe microscopiche, seguita da un trasporto del fito-detrito verso le acque profonde. La produzione primaria (il carbonio fotosintetizzato) può essere metabolizzata dagli organismi e restituita come CO₂ all'atmosfera, attraverso la respirazione o può essere incanalata tramite esportazione verticale di materiale in sedimentazione e/o attraverso la biomassa dei grandi consumatori. La struttura della rete trofica che sostiene l'ecosistema antartico risulta quindi più complessa rispetto alla classica rete alimentare che si basava sul solo flusso di carbonio dalle diatomee-al krill-ai predatori superiori. La rete trofica oggi si basa sulle componenti più piccole, ma sicuramente più abbondanti dell'oceano, quali: il picoplancton, il nanoplancton e il microplancton. L'estate australe rappresenta il periodo di massima efficienza della produzione dei consumatori. Le diatomee, che caratterizzano la fase primaverile, vengono soppiantate da organismi autotrofi di dimensioni inferiori (<20µm). Dal punto di vista geografico l'Oceano Antartico è suddiviso in vari mari. I principali sono: il Mare di Ross, il Mare di Weddell, il Mare di Scotia. Mari secondari di minor estensione sono il Mare di Lazarev e il Mare di Riser-Larsen. Il Mare di Ross, dove la temperatura rimane vicino -1.8°C per la maggior parte dell'anno (Littlepage 1965; Mahoney et al. 2011), occupa un'estesa baia che si incunea nel Continente Antartico ed è limitato ad Est dalla Terra di Re Edward VII, ad Ovest dalla Terra della Regina Vittoria, a Sud dalla barriera di ghiaccio (Ross Ice Shelf, RIS), mentre il limite settentrionale può identificarsi nella congiungente Capo Adare-Capo Colbek. Le profondità di questo mare non sono elevate e superano i 400-500

metri soltanto verso l'estremità settentrionale, a molta distanza dalla costa. Il RIS è una piattaforma di ghiaccio permanente di grande importanza, in quanto determina una circolazione che fa sprofondare acqua fredda, la quale viene distinta in: acqua di fondo a bassa salinità (Low Bottom Shelf Water-LBSW) e acqua di fondo ad alta salinità (High Bottom Shelf Water-HBSW) (Jacobs et al. 1970; Gordon & Tchernia 1972). Quest'ultima, chiamata anche Ross Sea Bottom Water (RSBW), è formata dal mescolamento di acque profonde e di piattaforma. Tali acque si distribuiscono omogeneamente al di sotto dei 400m di profondità, ed alimentano le correnti di fondo che sono responsabili del trasporto di acqua fredda alle latitudini più basse, giocando un ruolo chiave nella circolazione oceanica globale.

Un'altra caratteristica del Mare di Ross è la formazione stagionale della polynya, un'area di ghiaccio sottile e di acque libere, circondata dal pack ice. Questo fenomeno è determinato da forti venti catabatici provenienti dal plateau continentale (Bates et al. 1998); ha origine a Nord del RIS e, espandendosi rapidamente in ampiezza nel mese di Novembre, va a costituire la più ampia polynya della regione. Una polynya di piccole dimensioni, che persiste per buona parte dell'inverno, si sviluppa a BTN, a Nord della lingua di ghiaccio del Drygalski (Arrigo et al. 1999). Le zone di polynya sono caratterizzate da intense fioriture fitoplanctoniche e rappresentano le aree più produttive dell'Oceano Antartico. Durante la primavera e l'estate, l'introduzione di una grande quantità di acqua a bassa salinità e ad elevato tenore di nutrienti, derivante dallo scioglimento dei ghiacci marini, e l'adeguata radiazione luminosa, garantiscono un'ottimale crescita del fitoplancton (Smith & Gordon 1997).

Baia di Terra Nova è il sito di una polynya costiera con ricorrenza annuale nella zona occidentale del Mare di Ross, la quale è stata descritta per la prima volta da Bromwich & Kurtz (1984) e, più recentemente, in termini di distribuzione di masse d'acqua e variabilità termalina è stata analizzata da Budillon & Spezie (2000). Studi precedenti in questa area (Innamorati et al. 1999) hanno dimostrato la presenza di un massimo di clorofilla nel tardo Dicembre, seguito da una temporanea diminuzione della biomassa fitoplanctonica e poi da un altro massimo in Febbraio. È stato osservato che la stabilità della colonna d'acqua gioca un ruolo importante nel favorire e mantenere la fioritura nella polynya. Una fioritura molto vasta e persistente di *Phaeocystis antarctica* (nanoflagellati) è stata osservata in questa area da metà a fine Gennaio (Arrigo & McClain 1994; Fonda Umani et al. 2002). Nella prima parte della fioritura primaverile sono state osservate in proporzioni uguali *P. antarctica* e diatomee, mentre successivamente, la composizione della comunità appare fortemente influenzata dall'alternanza della dominanza di nano e microfitoplancton.

Nel ghiaccio marino antartico si sviluppa una complessa comunità composta da organismi autotrofi ed eterotrofi che vanno a costituire una vera e propria rete trofica di produttori primari, consumatori e decompositori (Duffy & Stachowicz 2006; Reiss et al. 2010). Dopo molti studi a carattere prevalentemente tassonomico, soltanto dagli anni 60 si sono sviluppate ricerche sulla composizione delle comunità algali simpagiche (dal greco συν = associato a, con; e παγωσ = ghiaccio), sulla loro fisiologia e sulle modalità con cui vengono incorporate nel ghiaccio al momento del congelamento dell'acqua marina in autunno, dove sopravvivono fino allo scioglimento nella primavera successiva. Durante le spedizioni oceanografiche Italiane nel Mare di Ross e a BTN, sono stati raccolti campioni di ghiaccio da diverse località ed in diversi momenti della stagione estiva, e sono stati osservati abbondantissimi popolamenti microalgali (fino a 200 milioni di cellule per litro) dominati da diversi gruppi di diatomee a seconda della loro collocazione nel ghiaccio stesso. Dalle osservazioni effettuate sui campioni superficiali prelevati in vicinanza delle Isole Balleny (situate a Nord della Terra Vittoria), nel Mare di Ross e nella Tethys Bay (nei pressi della Base Italiana), è apparsa la dominanza di *Fragilariopsis curta*, la stessa specie che è responsabile di importanti fioriture nella colonna d'acqua. Da blocchi di pack frammentati e vaganti e dal margine del pack, sempre in vicinanza della costa a BTN, sono stati osservati popolamenti superficiali dominati da un'altra diatomea (probabilmente appartenente alla famiglia delle *Naviculaceae*). Altri campioni invece, prelevati nel settore pacifico dell'Oceano Meridionale, tra il 68° e il 69°S, sono risultati dominati da *P. antarctica*, una piccola specie (5-6µm di diametro), appartenente alla classe delle *Prymnesiophyceae*, che determina abbondantissime fioriture nelle acque antartiche.

Man mano che si sono accumulati e confrontati gli studi e le osservazioni, è apparsa comunque sempre più chiara la ricchezza e l'importanza che le comunità simpagiche hanno in questi ambienti. Infatti, queste microalghe costituiscono una grossa riserva di cibo non solo per gli stadi larvali, ma anche per le forme adulte di molti organismi (copepodi, krill, pesci), che permette loro di superare il periodo invernale e l'inizio della primavera quando la disponibilità di fitoplancton nella colonna d'acqua è scarsa.

Quasi 30 anni di campagne di ricerca in Antartide (progetti come POLAR QUEEN, CARIBOO, ROSSMIZE, BIOSESO, ROAVERRS, ABIOCLEAR, CLIMA, SEAROWS, PIPEX, PIED e CEFA), hanno portato ad avere un enorme archivio di campioni da analizzare (carote di ghiaccio e di sedimento, box-core, bioness e campioni di trappole di sedimento), per migliorare i modelli biogeochimici esistenti e fornire indicazioni sempre più precise sulle variazioni dell'ecosistema antartico marino in relazione ai cambiamenti climatici globali.

1.2. ACIDIFICAZIONE DEGLI OCEANI

Una delle cause principali dei cambiamenti climatici e del riscaldamento globale è sicuramente l'aumento antropogenico della concentrazione atmosferica dei gas serra, di cui l'anidride carbonica (CO_2) è il principale componente. Negli ultimi 200 anni, quasi un terzo del biossido di carbonio totale (CO_2) rilasciato nell'atmosfera dalle attività antropiche è stato introdotto negli oceani (Sabine et al. 2004). Questa "acidificazione degli oceani" può avere un impatto deleterio sui processi energetici degli ecosistemi marini, tra cui la calcificazione, la crescita e il metabolismo negli organismi marini (Seibel & Fabry 2003; Orr et al. 2005; Doney et al. 2009; Hofmann et al. 2010). Il conseguente aumento di CO_2 disciolta nelle acque oceaniche ha portato ad una riduzione di 0.1 unità del pH totale superficiale, che è passato da 8.2 a 8.1 unità (Hönisch et al. 2009). Se le emissioni dovessero continuare indisturbate, il pH potrebbe diminuire perfino di 0.7 unità (Zeebe et al. 2008), influenzando seriamente la biodiversità dell'ecosistema marino, poiché agisce direttamente sui processi fisiologici degli organismi.

Negli organismi antartici, dotati di guscio, il peso della conchiglia è diminuito di oltre il 30%, visto che dalla fine del 1800 è stata dimostrata una ridotta calcificazione (Gattuso et al. 1998; Riebesell et al. 2000; Langdon & Atkinson 2005; Gazeau et al. 2007; Moy et al. 2009). Le specie che attuano processi di calcificazione giocano un ruolo importante nel ciclo del carbonio degli ecosistemi marini. Le maggiori forme minerali biogeniche del carbonato di calcio (CaCO_3) presenti nell'ambiente marino sono: aragonite e calcite (isomorfe del CaCO_3). Tra queste, la forma minerale meno stabile è l'aragonite, poiché ha una solubilità di 1.5 volte maggiore rispetto alla calcite. L'aragonite viene utilizzata preferenzialmente dalla maggior parte degli organismi calcificatori; conseguentemente, sottosaturazione di CaCO_3 guidata da un assorbimento di CO_2 in ambiente marino, può comportare la formazione di scheletri incompleti (Orr et al. 2005). Inoltre, oltre ad incidere sulla calcificazione e sull'acidificazione marina, possono alterare la crescita (Harris et al. 1999; Michaelidis et al. 2005; Shirayama & Thornton 2005; Berge et al. 2006; Hauton et al. 2009), il metabolismo (Reipschlager & Portner 1996; Pörtner et al. 1998; Rosa & Seibel 2008), la riproduzione, lo sviluppo (Kurihara & Shirayama 2004; Kurihara et al. 2007; Dupont et al. 2008), la sopravvivenza (Watanabe et al. 2006; Dupont et al. 2008), e la fotosintesi (Fu et al. 2007) negli organismi marini.

Essendo che *L. helicina* produce una conchiglia costituita da CaCO_3 , contribuisce significativamente sull'esportazione del carbonato e sul flusso del carbonio organico (Berner & Honjo 1981; Collier et al. 2000; Hunt et al. 2008).

Limacina helicina è stato indicato come uno dei primi organismi polari ad essere colpito dall'acidificazione degli oceani e quindi una specie indicatrice sull'impatto di tale acidificazione (Fabry et al. 2008). Un precedente studio ha dimostrato che la sintesi della conchiglia nel pteropode artico *L. helicina*, è molto sensibile al decremento dei valori di pH dell'acqua di mare, con una diminuzione del 28% della calcificazione (Comeau et al. 2009). Si prevede che l'esoscheletro degli pteropodi potrebbe essere gravemente danneggiato nel 2050 lungo la costa settentrionale e centrale della California (Bednarsek et al. 2014). Lo studio degli effetti dell'acidificazione sull'ecosistema marino, ha preso piede negli ultimi anni ed è un importante campo di ricerca, soprattutto per quanto riguarda le previsioni future dell'aumento delle emissioni di CO₂ in atmosfera (Orr et al. 2005; Hönlisch et al. 2009) e il relativo impatto sugli organismi calcificatori marini (Guinotte & Fabry 2008). Inoltre, l'acidificazione dell'oceano è associata a cambiamenti ambientali, come il riscaldamento globale che può alterare lo stato energetico dello zooplancton e può provocare una soppressione metabolica (Seibel et al. 2012). La maggior parte degli esperimenti sull'acidificazione, si sono concentrati sugli pteropodi tipici delle zone fredde, come la specie artica *L. helicina* (Comeau et al. 2009; Lischka et al. 2011).

GLI PTEROPODI

2.1. TASSONOMIA

Gli pteropodi sono un gruppo di molluschi gasteropodi oloplanctonici che hanno adottato un ciclo di vita interamente pelagico (Hunt et al. 2008), essi comprendono organismi appartenenti a due diversi ordini: Thecosomata (pteropodi sgusciati) e Gymnosomata (pteropodi nudi) (Lalli & Gilmer 1989). I tecosomati e i gimnosomati differiscono nella loro morfologia, comportamento e posizione trofica. L'ordine dei tecosomati è ulteriormente diviso nei sottordini Euthecosomata e Pseudothecosomata, che hanno caratteristiche anatomiche differenti. Gli Euthecosomata sono caratterizzati dalla presenza di un guscio calcareo esterno mentre gli Pseudothecosomata al posto della conchiglia calcarea, possiedono una pseudoconca di natura cartilaginea. La classificazione delle specie per i Thecosomata (Fig. 1) è basata sulla morfologia del guscio, mentre per Gymnosomata (Fig. 2) senza guscio è basata sulle caratteristiche anatomiche dell'apparato alimentare (Van der Spoel 1976; Lalli & Gilmer 1989). Finora sono state riconosciute 34 specie di eutecosomi (Bernard 2006). Recenti studi genetici sugli pteropodi hanno suggerito che fosse necessario apportare alcune revisioni tassonomiche per le specie precedentemente raggruppate, dovuto ai nuovi risultati ottenuti basati sull'analisi genetica (Hunt et al. 2010; Jennings et al. 2010) all'interno delle stesse specie derivanti da regioni geografiche differenti (Jennings et al. 2010). La tassonomia degli pteropodi, compreso le famiglie e le specie, è presentata nell'albero tassonomico della Fig. 3.



Fig. 1. Pteropode Tecosoma *Limacina helicina*, (modificata da Gannefors et al. 2005).



Fig. 2. Pteropode Gimnosoma *Clione limacina* (modificata da Raskoff 2005).

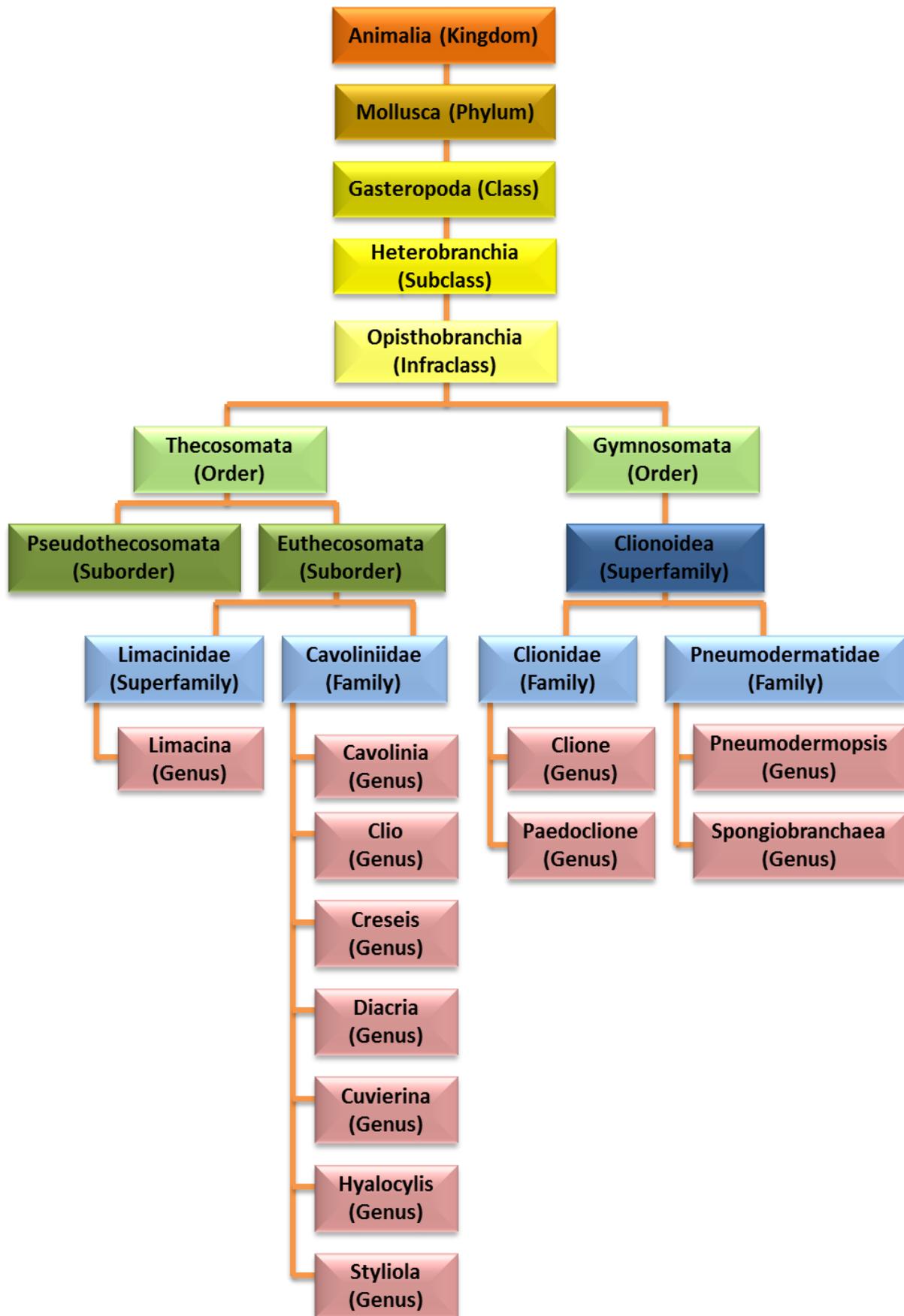


Fig. 3. Albero tassonomico degli pteropodi (modificata da Bednaršek et al. 2012).

2.2. MORFOLOGIA E MOVIMENTO DELLA CONCHIGLIA

Gli pteropodi presentano una conchiglia esterna caratterizzata da carbonato di calcio, con diversa morfologia (Gilmer & Harbison 1986; Sato-Okoshi et al. 2010), da globulare ed arrotolata a spirale (genere *Limacina*), o bilateralmente simmetrica (famiglia *Cavoliniidae*), conica ed aguzza (genere *Creseis*), a forma di bottiglia (genere *Cuvierina*) o piramidale (genere *Clio*) (Gilmer & Harbison 1986; Lalli & Gilmer 1989; Sato-Okoshi et al. 2010). I gimnosomati hanno la conchiglia soltanto nella loro fase giovanile di vita che viene espulsa al momento della metamorfosi (Fabry et al. 2008). Gli pteropodi pseudotecosomati possiedono, inoltre, le coperture durante la fase larvale, che scartano metamorfosandosi in adulti gelatinosi e senza guscio (Fabry et al. 2008). Gimnosomi e pseudotecosomi sono senza guscio durante la maggior parte della loro di vita.

Entrambi i gruppi di pteropodi nuotano agitando i loro parapodi (ali di nuoto) che si sono evoluti dal piede gasteropodo (Lalli & Gilmer 1989; Seibel et al. 2007). Il nuoto attivo dei tecosomati sembra essere usato principalmente per evitare la predazione (Harbison & Gilmer 1992) e per le migrazioni verticali diurne, nuoto che risulta essere un'attività energeticamente dispendiosa (Lalli & Gilmer 1989). Rimangono immobili durante l'alimentazione e mantengono l'equilibrio idrostatico permettendo la diffusione della rete mucosa utilizzata per l'alimentazione (Gilmer & Harbison 1986; Lalli & Gilmer 1989). Gilmer & Harbison (1986) hanno osservato che gli pteropodi tecosomi sono in grado di galleggiare delicatamente (*Cavolinia spp.*, *Diacria spp.*) o di affondare molto lentamente (*Cuvierina spp.*, *Clio spp.*, *Hyalocylis spp.*, *Styliola spp.*, *Creseis spp.*, *Limacina spp.*).

2.3. FORMAZIONE E FUNZIONE DEL GUSCIO DI ARAGONITE

Gli pteropodi eutecosomati formano gusci costituiti di aragonite, che è un polimorfo metastabile del CaCO_3 ed è circa il 50% più solubile in acqua di mare rispetto alla calcite (Mucci 1983). Pertanto, le coperture degli pteropodi sono molto sensibili alla dissoluzione (Orr et al. 2005; Fabry et al. 2008; Comeau et al. 2010a, 2010b; Lischka et al. 2011; Bednaršek et al. 2012b). Invece, accanto ai coccolitoforidi e ai foraminiferi, gli eutecosomi sono i produttori planctonici marini principali del CaCO_3 ed i soli produttori planctonici principali di aragonite, poiché i coccolitoforidi e i foraminiferi producono le coperture di calcite (Hood et al. 2006; Fabry et al. 2008; Doney et al. 2009). Anche se gli pteropodi rappresentano una piccola frazione (10-35%; Fabry 1990; Gangstø et al. 2008) della produzione globale totale del CaCO_3 , possono contribuire ad una parte sostanziale sui livelli regionali e sulle scale temporali (Fabry 1989; Accornero et al. 2003; Fabry et al. 2008).

Gli pteropodi costruiscono i loro gusci nello stesso modo degli altri molluschi (Bandel 1982; Lalli & Gilmer 1989). Il guscio degli adulti di *L. helicina* è costituito da tre strati; uno strato incrociato-lamellare formato da aragonite, considerato per essere assorbito dall'acqua di mare circostante, situato tra uno strato molto sottile esterno (periostraco) e uno strato più spesso prismatico più interno, formato da materiali organici, quali sono i tessuti molli (Sato-Okoshi et al. 2010; Bednaršek et al. 2012c). La struttura del guscio, lo spessore e la forma, sono stati osservati tra *L. helicina* dell'Artico e dell'Antartico in diverse fasi della loro vita (Sato-Okoshi et al. 2010). *Limacina helicina* presenta un guscio sottile (2-9 μ m) che rappresenta un vantaggio evolutivo per la vita pelagica, aumentando la galleggiabilità grazie alla sua leggerezza, e necessitando di meno materiali ed energia per la sua costruzione (Lalli & Gilmer 1989; Sato-Okoshi et al. 2010). Le specie più grandi che appartengono alla famiglia *Cavoliniidae* possiedono le coperture più spesse (>100 μ m), con la microstruttura interna differente (Lalli & Gilmer 1989).

Parecchi studi indicano che gli pteropodi hanno tassi ridotti di calcificazione e la dissoluzione dei gusci di aragonite aumenta una volta esposti ad una elevata pCO₂ con conseguente diminuzione del pH (Feely et al. 2004; Orr et al. 2005; Fabry et al. 2008; Comeau et al. 2009; Bednaršek et al. 2012a). Fattori ambientali come la temperatura, la salinità e, eventualmente, l'abbondanza di cibo influenzano fortemente la crescita, la struttura e la morfologia del guscio degli pteropodi (Schalk 1990; Sato-Okoshi et al. 2010). Osservazioni di Juranek et al. (2003), hanno suggerito che la maggioranza delle calcificazioni in alcune specie, si verifica probabilmente durante il giorno, quando le popolazioni occupano gli strati più profondi d'acqua a causa del loro comportamento migratorio (Wormuth 1981), piuttosto che di notte quando risiedono vicino alla superficie. Il valore adattativo di questa tendenza è noto come il ridotto stato di saturazione di aragonite e le temperature più fredde negli strati d'acqua più profondi che rendono la formazione del guscio energeticamente più dispendiosa e lenta (Juranek et al. 2003). Una spiegazione per una maggiore calcificazione in acque più profonde potrebbe essere non legata principalmente a tassi di saturazione di aragonite, ma che la profondità e la tempistica delle calcificazioni siano fortemente legate ad altri fattori abiotici e biotici che influenzano le loro migrazioni, come: la temperatura, l'intensità della luce, la disponibilità di cibo e la fuga dai predatori (Juranek et al. 2003). La calcificazione stagionale di *Styliola subula* e di *L. helicina* è stata osservata per essere meno intensa in estate/autunno e più intensa in inverno/primavera nel Mar dei Sargassi, quindi potrebbe essere una risposta ai cambiamenti idrografici stagionali (stratificazione termica) nella colonna d'acqua (Juranek et al. 2003).

2.4. BIOLOGIA E NUTRIZIONE

I tecosomi catturano il cibo utilizzando una rete mucosa sferica (eutecosomi), oppure a forma di imbuto (pesudotecosomi), di dimensioni maggiori rispetto alle dimensioni del proprio corpo (Gilmer 1972, 1990; Gilmer & Harbison 1986). I tecosomi sono estremamente sensibili alla turbolenza ed essi scartano o immediatamente ingeriscono (alcuni pseudotecosomi) le reti e cercano rapidamente di fuggire a nuoto se vengono disturbati (Gilmer & Harbison 1986; Gilmer 1990). Essi non si muovono durante l'alimentazione (Gilmer 1990). I tecosomi sono omnivori che consumano prede di tutte le dimensioni (Gilmer 1990), che è una combinazione di organismi intrappolati come protozoi e fito-zooplankton (Gilmer 1990; Gilmer & Harbison 1991). Le preferenze alimentari degli pteropodi dipendono dalla disponibilità alimentare (alimentazione opportunistica) e dalla dimensione degli individui (Gilmer & Harbison 1991; Gannefors et al. 2005). Di conseguenza, la loro fonte di cibo dominante può cambiare in base al loro stadio di vita ed alla loro capacità di gestire le grandi dimensioni; gli individui più piccoli spesso si basano su materia organica quale particellato (ad es. giovani di *L. helicina* nella regione artica; Gannefors et al. 2005; Kobayashi 1974) o sono erbivori, mentre sono omnivori gli individui più grandi (Gilmer & Harbison 1991; Gannefors et al. 2005). Tuttavia, sulla base dei risultati, della composizione dei fecal pellets (FPs) di *L. helicina* (Mare di Ross, Antartide) è stato suggerito che anche molti esemplari di pteropodi più piccoli erano omnivori (Manno et al. 2010). Così, secondo Manno et al. (2010), *L. helicina* è un vero omnivoro, nutrendosi di particelle disponibili e non è un opportunist omnivoro solo in caso di dimensioni maggiori come suggerito da Gilmer & Harbison (1991). Inoltre, l'alimentazione può cambiare stagionalmente a seconda delle fonti di cibo disponibili; è stato osservato che la dieta di *L. helicina* artica consiste in organismi fitoplanctonici che dominano in primavera e in estate, mentre si nutre di materiale organico degradato nel tardo autunno e in inverno (Gannefors et al. 2005). Inoltre, vi era una variazione ancora più sottile nella dieta fitoplancton-dominante di *L. helicina* nel periodo primavera/estate: dominano diatomee in primavera e cambiano in dinoflagellati in estate/autunno (Gannefors et al. 2005). Larve di *L. helicina* sono stati segnalati per fare affidamento su materiale organico particellato proveniente dal Mare Artico ghiacciato (Gannefors et al. 2005; Kobayashi 1974). Infine, Gilmer & Harbison (1991) hanno riportato una parte considerevole della dieta di *L. helicina*, che a metà estate consisteva di zooplankton e di giovani di *L. helicina*. Gli pteropodi tecosomati mostrano quindi comportamenti opportunistici che dipendono dalle fonti di cibo disponibili.

I gimnosomi sono predatori carnivori altamente specializzati (Lalli & Gilmer 1989; Seibel & Dierssen 2003; Seibel et al. 2007). Lo stile alimentare è noto solo per una specie di gimnosomi che si nutre esclusivamente di tecosomi: *Clione limacina* si nutre di *L. helicina* in acque polari e di *L. retroversa* in acque temperate (Lalli & Gilmer 1989). Tuttavia, durante le prime fasi larvali, individui di *C. limacina* si nutrono di fitoplancton, anche se ben presto diventano predatori (Mileikovsky 1970). I gimnosomi hanno evoluto le loro strutture di alimentazione per estrarre i tecosomi dalle loro conchiglie utilizzando delle tecniche di predazione molto efficienti, ed altamente efficiente è la digestione e l'assimilazione delle loro prede (Lalli & Gilmer 1989). È stata la coevoluzione preda-predatore (Seibel et al. 2007). *Clione limacina* si nutre di *L. helicina* anche durante le sue primissime fasi larvali (Conover & Lalli 1972; Lalli & Gilmer 1989). Questa dipendenza alimentare dei gimnosomi sulla loro unica preda può provocare lunghi periodi di digiuno quando la fonte di cibo è scarsa, con conseguenti adattamenti a tale stile di vita (Böer et al. 2005). *Clione limacina* ha sviluppato varie strategie di vita essenziali per la sopravvivenza come il restringimento del corpo, l'utilizzo di componenti del corpo non essenziali per la sopravvivenza (per esempio gonadi), basso metabolismo, specializzazione in biosintesi dei lipidi e lento consumo di lipidi, per far fronte alla limitazione alimentare (Böer et al. 2005, 2007). Campioni di *C. limacina* (raccolti nel Svalbard, nell'Artico) sono sopravvissuti in un acquario per quasi un anno senza cibo (Böer et al. 2007).

2.5. CICLO DI VITA E RIPRODUZIONE

La riproduzione dei tecosomi e dei gimnosomi è relativamente ben studiata (descritta in dettaglio da Lalli & Gilmer 1989). La riproduzione è strettamente legata alle stagioni, con una o due generazioni all'anno ed è correlata con condizioni ambientali favorevoli, come l'abbondanza alimentare.

Una caratteristica riproduttiva comune dei tecosomi è che la maggior parte delle specie sono ermafroditi proterandrici, inizialmente sono maschi e secondariamente femmine, che è coincidente con la degenerazione degli organi riproduttivi maschili (Lalli & Gilmer 1989). I gimnosomi d'altra parte possono funzionare come ermafroditi simultanei a maturità, il che significa che gli organi riproduttivi maschili non degenerano nelle femmine (Lalli & Gilmer 1989; Hunt et al. 2008).

Femmine mature producono uova (Lalli & Gilmer 1989; Gannefors et al. 2005) e in generale la maggior parte di loro muoiono poco dopo la deposizione (Kobayashi 1974; Wells 1976;

Dadon & de Cidre 1992; Gannefors et al. 2005), anche se alcune femmine possono anche sopravvivere fino alla prossima deposizione delle uova (Gannefors et al. 2005).

Le larve schiudono in genere entro 2-6 giorni dopo la deposizione delle uova e iniziano immediatamente ad alimentarsi (Lalli & Gilmer 1989) utilizzando il cibo per la crescita e per l'accumulo dei lipidi necessari (Gannefors et al. 2005). Per svilupparsi in femmine mature, richiedono l'immissione continua di cibo (Gannefors et al. 2005). Bandel & Hemleben (1995), da ricerche condotte sulle specie di tecosomati, hanno confermato che le caratteristiche generali del loro sviluppo iniziale non si discostano da quelle degli altri gasteropodi marini. *Limacina helicina* è una delle specie di pteropodi più studiata, con una durata di vita di 1.5-2 anni. Kobayashi (1974) & Bednaršek et al. (2012a) hanno proposto una durata di meno di 3 anni per *L. helicina antarctica* nel Mare di Scotia (Antartide). Fabry (1989) & Gannefors et al. (2005) hanno proposto anche un ciclo di vita di 1 anno per *L. helicina* nella regione artica. Van der Spoel (1973) & Wells (1976) hanno suggerito un solo anno di vita per *L. helicina* e anche per numerose altre specie di pteropodi.

Per *C. limacina* è stato stimato un ciclo di vita di almeno 2 anni (Böer et al. 2005). Chiaramente, vi è ancora la necessità di ulteriori ricerche a causa della mancanza di dati (per gimnosomi) o grande diversità (per il genere *Limacina*). Dalle osservazioni fatte sino ad ora su alcune specie di pteropodi, si presume un ciclo di vita di due generazioni all'anno (Dadon & de Cidre 1992; Gannefors et al. 2005). Nel Mar Argentino, *L. retroversa* presenta due generazioni nel ciclo annuale (Dadon & de Cidre 1992). Studi condotti nell'emisfero Nord (NH) su *L. helicina* (Kobayashi 1974; Almogi-Labin et al. 1988; Fabry 1989; Gannefors et al. 2005; Bednaršek et al. 2012a) e *C. limacina* (Lalli & Gilmer 1989) hanno dimostrato che un cambiamento delle condizioni ambientali, come fluttuante disponibilità di cibo, può influenzare crescita, tasso di riproduzione, dimensione e ciclo di vita degli pteropodi (della stessa specie). Esemplari di *L. helicina* trovati nelle regioni sub-artiche erano 2-3 volte più grandi degli esemplari della stessa specie che si trovano nella regione artica (Kobayashi 1974; Gilmer & Harbison 1991; Gannefors et al. 2005). Inoltre, nell'emisfero Nord, *C. limacina* presenta una correlazione positiva di dimensioni con le dimensioni della sua preda *Limacina* (Conover & Lalli 1972).

2.6. DISTRIBUZIONE GLOBALE E VERTICALE

Gli pteropodi sono componenti importanti degli ecosistemi polari e sub-polari (Fabry et al. 2008). La più alta diversità di specie di pteropodi eutecosomati si trova nelle regioni tropicali e subtropicali (Lalli & Gilmer 1989; Fabry et al. 2008), le più alte abbondanze

invece si trovano alle alte latitudini (Lalli & Gilmer 1989). Specie di eutecosomi tropicali tipici sono: *Cavolinia longirostris*, *Cavolinia uncinata*, *Creseis acicula*, *Creseis virgula virgula*, *Creseis virgula conica*, *Cuvierina columnella*, *Diacria quadridentata*, *Hyalocylix striata*, *Limacina bulimoides* e *Limacina trochiformis* (Solis & von Westernhagen 1978). Due specie di eutecosomi subtropicali sono *Clio pyramidata* e *Limacina inflata* (Solis & von Westernhagen 1978). L'unica specie di pteropode thecosomata trovata nella regione artica è *L. helicina* (Gannefors et al. 2005; Comeau et al. 2010a). Le specie di pteropode eutecosomi dominanti nell'Oceano Antartico sono *L. retroversa australis* (north of Polar Frontal Zone specie prevalentemente sub-antartica), *L. helicina antarctica* (south of the Polar Frontal Zone), *Clio pyramidata sulcata* (waters south of the Antarctic Polar Front) e *Clio piatkowskii* (Boltovsky 1999; Hunt et al. 2008).

Tuttavia, è risultato che *L. helicina helicina* e *L. helicina antarctica* sono geneticamente molto differenti (Jennings et al. 2010). Analogamente, Hunt et al. (2010) hanno dichiarato, sulla base delle analisi genetiche, che *L. helicina* in realtà non è bipolare. Dai dati ottenuti da Hunt et al. (2010), risulta che vi è una divergenza tra le due specie considerate, superiore al 30%. Le altre specie di pteropodi, come *Cavolinia uncinata*, *Clio cuspidata*, *Cuvierina columnella* e *Diacria major* appaiono anche tra regioni lontane geneticamente differenti (Jennings et al. 2010). Lo stato tassonomico di alcune specie di pteropodi come quelle del gruppo *L. helicina* deve essere ancora pienamente risolto attraverso ulteriori analisi filogeografiche (Hunt et al. 2010; Jennings et al. 2010).

Il pteropode *C. limacina* è il gymnosoma più abbondante della rete alimentare pelagica nelle acque temperate e polari (Böer et al. 2005). La sua distribuzione è bipolare (latitudini verso il polo di 40° N e S), anche se si ipotizza che le popolazioni settentrionali e meridionali possono essere sottospecie distinte (*C. limacina limacina* e *C. limacina antarctica*) o anche specie separate (*C. limacina* e *C. antarctica*) (Mileikovsky 1970; Van der Spoel 1976; Gilmer & Lalli 1990; Van der Spoel & Dadon 1999; Jennings et al. 2010). Il gymnosoma *Spongiobranchea australis* ha una distribuzione intorno l'antartide (Jennings et al. 2010). *Clione limacina antarctica* e *Spongiobranchea australis* sono i gimnosomi dominanti nell'Oceano del Sud (Hunt et al. 2008).

La maggior parte delle specie degli pteropodi eutecosomi vive negli strati superficiali fino a circa 200m, anche se si trovano specie mesopelagiche e batipelagiche (Van der Spoel 1967; Wormuth 1981, 1985). Secondo gli studi di Myers (1968) e Haagenzen (1976) la maggior parte delle specie di pteropodi sono prevalentemente epipelagiche, alcuni però sono migratori diurni dalla zona epipelagica a quella mesopelagica (Stepien 1980). A causa delle correnti

d'acqua verso il basso (downwelling delle acque oceaniche poco profonde), specie di pteropodi epipelagiche possono migrare a una profondità insolita, come si verifica in Florida nello Stretto di Miami, dove le specie epipelagiche stazionarie (*L. trochiformis*, *Creseis virgula*), in combinazione con le specie mesopelagiche, sono stati registrati al disotto dei 600m (Stepien 1980).

Diverse specie di pteropodi tra i tecosomi, come il genere *Limacina*, *Clio. pyramidata*, *Styliola subula*, così come i gimnosomi come *C. limacina antarctica*, sono considerati migratori verticali, avvicinandosi alla superficie per raggiungere il cibo durante la notte, e ritirarsi ad una maggiore profondità durante il giorno (Wormuth 1981; Mackas & Galbraith 2002; Hunt et al. 2008; Flores et al. 2011).

Specie di tecosomi stazionari o debolmente migratori limitati principalmente al di sopra dei 100m sono *Cavolinia longirostris*, *Creseis acicula*, *Creseis virgula* e *L. trochiformis* (Myers 1968 & Haagensen 1976), così come *Diacria rampali* (Andersen et al. 1997). Alcune delle specie di tecosomi fortemente migratori che vivono principalmente nella zona mesopelagica (100-600m) durante il giorno e nella zona epipelagica di notte sono: *C. pyramidata*, *Cuvierina columnella*, *Limacina bulimoides*, *Limacina inflata*, *Limacina lesueri* e *Styliola subula* (Meyers 1968 & Haagensen 1976; Andersen et al. 1997), così come *Cavolinia inflexa*, *Diacria trispinosa* e *Clio cuspidata* (Andersen et al. 1997).

Alcuni tecosomi possono migrare a più di 350m su base giornaliera (Wormuth 1981). I modelli di migrazione e gli intervalli differiscono in modo significativo tra le varie specie di pteropodi (Wormuth 1981; Lalli & Gilmer 1989), ma anche con lo stadio della loro vita e con le dimensioni (Mileikovsky 1970; Bathmann et al. 1991). Inoltre, la migrazione e la profondità di residenza possono cambiare con la stagione (Chen & Bé 1964; Kobayashi 1974; Lischka et al. 2011), come risposta alla disponibilità di cibo (Kobayashi 1974) oppure può essere un comportamento per evitare la predazione (Falk-Petersen et al. 2008). Migrazioni verticali diurne (DVM_s) di zooplancton, si ritiene siano influenzati dal bilanciamento tra il rischio di predazione e la necessità di alimentarsi (Gliwicz 1986). Ohman (1990) ha anche sottolineato che vi è un costo energetico nella migrazione verticale diurna, e quindi l'esecuzione è possibile solo se vi è una pressione significativa di predatori. La migrazione verticale stagionale è legata alla strategia del ciclo di vita degli organismi di zooplancton ed è spesso associata con l'alimentazione negli strati produttivi durante la primavera e l'estate (Almogi-Labin et al. 1988; Falk-Petersen et al. 2008). Migrazioni verticali diurne di *C. pyramidata* e di *C. limacina* sono stati registrati anche sotto il ghiaccio in Antartide (Flores et al. 2011). Inoltre i gimnosomi hanno un rapporto molto stretto con la loro preda esclusiva e vi

è qualche evidenza di distribuzione verticale sia di *C. limacina antarctica* che di *L. helicina antarctica* monitorate in Antartide Orientale e nel Mar Lazarev (Hunt et al. 2008). Allo stesso modo, una notevole somiglianza nei modelli di distribuzione di *C. limacina* e la sua preda esclusiva *L. helicina* è stata osservata nel NW dell'Oceano Pacifico (Volkov 2008). In sintesi, gli pteropodi hanno una distribuzione in tutto il mondo, con il massimo delle abbondanze alle alte latitudini e la più grande diversità di specie nelle regioni tropicali e subtropicali. I modelli di migrazione e gli intervalli tra le varie specie differiscono e sono connesse o influenzate da diversi fattori (abiotici e biotici).

2.7. LE FLUTTUAZIONI NELLA DISPONIBILITÀ DI CIBO E LA QUALITÀ DEGLI ALIMENTI

La disponibilità di cibo influenza i tassi metabolici degli pteropodi, interessando così: il loro consumo di ossigeno, la sintesi proteica, la crescita, la riproduzione e di conseguenza la densità degli pteropodi (Seibel & Dierssen 2003; Bernard 2006; Bernard & Froneman 2009; Maas et al. 2011). La scarsità di cibo può essere la causa di ritardi nella deposizione delle uova e nella metamorfosi giovanile, portando a lungo termine alla vulnerabilità della popolazione (Seibel & Dierssen 2003; Böer et al. 2006; Bernard 2006; Bernard & Froneman 2009). D'altra parte, le condizioni alimentari favorevoli locali, possono comportare un aumento del metabolismo e dei tassi riproduttivi degli pteropodi (Seibel & Dierssen 2003; Kosobokova & Hopcroft 2010). Tuttavia, le densità degli pteropodi dipendono non solo dalla quantità, ma anche dalla qualità del cibo (Perissinotto 1992; Bernard 2006; Maas et al. 2011). Gli pteropodi manifestano diverse strategie per far fronte alle fluttuanti risorse alimentari: la migrazione verticale, l'utilizzo dei tessuti del corpo meno essenziali o dei lipidi. Queste strategie attuate, derivate dai cambiamenti alimentari, causano variazioni dei loro tassi metabolici (Conover & Lalli 1972; Gilmer & Harbison 1991; Kattner et al. 1998; Böer et al. 2005, 2007; Seibel & Dierssen 2003; Seibel et al. 2007; Hunt et al. 2008; Maas et al. 2011). Nell'ambiente polare, alta stagionalità e condizioni di vita spesso estreme, sono forti fattori evolutivi per gli pteropodi verso l'adozione di diversi meccanismi, adottando strategie per sopravvivere (Böer et al. 2005, 2007; Gannefors et al. 2005; Seibel et al. 2007; Rosenthal et al. 2012). Negli ambienti polari come l'Oceano del Sud, la produzione primaria è fortemente legata con l'estensione stagionalmente mutevole del ghiaccio marino (Brierley & Thomas 2002). Anche se la copertura del ghiaccio marino può determinare una diminuzione della produzione primaria a causa di ombreggiamento lungo la colonna d'acqua sottostante, spesso fornisce una protezione dai predatori, rappresentando una fonte di materiale biogenico e

favorendo, così, l'alimentazione per lo zooplancton (Brierley & Thomas 2002). In estate, lo scioglimento del ghiaccio marino libera nella colonna d'acqua, oltre a particolato organico, anche nutrienti, sostenendo in tal modo le fioriture di fitoplancton (Brierley & Thomas 2002). Tuttavia, a causa della pronunciata stagionalità in condizioni di luce, temperatura e copertura di ghiaccio nelle regioni polari, le fioriture dei produttori primari sono brevi e intense (Sakshaug 2003), costituendo uno dei principali fattori che influenzano le popolazioni dei pteropodi tecosomati (Lalli & Gilmer 1989; Seibel & Dierssen 2003; Bernard 2006). Bernard (2006) riporta una stretta relazione tra clorofilla-a totale (Chl-a) e l'abbondanza di *L. retroversa* nell'Oceano del Sud, suggerendo una diretta correlazione tra la suddetta e il fitoplancton. Infatti quando la biomassa di fitoplancton era in declino, l'abbondanza di *L. retroversa* era bassa (Bernard 2006). Allo stesso modo, Seibel & Dierssen (2003), hanno osservato la stessa correlazione per *L. helicina antarctica* a McMurdo Sound (Antartide). Sempre gli stessi autori riportano una significativa riduzione delle biomasse di fitoplancton (50-75% in meno delle concentrazioni di Chl-a in confronto con gli anni precedenti) in McMurdo Sound, causando chiaramente una riduzione dell'abbondanza di *L. helicina*, riscontrando ridotti tassi di consumo di ossigeno e l'assenza di *L. helicina* nella stagione successiva. Di conseguenza, l'assenza di *L. helicina antarctica* influenza il suo predatore *C. limacina antarctica*, indicando tassi metabolici più bassi (Seibel & Dierssen 2003). Basso metabolismo e basso consumo di ossigeno è una strategia adottata da *C. limacina* per sopravvivere in scarsità di cibo, compreso anche il restringimento del corpo, utilizzando costituenti corporei e organi (es. gonadi) non essenziali per la sopravvivenza, e il lento consumo dei lipidi di riserva (Conover & Lalli 1972; Kattner et al. 1998; Böer et al. 2005, 2007; Seibel & Dierssen 2003; Seibel et al. 2007; Maas et al. 2011). Gli pteropodi tecosomi possono passare ad una dieta diversa durante i periodi limitanti e cioè durante l'inverno in assenza di fioriture di fitoplancton, possono utilizzare particelle organiche galleggianti, passare alla predazione (compreso il cannibalismo) e passare di nuovo ad erbivori in abbondanza di fitoplancton (Gilmer & Harbison 1991; Hunt et al. 2008). Tuttavia, sembra che *L. helicina* non passa esattamente da erbivoro a omnivoro in condizioni di scarsità di cibo (come proposto da Gilmer & Harbison 1991), ma è omnivoro per tutto il tempo, solo che le sue principali variazioni di fonte di cibo dipendono dalla disponibilità (Manno et al. 2010). Nel corso di un esperimento di dieta a lungo termine con *C. limacina*, è stata osservata la regressione sessuale, in cui gli pteropodi utilizzano le gonadi come fonte di energia (Böer et al. 2007). Una correlazione positiva tra la produzione di uova e la disponibilità di cibo nel caso di *C. limacina* è stata dimostrata in esperimenti di laboratorio (Lalli & Gilmer 1989).

Inoltre, la deposizione delle uova del gymnosoma *C. limacina* nel Nord Atlantico, Subartico e del Pacifico settentrionale è correlata con il periodo primavera/estate e con il picco di abbondanza di fitoplancton, che serve come cibo per i primi stadi larvali (Mileikovsky 1970; Böer et al. 2005).

La correlazione tra l'abbondanza di cibo e dei modelli di riproduzione è stata suggerita anche per gli pteropodi tecosomi. Bernard (2006) ha suggerito che un possibile ritardo nella deposizione delle uova di *L. retroversa* è causata dalla bassa concentrazione di Chl-a osservato nell'Oceano del Sud. Inoltre, la privazione di cibo sembra causare un ritardo nella riproduzione subpolare di *L. retroversa* (Böer 2006; Bernard & Froneman 2009).

Varie specie adottano dei modelli di migrazione stagionalmente in base alla disponibilità di cibo. Tecosomi e larve di gimnosomi (ad esempio *C. limacina*) si nutrono di fitoplancton migrando nello strato superficiale in tempi di elevata produzione primaria (in primavera ed estate) (Mileikovsky 1970; Falk-Petersen et al. 2008); allo stesso modo, le forme mature di gimnosomi seguono le loro prede (tecosomi) (Mileikovsky 1970; Hunt et al. 2008; Falk-Petersen et al. 2008). Nel corso degli anni di limitata produttività primaria o di fonti di cibo con basso apporto calorico, le limacine riducono eventualmente le riserve di lipidi e quindi diminuiti valori calorici per il suo predatore primario *C. limacina* e per altri predatori (Maas et al. 2011).

2.8. PREDAZIONE

La migrazione verticale diurna è un comportamento noto per evitare la predazione (Bollens et al. 1992; Lampert 1989; Williamson 2011). Lo zooplancton raggiunge gli strati superficiali ricchi di cibo durante la notte e poi scende e rimane a profondità maggiori durante il giorno per ridurre al minimo l'esposizione ai predatori visivi (Lampert 1989; Hays et al. 2001; Fortier et al. 2001). La DVM (migrazione verticale diurna) è anche un comportamento osservato per molte specie di pteropodi (Wormuth 1981; Hunt et al. 2008). In Artico (Svalbard, 80°N), sono stati osservati modelli DVM distinti tra adulti e giovani di *L. helicina* nel periodo autunnale (quando c'era una differenza significativa in condizioni di luce tra il giorno e la notte) (Falk-Petersen et al. 2008). *Limacina helicina* ha rappresentato un importante preda del merluzzo polare in quella zona, che migra negli strati superficiali durante il giorno per nutrirsi di pteropodi (Falk-Petersen et al. 2008). L'adulto di *L. helicina* migra tutti i giorni per evitare la predazione, passando da acque profonde durante il giorno, alla superficie durante la notte (Falk-Petersen et al. 2008). Anche *L. helicina*, sia allo stadio larvale che allo stadio giovanile, ha mostrato un netto cambiamento nella distribuzione

verticale, che appare nei numeri più alti (fino a 8000 ind. m⁻³) a 0-20m durante la notte ed a 20-50m nel corso della giornata, mostrando la capacità di migrare in base alle loro esigenze (Falk-Petersen et al. 2008).

La predazione visiva ad una certa profondità può essere ridotta a causa della più elevata torbidità dell'acqua; una torbidità maggiore in siti meso ed eutrofici avrebbe potuto essere una delle ragioni per cui i modelli DVM registrati da Andersen et al. (1997) a NE dell'Atlantico tropicale per *C. pyramidata* e per altre specie di pteropodi in questi due ambienti, mostrava livelli DVM più bassi, mentre nel sito oligotrofico meno torbido, il livello di DVM degli pteropodi era più alto. Nei siti eutrofici molto ricchi di sostanze nutritive, alcuni organismi si concentrano, sia di giorno che di notte, negli strati più superficiali ricchi di fitoplancton, compensando la perdita a causa della predazione con abbondanza di cibo (Andersen et al. 1997). Alcune specie di gimnosomi producono sostanze chimiche come difesa per evitare la predazione (Bryan et al. 1995; Phelger et al. 1999). *Clione antarctica* produce beta-idrossichetone (Bryan et al. 1995) e *Spongiobranchaea australis* un acido grasso polinsaturo (Phelger et al. 1999). Bryan et al. (1995) ha confermato che i pesci antartici, che si nutrono di organismi planctonici, non predano *C. limacina antarctica*, anche se le sue dense popolazioni offrono una ricca fonte di potenziali nutrienti e di energia. È possibile che a causa della riduzione della pressione predatoria impartita dalle sostanze chimiche prodotte, la distribuzione verticale di questi gimnosomi può essere fortemente determinata dalle loro prede piuttosto che per evitare i predatori (Hunt et al. 2008). Queste specie di conseguenza hanno un'importanza limitata per i livelli trofici superiori (Bryan et al. 1995).

2.9. RIPRODUZIONE

La riproduzione degli pteropodi è stagionale e dipende dalle condizioni ambientali favorevoli (Lalli & Gilmer 1989; Dadon & de Cidre 1992). In ambienti stressati, come ad esempio durante i periodi di bassa disponibilità di cibo, gli pteropodi tendono a non spendere energia per i processi energeticamente costosi, come ad esempio per la riproduzione e lo sviluppo, ma tendono a mantenere le funzioni vitali di base (Böer et al. 2005, 2007; Seibel et al. 2007). Le regioni polari (il Mare Artico e l'Oceano Meridionale), sono ambienti con condizioni ambientali estreme, stagionalità pronunciate in condizioni di luce, basse temperature e coperture di ghiaccio, con conseguente fioriture brevi e intensivi di produttori primari (Sakshaug 2003). Nella maggior parte dell'Oceano Meridionale, la produzione primaria è molto limitata, a causa delle basse temperature, scarsa disponibilità di luce durante l'anno e forti venti costanti, che riducono la stabilità della colonna d'acqua generando un

profondo strato mescolato (Laubscher et al. 1993; Balarin 1999; Froneman et al. 2001). Di conseguenza, gli pteropodi si riproducono soprattutto in primavera, estate o in autunno, in modo tale da acquisire il vantaggio nella stagione in cui si ha una più elevata abbondanza di cibo (Kobayashi 1974; Lalli & Gilmer 1989; Böer et al. 2005; Gannefors et al. 2005; Bernard 2006; Bednaršek et al. 2012a). Così, la riproduzione degli pteropodi tecosomati è correlata con la produzione primaria abbondante, guidata da fattori abiotici come luce favorevole, temperatura (riscaldamento annuale di acque superficiali) e il rimescolamento delle acque (Mileikovsky 1970; Böer et al. 2007; Gannefors et al. 2005). Di conseguenza, i tassi di riproduzione dei gimnosomi possono essere indirettamente influenzati dalla scarsità di fitoplancton limitata dalle condizioni ambientali, i quali dipendono dai tecosomi come loro preda predominante (Lalli & Gilmer 1989; Seibel et al. 2007; Hunt et al. 2008; Seibel & Dierssen 2003). I fattori ambientali possono anche avviare o ritardare il processo di maturazione degli organismi (Byrne 2011; Dadon & de Cidre 1992). È stato osservato un fattore geografico interessante che influenza il processo di maturazione della *L. retroversa* nel Mar Argentino, dove la differenza nelle dinamiche idrologiche causa un rimescolamento rapido delle acque che induce gli pteropodi a maturare più velocemente (Dadon & de Cidre 1992).

2.10. DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Le zone geografiche popolate da organismi marini dipendono dal livello della loro mobilità, cioè dalla modalità di vita e dalla loro tolleranza all'ampia gamma di fattori fisici (quali: salinità, pressione, stratificazione, concentrazione di ossigeno, pH e temperatura) insieme con i fattori biotici (come: l'abbondanza cibo, la competizione e la predazione), in aggiunta alla formazione biogeografia delle specie (Pörtner 2002, 2008). Importanti fattori ambientali abiotici che influenzano la distribuzione geografica degli pteropodi sono le correnti (Redfield 1939), le variazioni idrografiche stagionali quali i monsoni (Schalk 1990) e i vortici (Mackas & Galbraith 2002), sotto l'influenza di cui gli pteropodi spesso sono portati verso regioni lontane dal loro habitat originale. La loro sopravvivenza e la persistenza dei loro popolamenti non è garantita se essi non trovano le condizioni ambientali favorevoli (Redfield 1939). D'altra parte, se le condizioni nei nuovi ambienti sono più favorevoli rispetto al loro habitat originale, gli pteropodi possono trovarsi in alte abbondanze (Mackas & Galbraith 2002). Inoltre, i cambiamenti idrografici stagionali, quali monsoni e le relative variazioni nell'ambiente, influenzano in modo diverso i modelli di abbondanza e la distribuzione degli pteropodi, a seconda delle loro preferenze ambientali di vita (Schalk 1990).

2.11. RUOLO ECOLOGICO

Negli ultimi decenni sono stati condotti studi sullo zooplancton relativi non solo agli aspetti morfologici e sistematici, ma anche a quelli biochimici ed ecologici, allo scopo di valutarne la rilevanza nella rete trofica marina.

Gli pteropodi costituiscono un anello fondamentale della rete trofica marina e possono contribuire in modo significativo alla biomassa di una certa classe dimensionale di zooplancton (ad esempio meso/macrozooplancton), in particolare nelle regioni polari dove raggiungono elevate concentrazioni di biomassa (Boysen-Ennen et al. 1991; Pane et al. 2004; Bernard 2006; Hunt et al. 2008). Rappresentano la maggiore componente della dieta per molti altri organismi zooplanctonici e per i predatori di più grandi dimensioni, come aringhe, salmoni, balene e uccelli (Hunt et al. 2008, Karnovsky et al. 2008). Possono raggiungere densità di migliaia di individui su m³ in alcune regioni e contribuire anche in modo sostanziale alle densità dello zooplancton totale (Hopkins 1987; Ward et al. 2003; Pakhomov & Froneman 2004; Pane et al. 2004; Hunt et al. 2008). Il rapporto zooplancton-biomassa può variare notevolmente a livello regionale, stagionale e negli anni (Pane et al. 2004; Seibel & Dierssen 2003; Bernard 2006).

3.1. DNA BARCODING: UN NUOVO APPROCCIO TASSONOMICO NELL'ERA DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE

La tassonomia è la scienza che si occupa di classificare gli esseri viventi in base alle caratteristiche condivise. Essa è sempre stata una parte integrante della società umana. Carl Linnaeus, fu il primo a porre le basi della tassonomia, egli diede vita ad un sistema con cui formalizzò e fissò i criteri per la classificazione biologica con il suo sistema di nomenclatura binomiale, che assegna ad ogni organismo un nome di genere e specie. Negli anni, l'identificazione e la classificazione degli organismi ha assunto sempre via via una maggiore importanza, in quanto grazie al monitoraggio delle specie è possibile studiare gli effetti biologici del cambiamento climatico globale. Sappiamo molto poco circa la diversità di piante e animali, e molto meno sui microbi, che vivono in molti ecosistemi unici sulla terra. Meno di 2 milioni di specie di animali e piante sono state identificate a fronte dei 5-50 milioni stimate. Gli scienziati concordano che il tasso annuale di estinzione è aumentato da circa una specie per milione a circa 100-1.000 specie per milione. Ciò significa che migliaia di piante e animali scompaiono ogni anno, senza essere state ancora identificate. La tassonomia classica, concorre in questa breve gara per la diversità biologica, cercando di catalogare le specie prima della loro scomparsa. Gli esemplari devono essere accuratamente raccolti e gestiti per preservare le loro caratteristiche distintive. Per distinguere le sottili differenze anatomiche fra specie strettamente imparentate, è necessario il giudizio soggettivo di uno specialista altamente qualificato, anche se oggi le università di tutto il mondo sono sempre più carenti in questo settore (Stoeckle 2003). Fino a poco tempo fa, tutte le classificazioni tassonomiche si avvalevano di esperti capaci di valutare soggettivamente le poche e, a volte sottili differenze tra due specie. Adesso, grazie all'avvento della biologia molecolare e all'introduzione delle tecniche ad essa associate, è permesso anche ai non-esperti, l'identificazione oggettiva delle specie, basandosi sulle sequenze di opportuni geni "marcatori" a partire anche da piccole quantità di materiale, danneggiato o trattato industrialmente. I geni marcatori utilizzati in questo nuovo approccio, di animali, piante e funghi hanno sequenze sufficientemente diverse tra specie e specie, in modo che ogni sequenza identificata possa essere univocamente attribuita ad una unica specie di origine. L'insieme di queste tecniche moderne, nell'ambito tassonomico ha aperto le strade ad un nuovo filone scientifico chiamato DNA Barcoding. Esso è rapidamente diventato uno strumento essenziale per gli studi tassonomici, ma trova applicazioni anche in altri campi, come nel monitoraggio ambientale, nell'analisi della biodiversità di un ecosistema, ecc. Proprio come il modello a codice a barre (universal

product code “UPC”) che identifica ogni prodotto di consumo, un "codice a barre del DNA" è un modello unico che identifica ogni essere vivente. Il DNA barcode, è costituito da una breve sequenza nucleotidica di circa 700 nucleotidi (bp) di lunghezza, rapidamente ottenuta da migliaia di esemplari, che successivamente verrà analizzata inequivocabilmente da programmi bioinformatici (Hebert et al. 2003). L’international Barcode of Life (iBOL), a cui fanno parte ricercatori appartenenti a più di 150 paesi, ha il compito di censire la biodiversità tra piante e gruppi di animali, tra cui: formiche, api, farfalle, pesci, uccelli, mammiferi, funghi e piante fiorite; e all'interno di ecosistemi includendo: mari, poli, foreste pluviali, foreste algali e barriere coralline, grazie anche all’organizzazione di "campagne" mirate al censimento di tutti gli organismi del pianeta. In 10 anni Census of Marine Life (2010), ha fornito il primo elenco completo delle specie marine; si tratta di più di 190.000 specie e inoltre ha identificato 6.000 potenziali nuove specie (Ratnasingham et al. 2007).

C'è un sorprendente livello di biodiversità, proprio davanti ai nostri occhi; ad esempio, con l’avvento del DNA barcoding i ricercatori hanno dimostrato le differenti varietà di una farfalla del genere *Astrartes fulgerator*, identificata nel 1775, che si pensava fosse associata ad una sola specie; in realtà, fino ad oggi, ne sono già state classificate dieci specie distinte (Hebert et al. 2004). Un altro esempio sulle potenzialità del DNA barcoding si è avuto nella classificazione delle orchidee, una famiglia di piante complesse e diffusa con circa 20.000 specie differenti (Van Den Berg et al. 2009). L'ambiente urbano è anche inaspettatamente diverso; infatti, grazie al DNA barcoding, è stato possibile catalogare 54 specie di api e 24 specie di farfalle nei giardini di New York. Il DNA barcoding è utilizzato anche per rilevare frodi alimentari e prodotti estratti da specie protette. Infatti uno studio americano di qualche anno fa, condotto dai Ricercatori della Rockefeller University e dal Museo americano di storia naturale, ha messo in evidenza che il 25% di 60 alimenti a base di pesce acquistati nei negozi alimentari e ristoranti a New York, era etichettato come specie più costosa. In un’indagine, condotta sempre dalla collaborazione dei due Enti Americani, fu ritrovato un esemplare marino con una evidente etichetta scoperta falsa e, a seguito delle analisi, si risalì addirittura ad una specie in via d'estinzione.

3.2. CARATTERISTICHE MOLECOLARI DEI GENI MARCATORI UTILIZZATI NEL DNA BARCODING

Il DNA barcoding si basa su brevi sequenze, in regioni genomiche altamente variabili. Il genoma mitocondriale e cloroplastico, rappresenta un ottimo materiale di partenza per l’amplificazione di target specifici mediante PCR, anche da esemplari molto piccoli o con

DNA degradato. I marcatori molecolari utilizzati a questo scopo differiscono a seconda del tipo di organismo oggetto di studio. Nel Regno Vegetale, una regione del gene *rbcL* presente nel genoma dei cloroplasti, viene spesso utilizzata per l'identificazione mediante DNA barcoding. La sequenza target utilizzata a tale scopo identificativo (nelle piante) codifica per una delle proteine più abbondanti sulla terra, la RuBisCo (ribuloso bisfosfato carbossilasi) che catalizza la prima tappa della fissazione del carbonio (Hollingsworth et al. 2009).

Una regione del gene mitocondriale *COI* (subunità I della citocromo c ossidasi) viene utilizzata per il barcoding nel Regno Animale. La *COI* è coinvolta nel trasporto degli elettroni nella fase della respirazione. Così, come si può notare, i geni utilizzati nel barcoding sono coinvolti nelle reazioni chiave della vita: immagazzinare energia in carboidrati e rilasciarla per formare ATP. Per quanto riguarda il Regno dei Funghi la *COI* è difficile da amplificare, insufficientemente variabile, e alcuni gruppi fungini mancano di mitocondri, proprio per queste motivazioni essa non può essere utilizzata come marcatore tassonomico. Infatti, nei Funghi, viene ad essere utilizzato lo spaziatore trascrizionale interno nucleare (*ITS*), una regione variabile che comprende al suo interno il gene dell'RNA ribosomiale 5.8S. Come per i geni mitocondriali e cloroplastici, anche le sequenze *ITS* sono presenti in molteplici copie nel genoma, e la variabilità nei funghi permette la loro identificazione (Hebert et al. 2003).

3.3. FASI PROCEDURALI PER L'ANALISI DI UN CAMPIONE MEDIANTE DNA BARCODING

1. Raccolta del campione, conservando il campione quanto possibile e annotazione della sua posizione geografica e l'ambiente locale.
2. Estrazione del DNA.
3. Amplificazione mediante PCR con l'ausilio di una coppia di primers gene-specifici costruiti su regioni altamente conservate (universali) specifici per l'organismo oggetto di studio (*rbcL*, *COI* e *ITS*).
4. Sequenziamento nucleotidico dell'amplicone.
5. Analisi delle sequenze ottenute.

I risultati del sequenziamento, cioè l'effettiva sequenza nucleotidica sarà utilizzata per un confronto con le sequenze già presenti in banca dati provenienti da organismi già classificati. Una stretta corrispondenza, identifica rapidamente una specie che è già rappresentata nel database. Tuttavia, alcune sequenze saranno completamente nuove e l'identificazione può contare su l'immissione della specie sconosciuta in un albero filogenetico con parenti prossimi. Nuovi codici a barre del DNA, cioè nuove sequenze saranno inviate a GenBank®

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), così da rendere sempre più completa la banca dati (Benson et al. 2013).

SCOPO DELLA TESI

Lo studio della comunità zooplanctonica in ambienti estremi caratterizzati da basse temperature come l'Antartide, assume sempre più, una notevole importanza.

Gli obiettivi principali di questa tesi di dottorato si sono concentrati soprattutto:

- sul contributo della *Limacina helicina antarctica* e del suo predatore *Clione limacina antarctica*, in termini di abbondanza;
- sulla distribuzione orizzontale e verticale di queste due specie su larga scala, nelle zone costiere e pelagiche nell'area occidentale del Mare di Ross.

MATERIALI E METODI

4.1. AREA DI STUDIO

Il settore Ovest del Mare di Ross è caratterizzato da una ampia e profonda piattaforma continentale costiera, in cui vi si trovano alternanze di canyons. La topografia del fondale in queste aree è piuttosto irregolare, con profondità che si attestano a livello costiero intorno ai 450m, anche se sono state ritrovate profondità maggiori (al disotto dei 1000m nel Drygalski Basin). Quest'area è caratterizzata in estate da forti correnti cicloniche a livello superficiale sulla piattaforma continentale che si spingono dal versante Ovest lungo l'Ice Shelf, fino a raggiungere la costa Nord di Victoria Land (Smith & Schnack-Schiel 1990).

In accordo con Patterson & Whitworth (1990) il Mare di Ross è costituito da diverse masse d'acqua (Fig. 4):

- Antarctic Surface Water (AASW, 0-50m) caratterizzata da una bassa salinità (< 34.50) e, durante il periodo estivo, da alte temperature a livello superficiale (-1.5/2.0°C);
- Shallow Ice Shelf Water (SISW, 50-200m) con salinità < 34.60 e temperatura < -1.9°C;
- Modified Circumpolar Deep Water (MCDW, 200-300m) con salinità >34.50 e temperatura > -1.6°C;
- Deep Ice Shelf Water (DISW, 300-600m) con salinità > 34.60 e temperatura < -1.9°C;
- High Salinity Shelf Water (HSSW, 600m sino al fondo) con salinità > 34.75 e temperatura di circa -1.9°C.

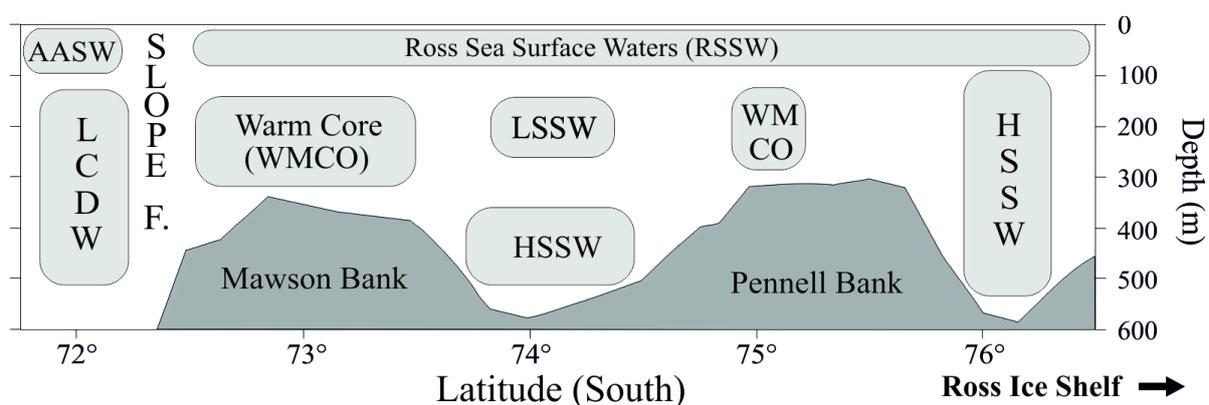


Fig. 4. Rappresentazione schematica delle masse d'acqua nel Mare di Ross.

Il Mare di Ross è interamente ricoperto da ghiaccio marino per almeno 9 mesi l'anno. Baia Terra Nova è una grande insenatura situata nella parte Sud-Occidentale del Mare di Ross, larga circa 80x30 Km. Essa è delimitata a Nord dal vulcano Melbourne e dalla stretta

penisola di Capo Washington ed a Sud dal ghiacciaio Drygalsky, che si estende circa 60 Km nel Mare di Ross. Baia Terra Nova è caratterizzata da una polynya persistente anche durante la stagione invernale. Kurtz & Bromwich (1985) riportano che la combinazione di forti e persistenti venti catabatici, accoppiati con il blocco che si viene a creare dalla lingua del ghiacciaio Drygalski (DIT) che mantiene l'area libera dai ghiacci, sono necessari per formare e mantenere la polynya a BTN durante l'inverno (Fig. 5).



Fig. 5. Polynya antartica.

La massima estensione della polynya corrisponde, approssimativamente, all'intera lunghezza del DIT (circa 80km).

Da misure idrologiche e correntometriche fatte in circa 30 anni di ricerche a BTN (Boldrin & Stocchino 1990; Stocchino & Lusetti 1990; Innamorati et al. 1990; Stocchino & Manzella 1991) e nel Mare di Ross (Spezie et al. 1993; Budillon et al. 2000; Picco et al. 1999; Russo 2000), si può affermare che l'area costiera è caratterizzata dalla presenza di masse d'acqua più calde ($+0.9/1.5^{\circ}\text{C}$) e più salate in superficie (34,7). Questi risultati concordano con la distribuzione generale delle masse d'acqua nel Mare di Ross nella stagione estiva (Jacobs et al. 1970) e con quelli riportati per McMurdo Sound (Berry 1988), mentre i valori di temperatura più bassa che si possono riscontrare nell'area centrale di BTN (Fig. 6a-b), probabilmente sono dovuti sia a vortici locali che a processi di upwelling determinati dai venti catabatici. La struttura verticale della colonna d'acqua nella polynya di BTN è relativamente semplice, la grande variabilità si è osservata nello strato superficiale alle profondità di 50-150m (Fig. 6c-e). La Summer Surface Water (SSW) è una massa d'acqua omogenea nella quale la salinità incrementa leggermente avvicinandosi al fondo, con temperature molto vicine al punto di congelamento (-1.9°C), e salinità maggiore a 34.7; le acque HSSW occupano questo strato. La circolazione estiva delle masse d'acqua a BTN (Stocchino & Manzella 1991) mostra prevalentemente un movimento verso Nord dello strato superficiale lungo la costa, con un movimento rotazionale in senso orario verso la profondità (Fig. 7).

Fig. 6. Rappresentazioni dei parametri chimici e fisici a BTN nel Mare di Ross durante la spedizione italiana in antartide 1987-88.

a) valori di temperatura superficiale; **b)** valori di salinità superficiale; **c)** sezione idrologica; **d)** profilo di temperatura dalla superficie alla profondità di 200m, di un transetto lungo la costa; **e)** profilo della salinità dalla superficie alla profondità di 200m, di un transetto lungo la costa.

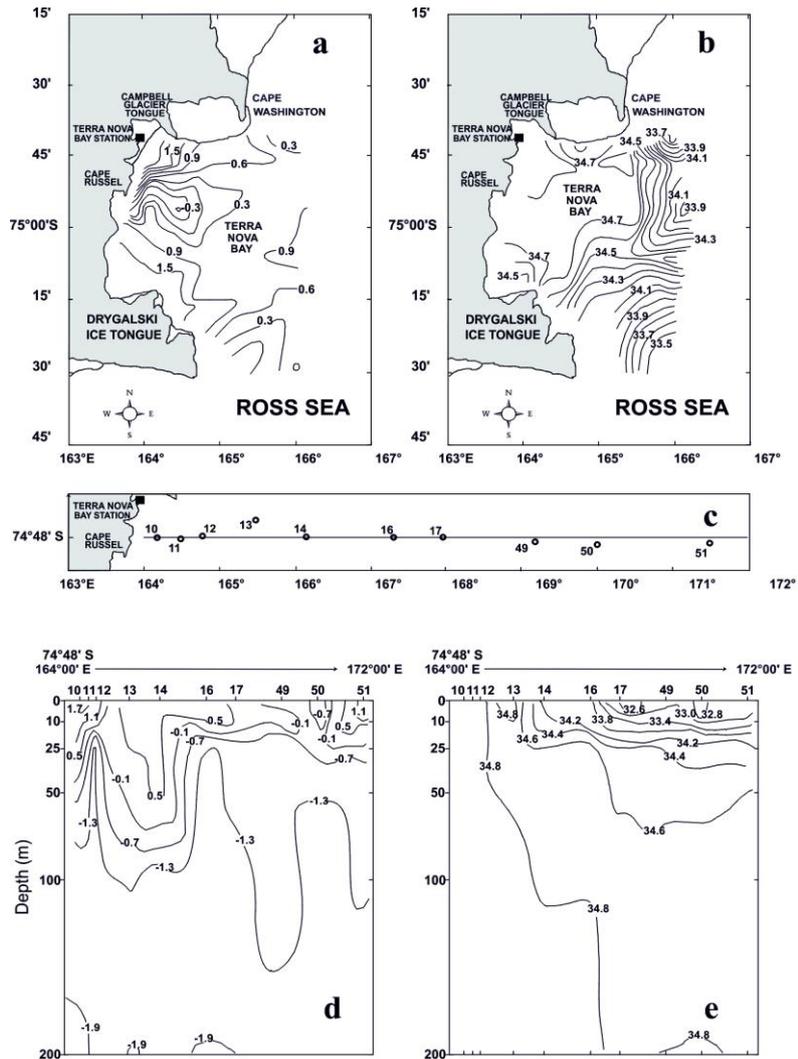
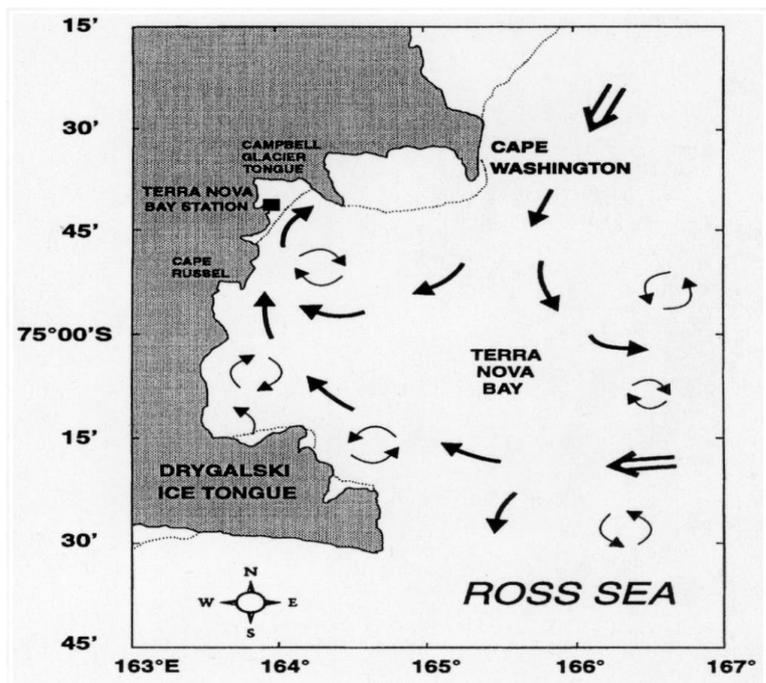


Fig. 7. Rappresentazione schematica della circolazione delle acque superficiali a BTN.



4.2. CAMPIONAMENTO

Per descrivere la distribuzione orizzontale e verticale delle abbondanze di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica*, i campioni di zooplancton e micronecton sono stati raccolti durante sei spedizioni italiane nel Mare di Ross:

- Campagna oceanografica POLAR QUEEN, tarda estate 1987-88.
- Campagna oceanografica CARIBOO, inizio estate 1989-90.
- Campagna oceanografica ROSSMIZE, inizio primavera-inizio estate 1994-95.
- Campagna oceanografica PIPEX, inizio primavera 1997-98.
- Campagna oceanografica ECOFISH, estate 2005-06.
- Campagna oceanografica CEFA, primavera-estate 2015-16.

Durante le spedizioni POLAR QUEEN, CARIBOO e ROSSMIZE, i campioni sono stati prelevati mediante l'utilizzo della multirete elettronica BIONESS (Sameoto et al. 1980), nelle due versioni EZ-NET BIONESS (0.25m²) e BIONESS (1m²), mentre nelle campagne PIPEX ed ECOFISH sono stati utilizzati reti WP2 e BONGO (Fig. 8). Durante le prime tre spedizioni sono state utilizzati retini da 230 e 500µm (cut-off), sia separati che combinati, entrambi idonei per raccogliere le specie del mesozooplancton e del micronecton tra 200 e 1000µm. Per questo motivo riteniamo che ambedue siano efficienti per la cattura di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* e quindi per questo studio sulla loro distribuzione spaziale, così com'è stato verificato in altre aree dell'Antartide (Hunt et al. 2008). Il BIONESS veniva calato dalla poppa della nave ad una velocità di circa 1.5-2 m/s così che esso potesse raggiungere le profondità desiderate lungo un percorso obliquo. Durante le pesche in risalita, le reti sono state aperte e chiuse mediante comando elettronico ad intervalli di 10-20-40m nelle pesche programmate dalla superficie ai 200m, in relazione alla struttura delle masse d'acqua, allo spessore e profondità del termoclino, picnoclino e aloclino. Dai 200m, e sino alle massime profondità raggiunte (~1000m), lo zooplancton è stato raccolto ad intervalli di 100-200m. In alcune stazioni sono stati riscontrati bassi volumi di acqua filtrata, e gli strati superiori hanno risentito della presenza di bloom microalgali. A causa di vincoli di tempo a bordo della nave, non sono state effettuate repliche. Per sopperire a queste mancanze di campioni replicati e incrementare la precisione dei campionamenti, le pesche venivano fatte per lunghi tratti e con risalite più a lungo possibile, che variavano in lunghezza da ~1000 a ~6000m. La spiegazione razionale per questa procedura è stata discussa da Wiebe (1972). Le contaminazioni delle reti di zooplancton superficiale erano trascurabili, dato che le reti erano tutte ben chiuse prima e dopo la pescata. Anche alle profondità di 20-30m abbiamo evidenziato che la contaminazione era insignificante in quanto il BIONESS durante la risalita

a queste profondità aveva la bocca chiusa. Finite le fasi di raccolta e recupero, alcuni dei campioni derivanti dalle campagne in mare ed in ghiaccio venivano subito fissati con formaldeide tamponata al 4%, ed altri in etanolo al 100%.

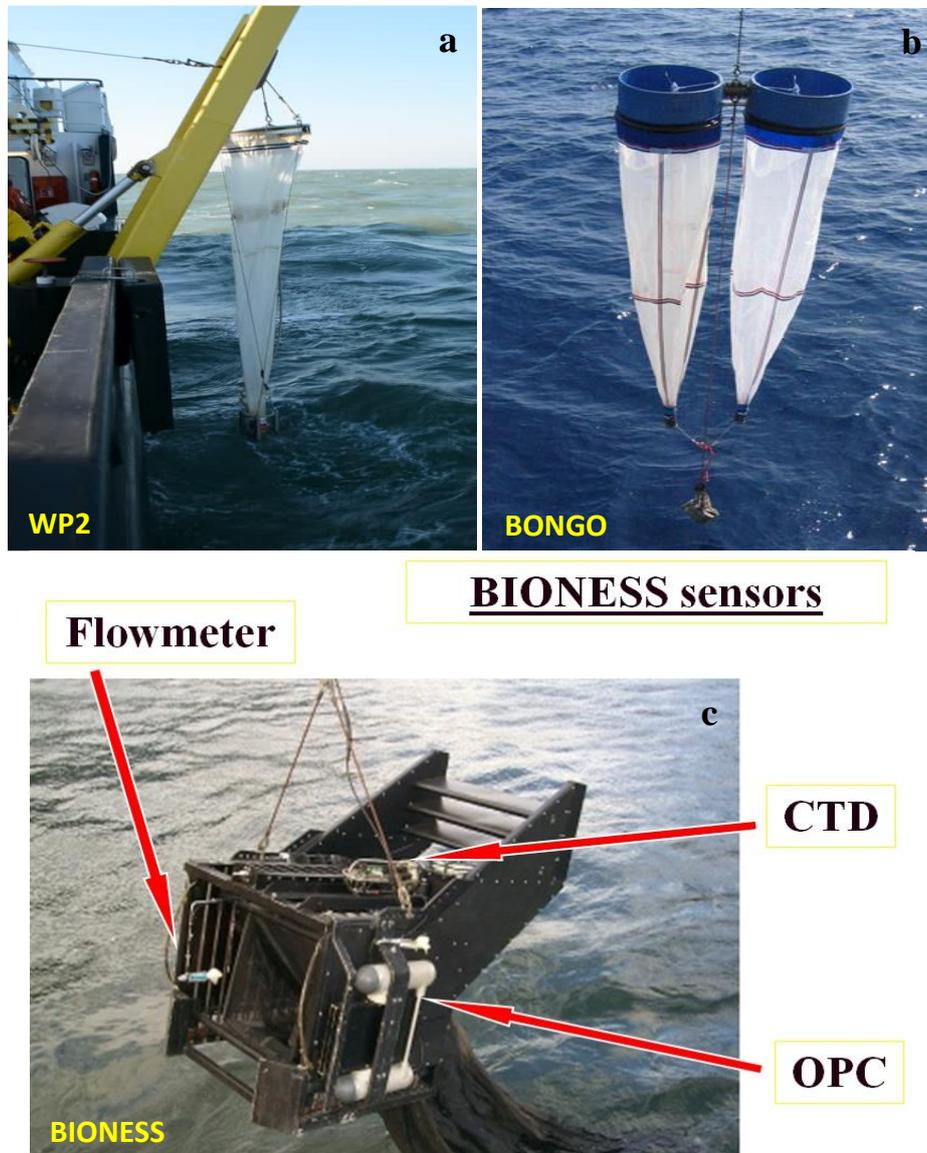


Fig. 8. Immagini relative agli strumenti utilizzati per i campionamenti durante le campagne oceanografiche: a) WP2; b) BONGO; c) BIONESS.

4.2.1. Campagna POLAR QUEEN (1987-88)

Per lo studio dell'ambiente pelagico di BTN è stata disegnata un griglia di 34 stazioni, tale da includere gli habitat più rappresentativi dell'area. Sono stati effettuati campionamenti sinottici dei parametri fisici e biologici, studiando le variabili fisiche per mezzo di un CTD, con lo scopo basilare di definire le principali masse d'acqua presenti nella Baia ed identificare l'influenza dello scioglimento dei ghiacci sulla struttura termoalina di queste masse d'acqua. Simultaneamente ai profili CTD sono state fatte misure di PAR (radiazione fotosinteticamente

attiva), clorofilla, nutrienti, feopigmenti e prelevati campioni sia di fitoplancton che micro- e mesozooplancton. Durante il periodo tra il 4 Gennaio e il 21 Febbraio 1988 (estate antartica), sono stati raccolti in totale 314 campioni di zooplancton presso BTN (Mare di Ross, Fig. 9). È stata utilizzata la multirete elettronica EZ-NET BIONESS (con area della bocca di 0,25m²) con 10 retini aventi maglie da 250 e 500µm, per un volume totale di acqua filtrata pari a 12.452m³. L'area di studio era compresa tra Capo Washington (79°39'S) e la lingua del ghiacciaio Drygalski (75°29'S), alla longitudine di 167°59'E.

Le stazioni di campionamento sono state situate principalmente sulla piattaforma continentale del Mare di Ross, mentre la stazione 1SK era situata circa 150 miglia al largo della costa, e la stazione ANZ in prossimità di Capo Adare. Simultaneamente ai profili obliqui delle pesche, veniva continuamente misurata la temperatura, la salinità e la profondità, per mezzo di un CTD digitale Applied Microsystems, montato sul frame del BIONESS. Il flusso di acqua attraverso le reti è stato monitorato mediante l'uso di due flussimetri TSK, di cui uno esterno ed uno interno alla rete, per il calcolo dell'efficienza di filtrazione. Lo sforzo di campionamento (come stazioni campionate, data e ora locale, coordinate, massima profondità raggiunte, pesche positive, profondità del fondale, volume filtrato) è stato riportato in Tab. 1.

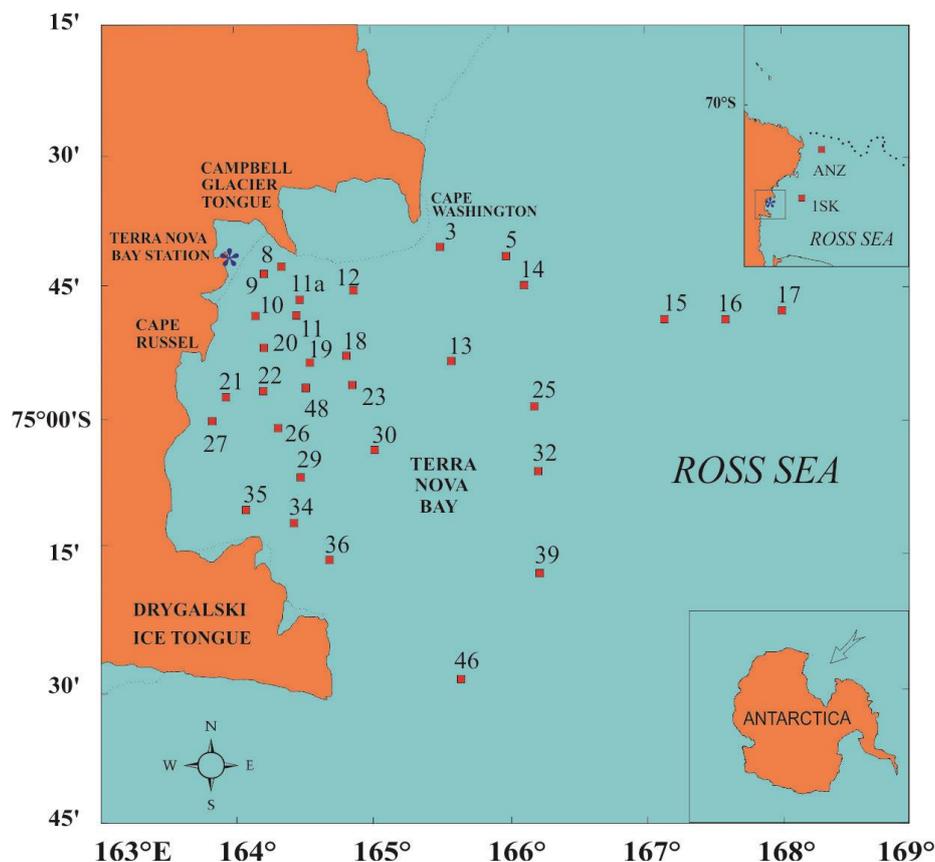


Fig. 9. Mappa delle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante EZ-NET BIONESS durante la campagna oceanografica POLAR QUEEN (1987-88).

STATION N°	DATE	START		END		LOCAL TIME		DEPTH (m)		NETS	
		LAT. S	LONG. E	LAT. S	LONG. E	START	END	ECO	TOW	µm	SAMPLES
8*	04/01/1988	74:43:40	164:27:20	74:42:80	164:17:78	14,23	15,12	550	200	250	2
8	05/01/1988	74:43:00	164:26:10	74:43:30	164:32:10	16,15	16,51	570	500	500	10
11	05/01/1988	74:49:10	164:29:50	74:51:08	164:25:60	22,48	00,03	640	600	500	10
9	06/01/1988	74:43:40	164:15:50	74:44:80	164:12:80	12,08	12,51	560	300	500	10
10	06/01/1988	74:48:30	164:09:70	74:49:00	164:10:00	17,45	18,02	325	300	500	10
11A	07/01/1988	74:47:40	164:31:20	74:45:50	164:28:90	12,25	13,09	530	100	500	10
20	09/01/1988	74:52:65	164:14:60	74:53:61	164:10:70	16,38	17,12	257	200	500	10
19	10/01/1988	74:53:50	164:33:62	74:55:54	164:38:27	18,58	19,57	660	500	500	10
21	12/01/1988	74:57:44	163:56:20	74:58:10	164:12:41	08,34	09,19	565	400	500	9
22	12/01/1988	74:56:90	164:11:57	74:59:50	164:15:00	14,58	16,01	645	600	500	10
26	13/01/1988	75:03:04	164:17:50	75:02:70	164:07:20	08,25	09,43	930	800	500	10
27	13/01/1988	75:01:08	163:52:50	75:03:51	163:49:30	21,48	22,19	815	600	500	10
29	14/01/1988	75:08:00	164:24:00	75:08:00	164:10:00	11,24	12,17	1010	500	500	10
35	14/01/1988	75:11:50	163:59:00	75:11:10	164:17:20	22,21	23,24	1040	100	500	10
34	15/01/1988	75:12:30	164:16:70	75:12:10	164:24:80	10,27	11,47	1100	600	500	10
36	15/01/1988	75:15:50	164:38:00	75:18:30	164:37:50	16,01	16,44	945	150	500	10
12	24/01/1988	74:45:00	164:50:00	74:41:00	164:50:00	23,09	00,14	560	450	250	10
3	25/01/1988	74:39:00	165:27:00	74:41:00	165:30:00	12,31	13,08	187	150	250	10
13	25/01/1988	74:51:50	165:32:30	74:53:50	165:33:50	19,21	20,26	810	700	250	10
5	26/01/1988	74:39:20	165:57:30	74:41:50	166:04:00	07,25	08,31	700	500	250	10
14	26/01/1988	74:45:00	166:05:00	74:47:90	166:08:50	11,38	12,51	875	600	250	8
25	26/01/1988	74:56:30	166:07:60	74:58:00	166:07:00	18,26	18,56	1000	500	250	3
17	27/01/1988	74:47:00	168:04:00	74:45:00	167:59:00	07,47	08,41	550	350	250	10
16	27/01/1988	74:48:00	167:34:00	74:48:00	167:22:00	14,09	16,08	650	500	250	10
18	28/01/1988	74:52:28	164:46:10	74:53:59	164:57:21	17,03	18,17	655	500	250	10
23	28/01/1988	74:55:60	164:50:00	74:58:70	164:51:00	21,51	23,03	1000	600	250	10
48	29/01/1988	74:55:70	164:30:00	74:58:50	164:30:00	06,58	08,04	700	450	250	10
30	29/01/1988	75:04:60	164:55:30	75:07:50	164:50:80	13,07	14,18	1000	800	250	4
46	02/02/1988	75:29:00	165:39:80	75:24:20	165:31:51	07,48	09,15	810	500	250	10
39	02/02/1988	75:17:50	166:08:80	75:14:30	166:07:60	13,24	14,32	840	550	250	10
32	02/02/1988	75:06:80	166:07:30	75:03:00	166:20:00	17,34	19,04	895	650	250	10
15	02/02/1988	74:48:00	167:08:00	74:46:70	166:46:00	23,41	00,57	700	600	250	10
1SK	04/02/1988	74:50:54	172:35:49	74:50:58	172:46:43	17,16	18,17	520	350	250	10
ANZ	21/02/1988	72:19:00	172:00:00	72:16:00	172:01:00	15,39	16,27	400	300	250	8

Tab. 1. Dati relativi alle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante EZ-NET BIONESS durante la campagna oceanografica POLAR QUEEN (1987-88).

4.2.2. Campagna CARIBOO (1989-90)

Durante il periodo tra il 25 Novembre 1989 ed il 22 Gennaio 1990 (tarda primavera-estate), sono stati prelevati campioni di zooplankton e micronekton in 27 stazioni situate nel settore Pacifico dell'Oceano Meridionale, dalla Nuova Zelanda a Capo Adare e nel Mare di Ross (Fig. 10). Più precisamente la stazione 1 era localizzata nella Zona Subantartica, la stazione 2 e 3 da un lato e dall'altro del Fronte Polare, le stazioni da 4 a 7 situate nelle zone di ghiaccio permanente (Isole Balleny), le stazioni da 8 a 24 nel Mare di Ross Occidentale e le stazioni 25, 26 e 27 presso BTN. I campioni sono stati raccolti con la multirete elettronica EZ-NET BIONESS con 10 retini da 500µm, in differenti ore del giorno. Sulla multirete era montata una sonda multiparametrica KMSII e un fluorimetro Back-Scat per rilevare simultaneamente alle pescate, temperatura, salinità, fluorescenza e ossigeno. Il flusso di acqua filtrata attraverso le reti è stato misurato da due flussimetri acustici mod. ME-SM11H posti all'esterno e all'interno della multirete. Sono stati effettuati 57 profili sino ad una profondità massima di 1000m, per un totale di 572 campioni e 47.438m³ di acqua filtrata. Lo sforzo di campionamento (come stazioni campionate, data e ora locale, massime profondità raggiunte dal BIONESS, pescate positive, profondità del fondale allo scandaglio, profondità massima delle pescate, volume d'acqua filtrata) è mostrato in Tab. 2.

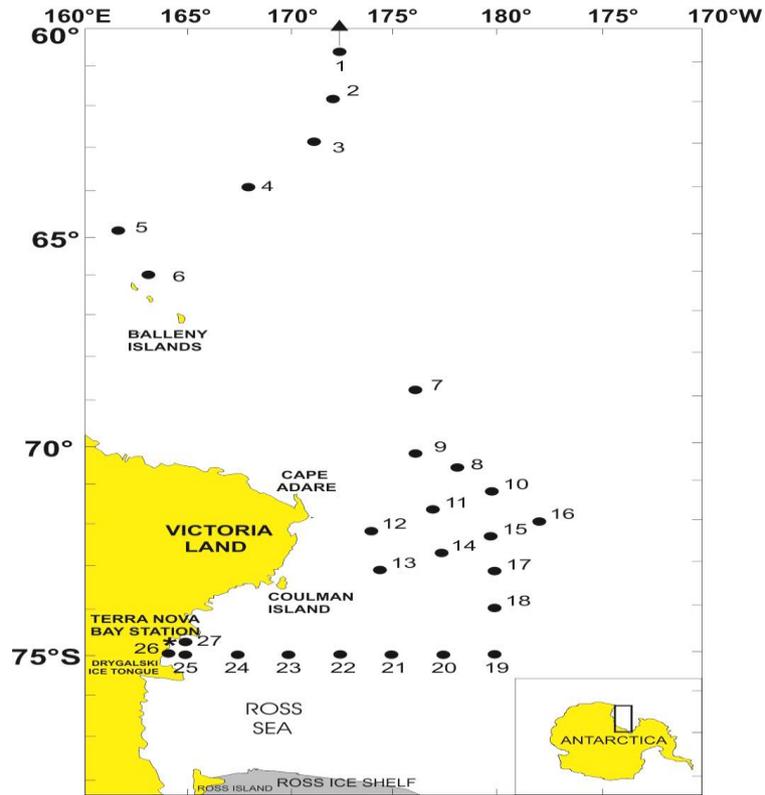


Fig. 10. Mappa delle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante EZ-NET BIONESS durante la campagna oceanografica CARIBOO (1989-90).

STATION N°	DATE	START		END		LOCAL TIME		DEPTH (m)		NETS	
		LAT. S	LONG. E	LAT. S	LONG. E	START	END	ECO	TOW	µm	SAMPLES
1	11/28/89	50,9222	172,0011	50,9717	171,9278	15,48	16,41	517	400	500	10
2	11/29/89	61,9956	172,1753	61,9564	172,2892	9,27	10,58	4230	1000	500	10
3	12/1/89	65,0764	171,9894	65,1253	171,6217	8,47	9,55	2150	800	500	10
3bs	12/1/89	62,9911	172,0769	62,9833	172,0597	14,27	15,04	3220	200	500	10
4	12/3/89	63,9489	168,1203	63,9494	168,0375	21,21	22,40	3125	1000	500	10
5	12/5/89	64,8675	161,8367	64,8944	161,9778	10,38	12,10	3130	1000	500	10
6	12/6/89	66,0872	163,6733	66,0986	163,5508	16,37	17,25	2700	1000	500	10
7gug	12/17/89	69,5917	176,4111	68,6056	176,4389	17,48	18,17	3505	200	500	7
7bs	12/17/89	68,5833	176,4111	68,6250	176,4694	18,47	20,12	3530	1000	500	10
9	12/21/89	70,2083	176,4528	70,1667	176,3556	13,13	14,37	3285	1000	500	10
9bs	12/21/89	70,1889	176,4667	70,1667	176,4028	15,27	16,08	3290	200	500	10
8gug	12/22/89	70,7000	178,1083	70,6750	178,1583	8,06	8,45	3350	200	500	10
8bs	12/22/89	70,6389	178,2056	70,6028	178,3194	9,32	11,07	3390	1000	500	10
10	12/23/89	71,2194	179,6806 w	71,1917	179,7472 w	15,02	15,47	1325	200	500	10
10bs	12/23/89	71,1667	179,8250 w	71,1417	179,9778 w	16,30	18,02	1340	1000	500	10
11	12/24/89	71,6139	176,8917	71,6361	176,9222	16,40	17,18	940	200	500	10
11bs	12/24/89	71,6500	176,9444	71,6861	177,0583	18,00	18,13	845	800	500	10
12	12/25/89	72,1667	173,9611	72,1667	173,9750	14,34	15,08	685	200	500	10
12bs	12/25/89	72,2028	173,9861	72,2361	174,0194	15,46	16,56	575	500	500	10
13	12/26/89	73,1444	174,4028	73,1750	174,3972	8,22	9,09	315	280	500	10
13bs	12/26/89	73,2028	174,3972	73,2333	174,4083	9,51	10,27	310	100	500	10
14	12/27/89	72,7333	177,5167	72,7500	177,4361	8,18	8,59	1575	200	500	10
14gova	12/27/89	72,7722	177,3556	72,8222	177,1500	9,40	11,07	1445	1000	500	5
14bs	12/27/89	72,7306	177,3361	72,7528	177,1250	14,02	15,34	1545	1000	500	10
15	12/28/89	72,3333	179,9111	72,3500	179,8889	8,21	8,55	2120	200	500	10
15bs	12/28/89	72,3139	179,8778	72,3389	179,7806	9,33	11,03	2140	1000	500	10
1K	12/28/89	72,2861	179,7889 w	72,2694	179,7694 w	19,20	20,20	1790	60	500	10
16	12/29/89	71,9500	177,7472 w	71,9556	177,7944 w	8,17	8,53	760	200	500	10
16bs	12/29/89	71,9556	177,8056 w	72,0167	178,0417 w	9,31	10,50	750	700	500	10
17	12/30/89	73,1694	179,9722 w	73,1694	179,9583 w	9,02	9,47	535	450	500	10
17bs	12/30/89	73,1917	179,9667 w	73,1528	179,8194 w	10,28	10,57	530	100	500	10
18	12/31/89	73,9778	179,9333	73,9917	179,9722	8,25	8,54	280	250	500	10
18bs	12/31/89	73,9750	179,9000	73,9833	179,9611	9,35	10,05	270	100	500	10
19	1/1/90	75,0056	179,9778	75,0361	179,8917 w	10,35	11,33	460	400	500	10
19bs	1/1/90	75,0028	180,0028	75,0194	179,9750 w	12,18	12,45	460	100	500	10
20	1/2/90	74,9889	177,4917	75,0056	177,5389	8,15	8,47	390	350	500	10
20bs	1/2/90	74,9861	177,5194	75,0000	177,5389	9,38	10,03	390	100	500	10
21	1/3/90	74,9861	175,0000	75,0028	175,0306	8,22	8,58	300	250	500	10
21bs	1/3/90	75,0000	175,0361	75,0222	175,0306	9,56	10,25	285	100	500	10
22N	1/3/90	74,9694	172,5583	75,0250	172,6194	23,00	0,02	540	450	500	10
22	1/4/90	74,9833	172,4722	75,0361	172,5333	8,11	9,19	545	500	500	10
22bs	1/4/90	75,0250	172,4833	75,0417	172,3500	10,32	10,58	550	100	500	10
22P	1/4/90	75,0056	172,4889	74,9722	172,6167	16,17	17,24	550	500	500	10
23	1/5/90	75,0028	169,9556	74,9750	170,0778	8,24	9,09	345	300	500	10
23bs	1/5/90	75,0083	169,9861	74,9944	170,0861	10,06	10,38	345	100	500	10
24	1/6/90	74,9972	167,5500	74,9833	167,3833	8,28	9,27	520	450	500	10
24bs	1/6/90	74,9806	167,5833	74,9667	167,4361	10,09	10,39	545	100	500	10
25	1/7/90	74,9389	165,4000	74,9889	165,3111	12,20	13,51	885	800	500	10
25bs	1/7/90	74,9361	165,4222	74,9500	165,3333	14,34	15,11	880	200	500	10
26	1/8/90	74,9528	164,1444	74,9528	164,3139	14,59	15,57	635	450	500	10
26bs	1/8/90	74,9500	164,1806	74,9556	164,2611	16,37	17,10	590	100	500	10
27	1/12/90	74,7667	164,9861	74,7889	164,8250	11,01	12,10	735	600	500	10
27bs	1/12/90	74,7722	164,9472	74,7833	164,8861	12,50	13,56	835	100	500	10
2K	1/20/90	70,6667	179,2444	70,6583	178,8389	8,56	11,32	NP	150	500	10
3K	1/20/90	70,5944	177,8750	70,5750	177,4806	16,00	18,57	NP	200	500	10
4K	1/21/90	70,3389	174,2667	70,3111	174,4833	9,15	10,51	NP	200	500	10
5K	1/21/90	70,1556	175,4167	70,1111	175,6889	15,37	17,32	NP	200	500	10
6K	1/22/90	69,4500	177,9944	69,3750	177,9500	9,02	10,00	NP	200	500	10

Tab. 2. Dati relativi alle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante EZ-NET BIONESS durante la campagna oceanografica CARIBOO (1989-90).

4.2.3. Campagna ROSSMIZE (1994-95)

Durante il periodo tra il 2 Novembre 1994 e il 3 Gennaio 1995 (inizio primavera-inizio estate), è stata effettuata una campagna di ricerca che ha coperto un ampio tratto del settore Occidentale del Mare di Ross, da Sud a Nord (Lat. da 76°30' a 71°56' S). L'area investigata ha incluso (Fig. 11):

- un primo gruppo di stazioni localizzate lungo il margine del pack marino nel Mare di Ross;
- un secondo gruppo di stazioni localizzate tra 180° e il 170°W di longitudine e la barriera tra il pack marino e la scarpata continentale del Mare di Ross (Lat. 72°S);
- un terzo gruppo di stazioni situate di fronte a Capo Adare;
- ed infine un gruppo di stazioni situate all'interno di Baia Terra Nova.

La campagna è stata effettuata a bordo della N/O ITALICA, congiuntamente alla campagna oceanografica statunitense a bordo della N/O PALMER, che rappresentarono una delle prime campagne oceanografiche nel Mare di Ross durante la primavera australe. L'obiettivo principale della spedizione era quello di seguire l'evoluzione della rete trofica lungo un gradiente latitudinale di circa 4° (76°-72°S) in stretta relazione allo scioglimento dei ghiacci in direzione S-N.

Il mesozooplankton è stato campionato tra il 16 Novembre e il 22 Dicembre 1994 in 36 stazioni, mediante il BIONESS (con area della bocca di 1m²) e l'utilizzo di 12 retini con maglie da 230µm. La multirete era equipaggiata con una sonda multiparametrica Sea-Bird 11 Plus per misure in continuo di temperatura, salinità, ossigeno disciolto, PAR, e fluorescenza mediante un sensore Back-Scat ed un contatore ottico di particelle (OPC). In totale sono stati prelevati 372 campioni con intervalli di profondità che variavano dai 20 ai 350m (Tab. 3). La strategia di campionamento prevedeva la ripetizione di stazioni campionate prima con condizioni di copertura di ghiaccio e successivamente in condizioni di pack rotto e acqua libera.

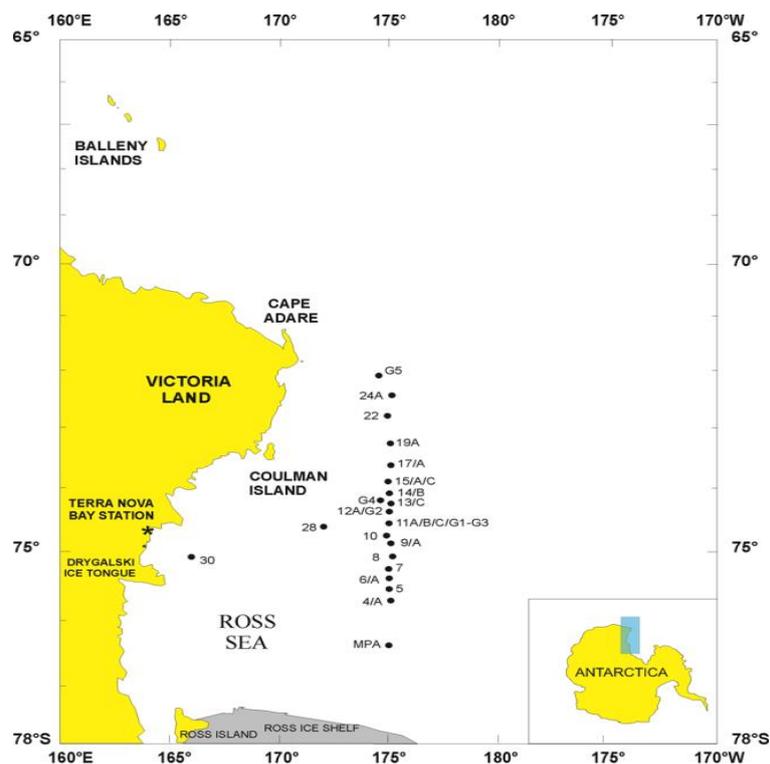


Fig. 11. Mappa delle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante BIONESS durante la campagna oceanografica ROSSMIZE (1994-95).

Station number	Local date	Position		Local Time		Bottom depth (m)	Max depth sampled (m)	Collected samples
		Lat. S	Long. E	Start	End			
04	Nov 16, 1994	75°49'.607	175°02'.125	17:42	18:29	428	350	11
05	Nov 16, 1994	75°39'.633	174°59'.303	21:29	22:26	323	300	11
06	Nov 17, 1994	75°29'.405	174°58'.760	13:19	14:12	300	280	11
07	Nov 17, 1994	75°20'.468	174°58'.437	17:09	18:10	300	280	11
MPA	Nov 20, 1994	76°26'.900	175°02'.200	16:54	18:24	510	480	11
04A	Nov 21, 1994	75°50'.394	175°01'.144	11:35	12:46	440	430	11
06A	Nov 21, 1994	75°30'.487	174°58'.965	17:53	18:48	300	280	11
08	Nov 22, 1994	75°09'.540	175°10'.322	10:06	11:07	312	300	11
09	Nov 22, 1994	74°57'.673	175°02'.343	14:55	15:43	310	300	11
10	Nov 22, 1994	74°50'.543	174°52'.655	18:33	19:31	386	370	9
G1	Nov 23, 1994	74°36'.449	175°05'.295	10:45	11:57	440	400	11
G2	Nov 23, 1994	74°34'.803	174°57'.567	16:50	17:56	448	430	11
13	Nov 24, 1994	74°19'.927	175°05'.162	16:01	17:22	538	500	11
14	Nov 25, 1994	74°10'.380	174°58'.791	15:30	16:50	555	520	10
15	Nov 26, 1994	73°59'.070	174°57'.145	21:52	23:09	574	550	11
11A	Nov 28, 1994	74°40'.466	174°56'.480	17:34	19:00	440	420	10
09A	Nov 28, 1994	75°00'.399	174°58'.293	23:25	00:14	280	260	10
12A	Nov 29, 1994	74°29'.681	175°01'.653	14:52	16:09	512	470	11
15A	Nov 30, 1994	73°58'.956	174°58'.943	11:23	12:55	576	550	11
17	Dec 03, 1994	73°42'.067	175°01'.318	19:26	20:01	436	400	3
11B	Dec 04, 1994	74°39'.210	174°58'.199	09:16	10:36	439	425	11
G3	Dec 05, 1994	74°40'.060	174°55'.001	08:39	10:16	435	400	11
22	Dec 06, 1994	72°50'.881	174°53'.528	19:02	20:13	356	340	9
24A	Dec 09, 1994	72°29'.264	174°59'.092	17:39	19:08	476	450	11
19A	Dec 11, 1994	73°18'.924	175°01'.848	09:25	10:47	380	360	11
17A	Dec 11, 1994	73°39'.633	174°58'.736	17:50	19:16	425	410	11
15C	Dec 12, 1994	73°59'.802	175°00'.400	13:46	15:25	576	560	10
14B	Dec 12, 1994	74°09'.798	175°01'.474	17:41	19:23	549	540	11
13C	Dec 13, 1994	74°20'.123	175°00'.904	14:42	16:30	546	400	9
11C	Dec 13, 1994	74°40'.360	174°59'.559	20:55	22:28	432	425	11
28	Dec 14, 1994	74°42'.136	172°00'.528	20:12	21:50	504	490	11
30	Dec 15, 1994	75°08'.740	166°07'.589	16:18	18:57	840	825	11
G4	Dec 19, 1994	74°13'.914	174°50'.693	19:21	20:55	552	540	11
G5	Dec 22, 1994	72°10'.856	174°36'.254	16:58	19:14	971	850	11
Total number of stations		Total number of samples		Max depth sampled (m)		Thickness of layer sampled (m)		
						Max	Min	
34		356		850		300	20	

Tab. 3. Dati relativi alle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante BIONESS durante la campagna oceanografica ROSSMIZE (Novembre-Dicembre 1994).

4.2.4. Campagna PIPEX (1997-98)

L'obiettivo di questo studio è stato quello di investigare sui modelli di abbondanza, distribuzione temporale e composizione specifica della meiofauna associata al ghiaccio, al platelet-ice e alla colonna d'acqua sottostante il ghiaccio a BTN. La campagna è stata effettuata nella tarda primavera del 1997 (5-28 Novembre). L'area di campionamento è stata localizzata nel ghiaccio annuale di BTN ($74^{\circ}41.72'S$, $164^{\circ}11.63'E$) a circa 2 miglia nautiche dalla base italiana. Le carote di ghiaccio sono state prelevate mediante un carotatore di 10cm di diametro con una strategia che teneva conto di due differenti scale: temporale e spaziale. Per la scala temporale sono state prelevate carote di ghiaccio ad intervalli di 2-3 giorni all'interno di una piccola area delimitata (sito staz. 5, $100m^2$) e sono state raccolte 7 carote; per la scala spaziale sono state prelevate 6 carote tra la zona marginale (MIZ) e la parte interna. L'acqua interstiziale tra il platelet è stata campionata 7 volte mediante SCUBA usando una grande siringa di plastica di $250cm^3$ (volume dei campioni da 1.6 a 6 L), mentre le scaglie di ghiaccio del platelet sono state raccolte 5 volte con un retino WP2 ($100\mu m$ di maglia) trainato all'interno del platelet. Una serie di campioni di mesozooplankton sono stati raccolti nella colonna d'acqua sotto il ghiaccio ogni 2-3 giorni dal 5 al 28 Novembre, mediante pescate verticali con un retino WP2 ($200\mu m$) a 50m dalla superficie, attraverso un foro di 200cm fatto nel ghiaccio (Fig. 12). Il retino è stato trainato alla velocità di 0.5-1.0 m/s durante il giorno tra le 8.00 e le 11.00. Il volume di acqua filtrata è stato stimato per mezzo di un flussimetro digitale, precedentemente calibrato.

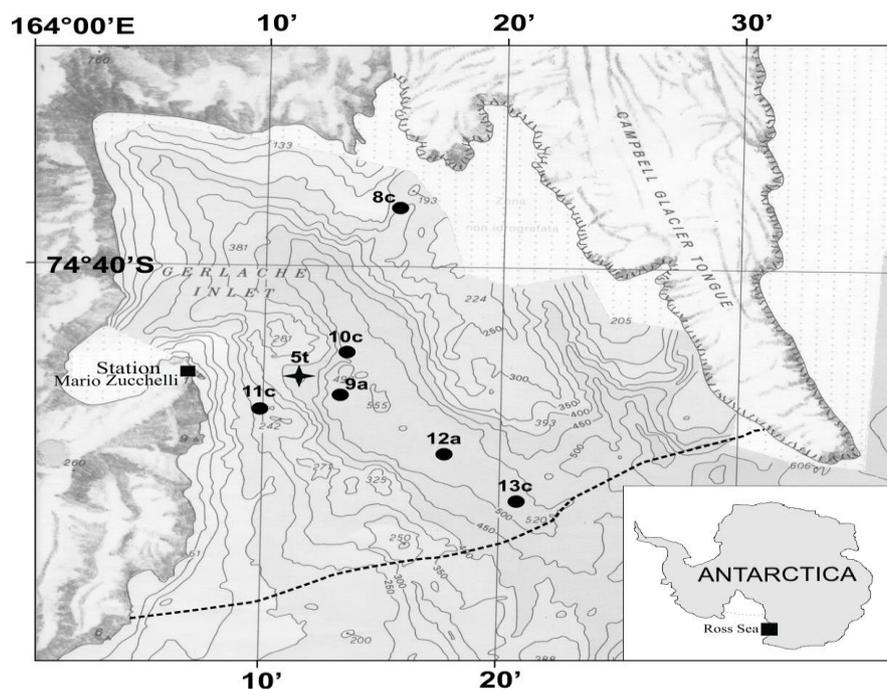


Fig. 12. Mappa delle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante retino WP2 durante la campagna oceanografica PIPEX (Novembre 1997).

4.2.5. Campagna ECOFISH (2005-06)

I campionamenti di zooplancton sono stati effettuati dal 20 al 26 Gennaio 2006 (tarda estate) con un disegno di campionamento su alcuni transetti costa-largo disposti tra il Gerlache Inlet e Tethys Bay. Il mesozooplancton è stato studiato su un reticolo di 12 stazioni allocate su batimetriche di 50, 150 e 200m tra Tethys Bay e l'area denominata Caletta, con una distanza massima dalla costa di circa 1.7 miglia marine (Fig. 13). Sono state effettuate peschate verticali dalla massima profondità di 220m sino in superficie, utilizzando un retino standard WP2 con maglie da 200 μ m (Tab. 5). L'ittioplankton è stato campionato con un retino Bongo con maglie da 500 μ m, effettuando peschate oblique fino ad un massimo di 190m di profondità. Il retino Bongo è stato equipaggiato con un flussimetro ed un TDR (Time Depth Recorder), al fine di stabilire sia i metri cubi filtrati che la profondità di campionamento. Sia per il retino WP2 che per il retino Bongo, sono state effettuate tre campionamenti per ogni stazione, secondo le esigenze delle varie UU.OO. Per lo studio dello zooplancton sono state esaminati in totale 12 campioni prelevati con il retino WP2 e 12 con il retino Bongo.

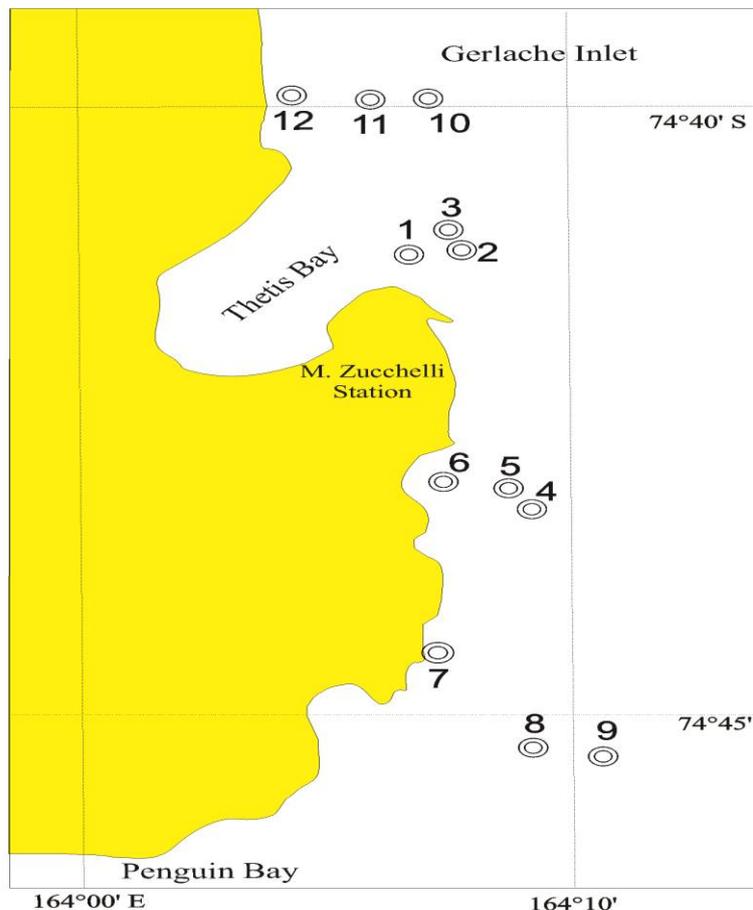


Fig. 13. Mappa delle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante retino WP2 e retino BONGO durante la campagna oceanografica ECOFISH (2005-06).

WP2											
Station	Date	Lat. S	Long. E	Local time	Depth	Volume Filtered	<i>Limacina helicina antarctica</i>		<i>Clione limacina antarctica</i>		
					m	m ³	Ind m ³	Ind m ²	Ind m ³	Ind m ²	
1	20/01/2006	74°41'20"	164°06'49"	16:34	60	11,5	18,83	11299,04	0,17	104,62	
2	20/01/2006	74°41'11"	164°07'50"	19:00	150	33,4	5,03	7544,91	0,06	89,82	
3	21/01/2006	74°41'00"	164°07'25"	11:47	220	51,0	1,88	4141,18	0,00	0,00	
4	22/01/2006	74°43'20"	164°09'20"	10:58	207	47,2	10,81	22380,75	0,04	87,77	
5	23/01/2006	74°43'12"	164°08'53"	10:21	156	38,3	11,56	18026,67	0,05	81,57	
6	23/01/2006	74°43'08"	164°07'26"	11:45	50	12,8	70,75	35372,55	0,00	0,00	
7	24/01/2006	74°44'30"	164°06'31"	11:45	50	12,8	51,76	25882,35	0,16	78,43	
8	25/01/2006	74°45'15"	164°09'00"	10:15	157	38,3	16,21	25448,37	0,10	164,18	
9	25/01/2006	74°45'20"	164°10'41"	10:50	208	51,0	4,82	10032,94	0,01	16,31	
10	26/01/2006	74°39'57"	164°06'51"	09:52	212	50,0	7,96	16881,95	0,04	84,83	
11	26/01/2006	74°39'57"	164°05'41"	11:45	157	38,3	8,68	13627,19	0,05	82,09	
12	26/01/2006	74°39'53"	164°04'08"	12:27	68	15,3	48,37	32888,89	0,02	13,33	

BONGO											
Station	Date	Lat. S	Long. E	Local time	Depth	Volume Filtered	<i>Limacina helicina antarctica</i>		<i>Clione limacina antarctica</i>		
					m	m ³	Ind m ³	Ind m ²	Ind m ³	Ind m ²	
1	20/01/2006	74°41'22"	164°07'04"	15:29	46	67,7	0,32	145,28	0,13	61,24	
2	20/01/2006	74°41'11"	164°07'55"	17:42	138	164,5	0,09	122,08	0,03	42,50	
3	21/01/2006	74°41'02"	164°07'27"	10:32	183	199,1	0,08	152,65	0,08	148,52	
4	22/01/2006	74°43'13"	164°09'10"	09:36	148	188,8	0,08	123,07	0,03	39,19	
5	23/01/2006	74°43'13"	164°08'50"	09:15	134	151,9	0,08	109,83	0,01	19,85	
6	23/01/2006	74°43'08"	164°07'26"	11:18	42	133,4	0,62	262,30	0,06	23,32	
7	24/01/2006	74°44'49"	164°06'30"	10:56	39	163,0	0,37	143,80	0,03	13,28	
8	25/01/2006	74°45'04"	164°09'00"	08:55	145	146,1	0,16	228,67	0,02	28,09	
9	25/01/2006	74°45'15"	164°10'40"	11:41	190	207,0	0,14	273,07	0,02	35,34	
10	26/01/2006	74°39'59"	164°06'30"	08:31	155	200,1	0,14	222,70	0,03	41,83	
11	26/01/2006	74°39'59"	164°05'40"	10:39	123	201,9	0,09	112,76	0,02	30,17	
12	26/01/2006	74°39'54"	164°04'09"	14:52	39	106,6	0,58	225,94	0,10	37,54	

Tab. 5. Dati relativi alle stazioni campionate nel Mare di Ross mediante retino WP2 e retino BONGO durante la campagna oceanografica ECOFISH (2005-06).

4.2.6. Campagna CEFA (2015-16)

I nostri studi sono stati condotti presso BTN, tra Novembre 2015 e Febbraio 2016 (Estate Australe 2015/2016) nel corso della XXXI Spedizione Italiana in Antartide, all'interno del "progetto CEFA" (Costal Ecosystem Function in Antarctic Ocean). In particolare, come mostrato in Fig. 14, è stata presa in esame una stazione di prelievo chiamata Campo Ciccio, vicina alla Base di Ricerca Italiana "Mario Zucchelli" (coordinate 74°41'.03S 164°07'.857E).



Fig. 14. Mappa della stazione campionata presso Campo Ciccio.

Gli esemplari sono stati recuperati mediante l'utilizzo di un retino standard da zooplankton tipo WP2 con maglia da 200µm ad una profondità che variava fra i 100 e i 150m. Gli esemplari del genere *Limacina* sono dotate di un guscio molto sottile e fragile che è

spesso danneggiato o addirittura distrutto durante il campionamento (Hamner et al. 1975; Gilmer 1990). Proprio per queste ragioni, la raccolta del campione mediante la metodica standard con retino WP2, ha previsto alcune modifiche per salvaguardare la vitalità degli organismi utilizzati per le successive fasi sperimentali. Subito dopo la risalita del retino che avveniva molto delicatamente, esso non veniva sciacquato onde evitare qualunque stress agli esemplari. Gli esemplari presenti nel raccoglitore del retino erano recuperati ed, immediatamente sul posto, selezionati in base al loro diametro e al loro grado di vitalità (data dalla capacità di nuotare). Quindi, venivano trasferiti in un contenitore da 2 litri con acqua di mare filtrata (mediante filtro GF/F) acclimatata nel foro, in cui era stato condotto il campionamento. Compilate le varie operazioni di prelievo, gli organismi venivano trasferiti rapidamente in laboratorio sotto condizioni controllate. In aggiunta, alcuni esemplari derivanti dal campionamento erano trasferiti in cryovials contenente etanolo al 95% il quale veniva eliminato e ripristinato con una soluzione fresca dopo 24 ore. Tutti i campioni successivamente fissati con la soluzione di etanolo al 95% erano conservati a -20°C per preservare la degradazione del DNA.

4.3. PROCEDURE DI LABORATORIO

4.3.1. Analisi quali-quantitative

I campioni prelevati nelle campagne ROSSMIZE, PIPEX, e ECOFISH, sono stati analizzati nel laboratorio di Ecologia dello Zooplankton dell'Università di Messina, secondo la seguente procedura:

- Sorting:** da ogni campione, venivano separati tutti i molluschi pteropodi presenti o allestendo un sub-campionamento nel caso in cui le abbondanze erano elevate;
- Conteggio:** gli organismi separati nella fase di sorting venivano contati e osservati con l'ausilio di un microscopio stereoscopico Wild M10;
- Misure biometriche:** tutti gli organismi presi in considerazione per il presente studio venivano misurati. Nello specifico il parametro preso in considerazione era il diametro del guscio (tali dati sono stati utilizzati parzialmente nel presente lavoro di tesi);
- Tabulazione:** tutti i dati sono stati elaborati per il calcolo delle abbondanze come numero di individui per metro cubo (distribuzione verticale) o numero di individui per metro quadrato (distribuzione orizzontale);
- Grafica:** tutti i risultati derivanti dalla fase precedentemente descritta, venivano rappresentati mediante grafici esplicativi la distribuzione orizzontale e verticale, quest'ultima correlata ai parametri fisici e chimici registrati dal BIONESS simultaneamente alle pescate.

I campioni delle campagne POLAR QUEEN e CARIBOO, adoperati in questo lavoro, erano già stati processati in precedenza mediante analisi quali-quantitative su tutta la comunità zooplanctonica. In questa tesi sono stati utilizzati solo i dati relativi ai molluschi gasteropodi, per avere un quadro più chiaro e dare un maggior contributo riguardo la distribuzione orizzontale e verticale delle due specie oggetto del presente lavoro di tesi.

4.3.2. Analisi molecolare

Per garantire un prezioso supporto alla tassonomia classica, i campioni prelevati nella campagna CEFA sono stati analizzati nel laboratorio di Biologia Molecolare dell'Università di Messina per l'identificazione della specie oggetto di studio, utilizzando le seguenti metodiche:

-Estrazione DNA: il DNA totale veniva estratto da dieci organismi usando il QIAamp DNA Micro Kit in accordo con il manuale d'istruzione (Qiagen, Hilden, Germany) con alcune variazioni. All'inizio i campioni da estrarre, erano idratati in acqua distillata DNase free per 15 minuti. Successivamente veniva fatta evaporare l'acqua di idratazione sottoponendo i campioni in un termoblocco a 90°C finché i campioni non erano completamente asciutti. Dopo l'evaporazione dell'acqua di idratazione, venivano aggiunti 20µl di una soluzione di proteinasi K 10mg/ml e 180µl di ATL (soluzione tampone presente nel Kit). I campioni erano incubati a 56°C per 2 ore in un thermoshaker a 500 rpm (rivoluzione per minuto). Terminata la fase di lisi, i campioni erano brevemente centrifugati e posti in un nuovo tubo da 1.5ml e missato con una soluzione di fenolo/alcool isoamilico (25:1). Questo step era fondamentale per rimuovere sostanze presenti in questi organismi che potevano interferire nelle successive fasi di amplificazione. Le fasi successive seguivano in accordo con il protocollo della ditta fornitrice QIAamp DNA Micro Kit. Completate le varie fasi di purificazioni i campioni venivano eluiti in 200µl di elution buffer. Il DNA così ottenuto era conservato a -20°C.

-PCR (amplificazione regione *mtCOI*): il DNA ottenuto (come descritto sopra), veniva utilizzato nel protocollo di amplificazione della regione considerata (*mtCOI*) mediante l'enzima DNA polimerasi Dream Taq (Thermo Fischer Scientific), nelle seguenti condizioni:

- 1x DreamTaq Buffer
- 1 mM dNTP's
- 0.5 µM LCO-149050 primer
- 0.5 µM HCO-219850 primer
- 2.5 U DreamTaq DNA Polymerase
- 50 ng DNA
- H₂O
- Volume finale 50µl

Tutti i componenti sono stati inseriti in un eppendorf da 0,2ml.

Le sequenze dei primers utilizzati erano in accordo con le sequenze pubblicate secondo Folmer (Folmer et al. 1994).

LCO	149050	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
HCO	219850	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'

Le condizioni adottate per l'amplificazione della regione considerata (*mtCOI*) sono state le seguenti:

95°C	95°C	55°C	72°C	cicli
3 minuti				1
	30 sec	60 sec	100 sec	35
			10 minuti	1

-Elettroforesi e purificazione da gel: il prodotto della PCR ottenuto veniva fatto correre su gel di agarosio al 1.5% in TAE 1x (40mM Tris-acetato, 1mM EDTA) contenente bromuro di etidio. Tale tecnica permette di separare frammenti di DNA di varie dimensioni per finalità sia analitiche che preparative. L'agarosio è un polimero lineare estratto da alghe, solido a temperatura ambiente, esso viene sciolto in un tampone TAE. Applicando una corrente elettrica al tampone a pH 8 (TAE 1x) in cui è immerso il gel, il DNA migrerà verso l'anodo poiché a tale pH è carico negativamente. Il grado di migrazione del DNA è inversamente proporzionale al logaritmo in base dieci del suo peso molecolare; inoltre il grado di separazione del gel diminuisce all'aumentare del peso molecolare. In seguito alla separazione delle bande, il gel veniva acquisito mediante sistema fotografico Polaroid e le successive analisi, effettuate mediante software Kds1D (Polaroid), consentivano di avere una stima della grandezza degli amplificati ottenuti. Appena terminata l'elettroforesi, la banda di interesse (~700 bp) era escissa dal gel mediante l'utilizzo di un bisturi e purificata mediante l'uso di un kit di estrazione di DNA da gel della ditta Euroclone (EuroGOLD Gel Extraction Kit), in accordo con il manuale di istruzione della ditta. Il gel viene pesato e aggiunti 3 volumi di binding buffer per volume di gel. Dopo incubazione a 50°C per 10 minuti, agitando ogni 3 minuti, la soluzione veniva trasferita nella colonnina e centrifugata a 10000 rpm per 1 minuto. Dopo aver eliminato l'eluato, si procedeva con l'aggiunta alla colonnina di 600µl di wash buffer, seguito da un'incubazione a temperatura ambiente per 5 minuti e da centrifugazione nelle condizioni precedentemente descritte, passaggi ripetuti per due volte. Dopo aver eliminato l'eluato e ricentrifugato per eliminare tutte le tracce di etanolo presenti nel buffer di lavaggio, si eseguiva l'eluazione del DNA aggiungendo 50µl di elution buffer al centro della

colonnina seguito da un periodo di incubazione a temperatura ambiente per 20 minuti ed una centrifugazione di 1 minuto a 10000 rpm.

-Sequenziamento della *mtCOI*: il campione dopo la purificazione è stato preparato seguendo le indicazioni fornite dalla ditta GATC-Biotech (Germania) a cui sono stati inviati per il sequenziamento.

La strategia sperimentale è così schematizzata (Fig. 15):

1. determinazione della sequenza nucleotidica della *mtCOI* ottenuta;
2. confronto della sequenza nucleotidica ottenuta con quelle presenti in banca dati ed appartenenti ad altri organismi;
3. costruzione dell'albero filogenetico sulla base delle sequenze nucleotidiche;
4. identificazione dell'organismo.

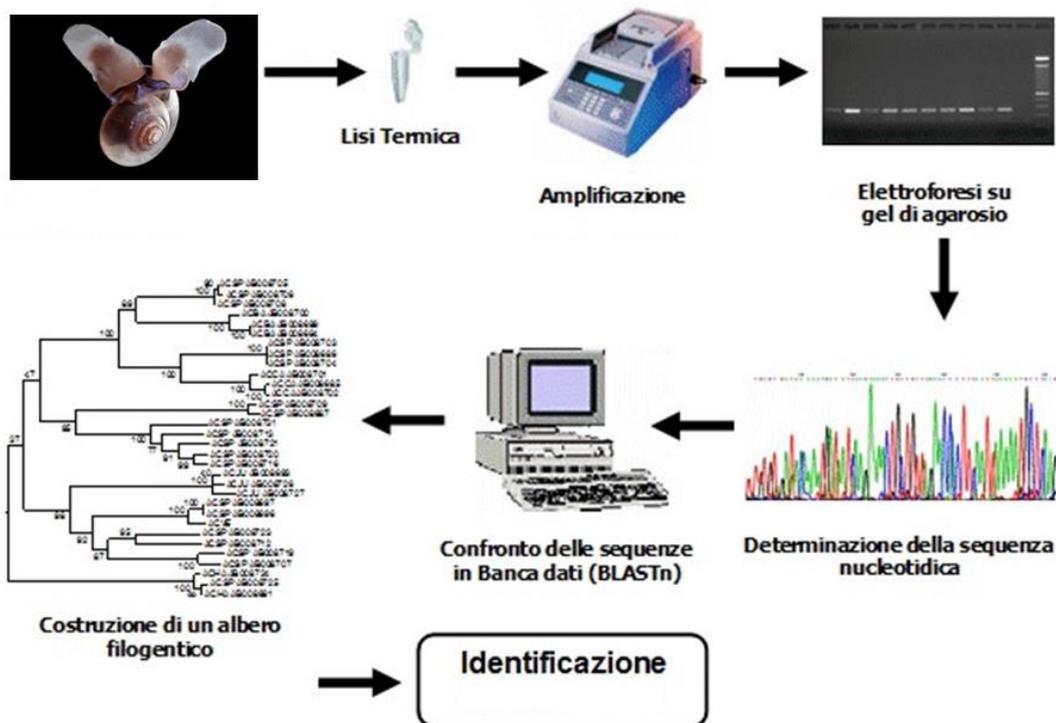


Fig. 15. Strategia sperimentale del sequenziamento della *mtCOI*.

I risultati ottenuti dal sequenziamento erano analizzati mediante un software bioinformatico gratuito FinchTV version 1.4.0 (Geospiza Inc.). Le sequenze ottenute (Fwd e Rev) dal FinchTV sono state corrette manualmente e allineate utilizzando CLUSTAL_X (Thompson et al. 1997). Le sequenze risultanti sono state a questo punto allineate con quelle presenti nel database (BLASTn search) e, infine, utilizzate per la costruzione degli alberi filogenetici (mediante il metodo *neighbor-joining*; Saitou & Nei 1987) utilizzando il software MEGA5 (Kumar et al. 2004).

RISULTATI

5.1. POLAR QUEEN

Distribuzione orizzontale

Per la campagna Polar Queen, possono essere delineati sinteticamente i seguenti risultati. Il Mare di Ross, compresa BTN, rappresenta un mosaico di sottosistemi che funzionano in maniera differente. Quando il pack è compatto la biomassa dello zooplancton è bassa e il popolamento poco strutturato. Con l'avanzare dell'estate, gli erbivori (copepodi e molluschi pteropodi) raggiungono alte biomasse nello strato 40-60m sotto il termocline. Le specie più importanti di copepodi includono, adulti e stadi larvali di *Calanoides acutus*, *Calanus propinquus*, *Metridea gerlachei* e *Rhincalanus nasutus*. A BTN la comunità zooplanctonica estiva nello strato eufotico superficiale (20-40m) è caratterizzata dal mollusco pteropode *L. helicina antarctica*, da stadi larvali e post-larvali del pesce pelagico *P. antarcticum* e stadi calyptopis e furcilia di *Euphausia crystallophias*. Altri gruppi includono anfipodi iperidi e gammaridi, molluschi clionidi, chetognati, ostracodi ed il misidaceo mesopelagico *Antarctomysis ohlini*. I risultati mostrano una mancanza del krill pelagico *E. superba* in tutta l'area esaminata, alta omogeneità tassonomica in tutte le stazioni con una densità media di 321 ind/m³ nello strato 0-200m con rete da 200µm, e 140 ind/m³ con rete da 500µm. I copepodi dominano nello strato 50-150m, con due massimi valori di densità rispettivamente a 50-80m e 110-130m. Chetognati, policheti, ostracodi e gammaridi prevalgono nello strato 200-500m, mentre misidacei ed ostracodi dominano nello strato 500-800m. Come misura del contributo di *L. helicina antarctica* alla comunità zooplanctonica nello strato 0-100m, è stato calcolato il rapporto percentuale medio che è risultato essere di 21.9% ± 15.5 (Fig. 16), con il valore più alto di 49.7% registrato nella stazione 46. Altre stazioni che presentano valori percentuali ancora alti sono: 17 (47.1%), 1SK (43.0%), 18 (42.9%), 12 (39.6%), 36 (35.4%) e 20 (23.0%).

In Fig. 17, è stata riportata la distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* nello stesso strato (0-100m), in cui rappresenta il 95.4% di tutta la popolazione distribuita nella colonna d'acqua. La densità media, calcolata per le pescate positive in questo strato, su un totale di 20 stazioni, è risultata di 15.440 ± 22.964 ind/m², con il valore massimo di 90.856 ind/m² registrato nella stazione 1SK. Quattro sono le stazioni che mostrano valori intermedi discreti (staz. 3, 12, 17 e 18), tutte nella zona Nord di BTN, con valore medio di 38.008 ± 8.823 ind/m², mentre il resto delle stazioni hanno un valore medio di 4.393 ± 4.060 ind/m².

In Fig. 18, è stata riportata la distribuzione spaziale orizzontale di *C. limacina antarctica* in tutto lo strato campionato nelle 26 stazioni positive su un totale di 34 stazioni. La densità media è risultata essere di 7.2 ± 4.5 ind/m², con il valore massimo di 35.4 ind/m² registrato nella stazione 11a. Valori intermedi sono stati evidenziati nelle stazioni 1SK (17.3 ind/m²), 46 (16 ind/m²), 16 (11.9 ind/m²), 10 (11.1 ind/m²) e 14 (10 ind/m²). Il rapporto percentuale medio di *C. limacina antarctica* rispetto allo zooplancton totale di tutta la colonna d'acqua è stato di $0.02\% \pm 0.02$, con il valore più alto di 0.09 nella stazione 11a.

Limacina helicina antarctica

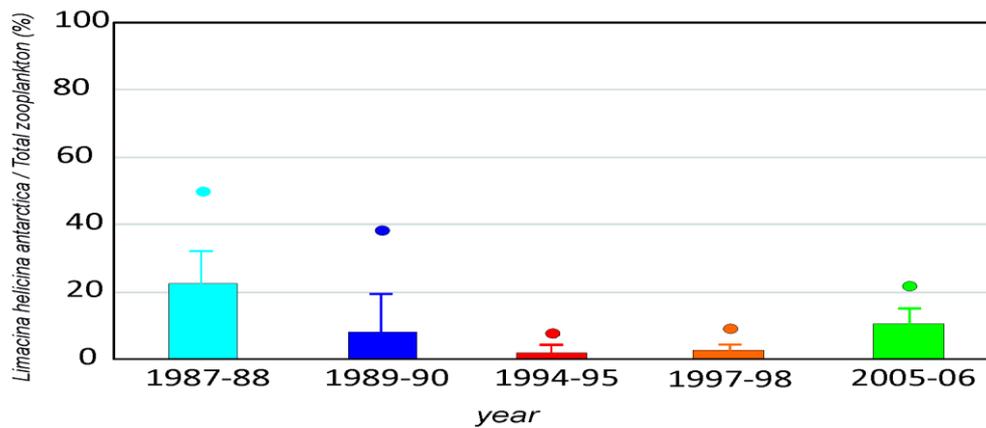


Fig. 16. Rappresentazione del rapporto percentuale medio di *L. helicina antarctica* sulla comunità zooplanctonica totale.

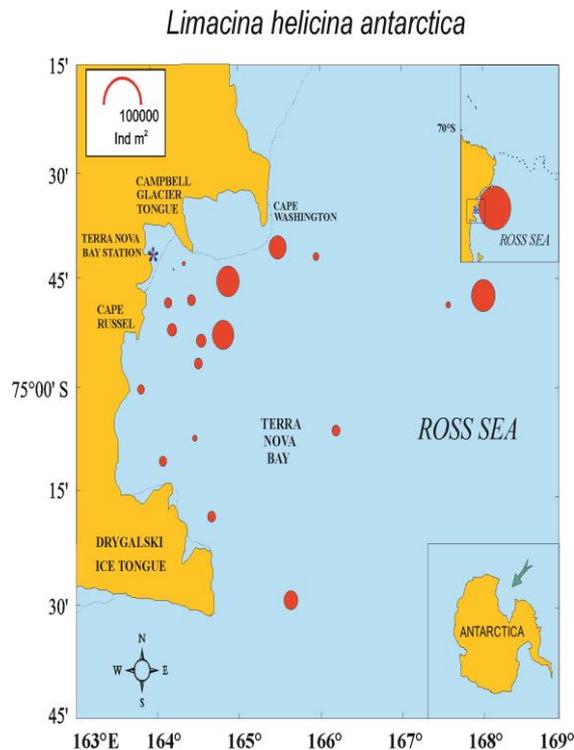


Fig. 17. Distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* durante la spedizione POLAR QUEEN.

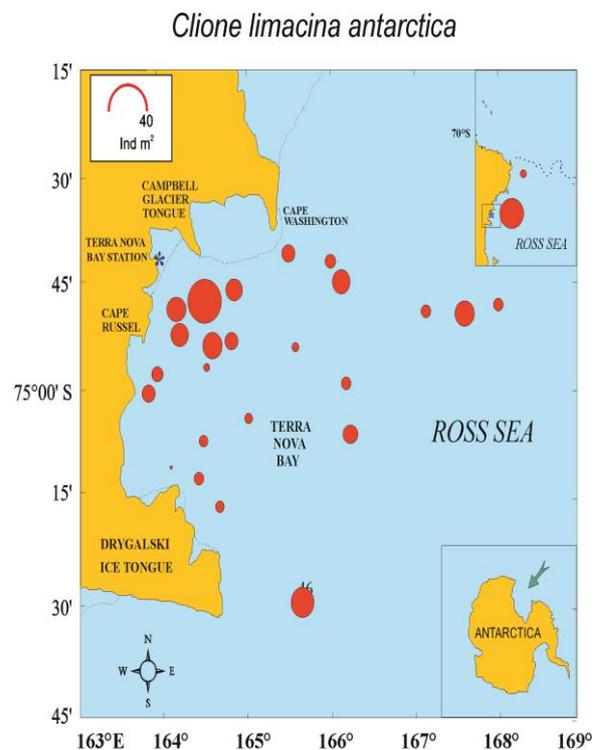
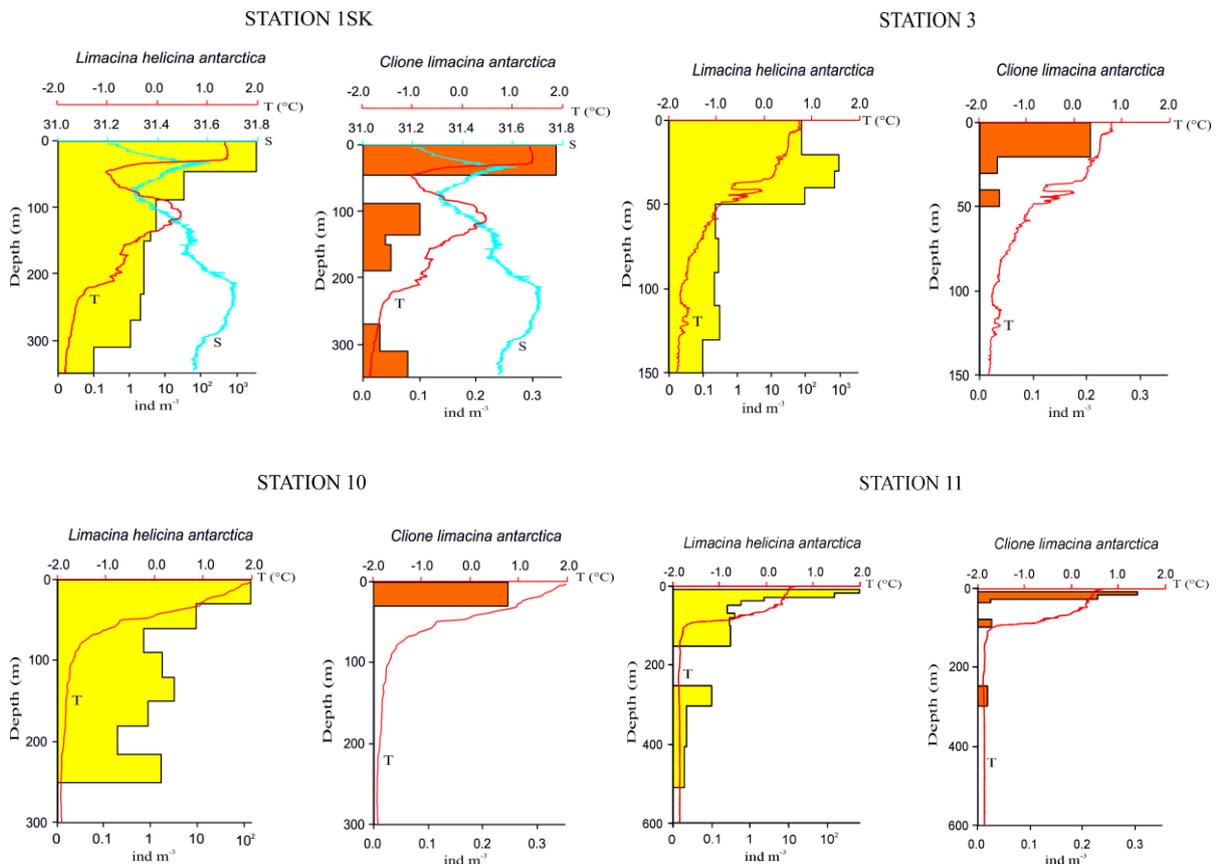


Fig. 18. Distribuzione spaziale orizzontale di *C. limacina antarctica* durante la spedizione POLAR QUEEN.

Distribuzione verticale

In Fig. 19, si riportano i profili verticali sulla distribuzione di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* in 8 stazioni rappresentative dell'area di BTN ed una stazione (1SK) fuori Capo Adare. La relazione tra la distribuzione di queste due specie con la temperatura e salinità si può vedere negli stessi grafici. Le stazioni sono state campionate nella piattaforma continentale di BTN tra 150-600m di profondità, mentre nella stazione 1SK è stata raggiunta una profondità massima di 350m. In tutte le stazioni *L. helicina antarctica* occupa tutto lo strato campionato, mentre *C. limacina antarctica* occupa lo strato tra la superficie e 50m di profondità solo in tre stazioni (3, 10 e 19). Nelle stazioni 1SK, 17, 32 e 46 la stessa specie mostra una distribuzione più uniforme, ma con scarso numero di individui ad intervalli di quote campionate sino in profondità. I massimi di densità per ambedue le specie sono state riscontrate nei primi 50m, con un dettaglio maggiore dove il BIONESS ha prelevato campioni con intervalli tra 10-20m (superficie-termocline, stazioni 3, 10, 11 e 17). Le massime densità di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* coincidono con lo spessore del termocline ad una profondità di circa 20-30m durante tutte le ore del giorno.



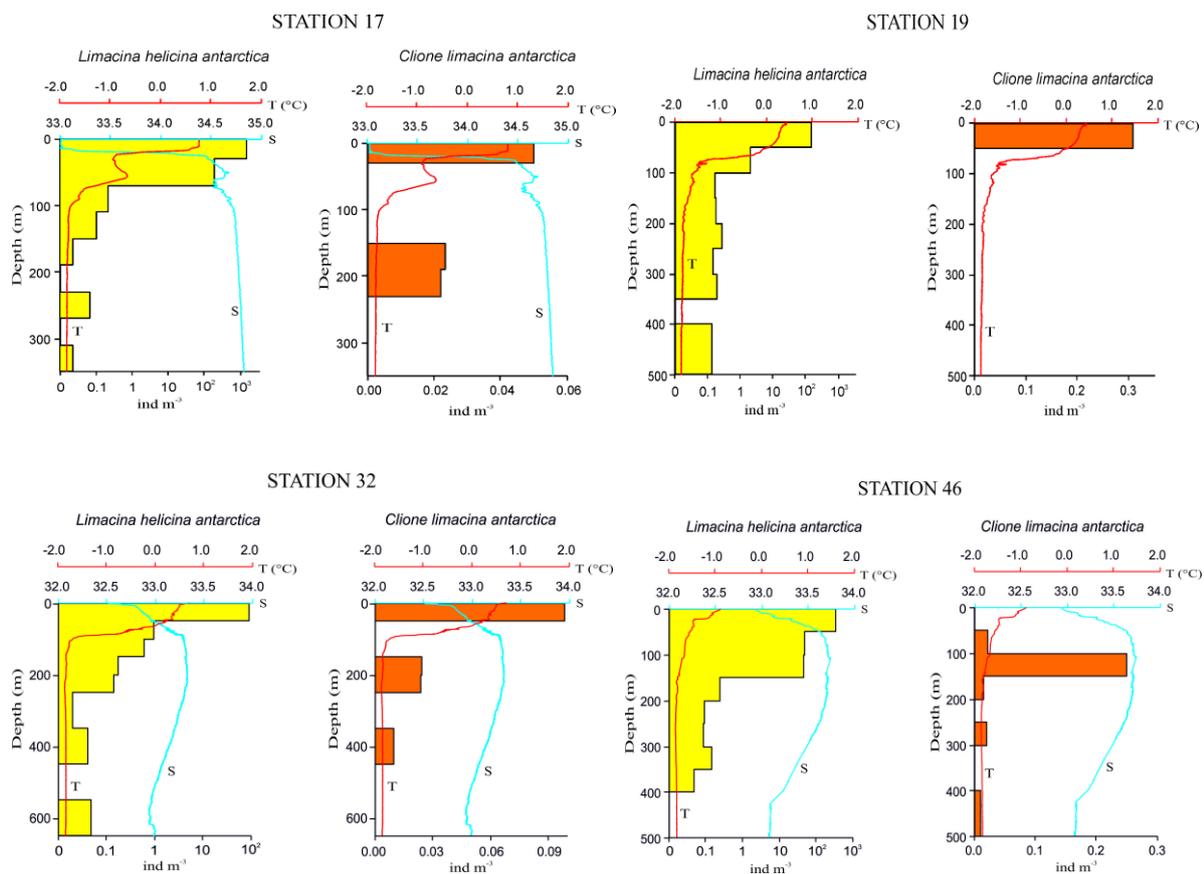


Fig. 19. Profili sulla distribuzione verticale di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* della campagna oceanografica POLAR QUEEN.

5.2. CARIBOO

Distribuzione orizzontale

Il principale obiettivo di questa campagna di ricerca è stato quello di comprendere meglio il funzionamento dell'ecosistema pelagico attraverso lo studio, in tarda primavera-estate, della composizione spaziale della comunità zooplanctonica nella zona settentrionale, intermedia e meridionale che coincidono con la distribuzione delle masse d'acqua e con i modelli di copertura del ghiaccio marino. È noto infatti che alte biomasse sono presenti vicino la convergenza antartica e decrescono procedendo verso Sud. La zona intermedia è un'area coperta dal ghiaccio in primavera-inverno, mentre la stessa zona è libera dal ghiaccio in estate-autunno. Questa regione è una delle più produttive dell'Oceano Meridionale, dove il krill pelagico *E. superba* è la specie dominante. Nella zona meridionale l'abbondanza e la biomassa zooplanctonica sono basse. Specie frequenti, a volte con alte biomasse, sono il krill costiero *E. crystallophias*, gli pteropodi *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* e stadi larvali del pesce *P. antarcticum*. Alte abbondanze zooplanctoniche sono state misurate nella parte meridionale del fronte antartico, dalla superficie sino a 20m di profondità ($105.665 \text{ ind}/100\text{m}^3$) sopra il massimo di clorofilla. La composizione è determinata essenzialmente da

copepodi adulti e dai loro stadi larvali, insieme a stadi calyptopis e furcilia. Il tunicato *Salpa fusiformis* è risultato molto abbondante da 160 a 200m vicino la convergenza antartica. Nell'area del Mare di Ross lo zooplancton è caratterizzato da bassi valori di densità (39-143 ind/100m³), con *L. helicina antarctica* quale erbivoro più importante nello strato più superficiale (20-0m). Gli anfipodi sono importanti tra 70-100m, invece i copepodi mostrano due picchi di densità tra 60-80m e 120-140m, mentre negli strati più profondi della zona pelagica dominano oltre copepodi, chetognati e ostracodi. In Fig. 20, è stata riportata la distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* nello strato 0-100m (98.7% degli individui presenti in questa colonna di acqua) per le pescate positive (14/27 stazioni). La densità media è risultata essere di 103 ind/m² ± 243 con un valore massimo di 928 ind/m² registrato nella stazione 2 (convergenza). Come misura del contributo di *L. helicina antarctica* alla comunità zooplanctonica totale nello stesso strato è stato calcolato il rapporto percentuale medio di 7.8% ± 11.3 (Fig. 16), con il valore più alto del 38% registrato nella stazione 22. Nella Fig. 21, viene riportata la distribuzione spaziale di *C. limacina antarctica* nello strato 0-100m che mostra una densità media di 118 ind/m² ± 195, con un valore massimo di 780 ind/m² nella stazione 25. *Clione limacina antarctica* rappresenta in media il 4.42% ± 10.99 dello zooplancton totale, con un valore massimo di 58.1% nella stazione 13.

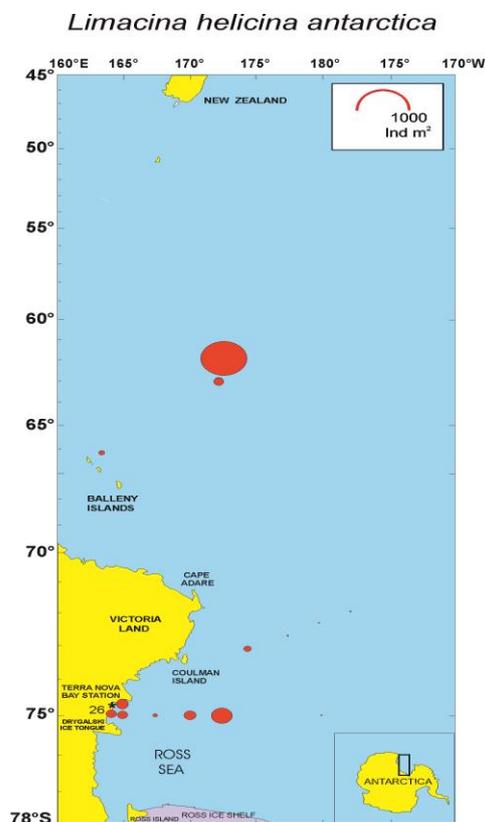


Fig. 20. Distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* durante la spedizione CARIBOO.

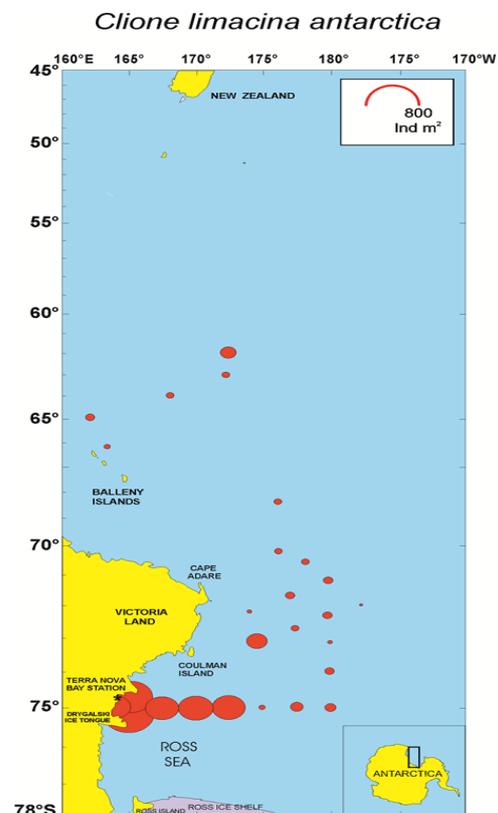
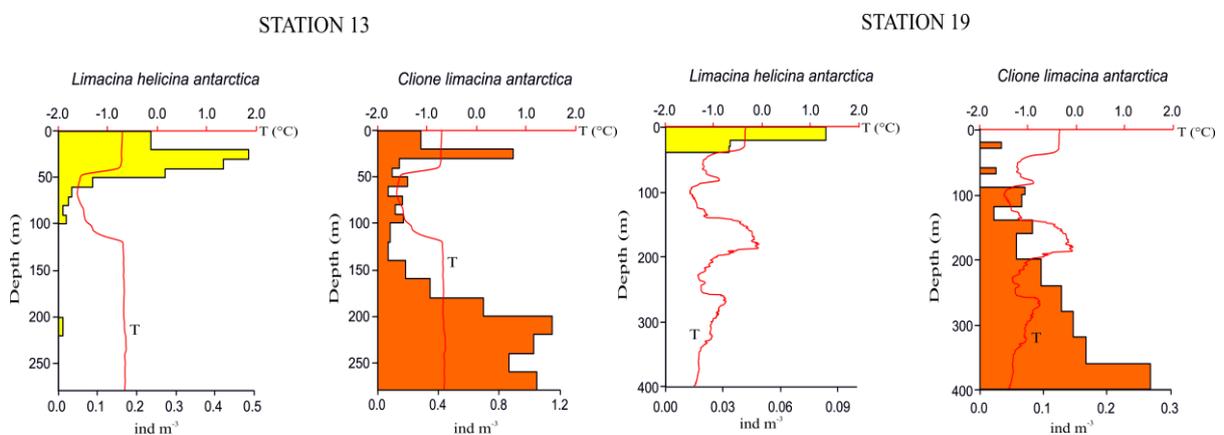


Fig. 21. Distribuzione spaziale orizzontale di *C. limacina antarctica* durante la spedizione CARIBOO.

Distribuzione verticale

In Fig. 22, si riportano i profili verticali sulla distribuzione di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* nelle 10 stazioni più rappresentative dalle abbondanze riscontrate nell'area di studio. Ad eccezione della stazione 13 situata a largo della Terra Vittoria, le rimanenti stazioni dalla 22 alla 27 fanno parte di un transetto costa-largo dalla piattaforma del Mare di Ross sino a BTN. In tutte le stazioni è presente un forte termocline tra la superficie e 20-40m con temperature da $+1.5^{\circ}\text{C}$ a -1.5°C . Nella stazione 13, più pelagica, lo strato di acqua superficiale presenta temperature più basse tra -0.8°C e -1.6°C nei primi 50m. *Limacina helicina antarctica* occupa in questa stazione i primi 100m di acqua, con i valori massimi tra 20 e 40m coincidenti con la parte più profonda del termocline. Nelle stazioni della piattaforma (22, 23 e 24), *L. helicina antarctica* occupa i primi 20-30m, in coincidenza dello spessore del termocline con temperature tra $+1.0^{\circ}\text{C}$ e -1.5°C . Nelle tre stazioni all'interno di BTN (25, 26 e 27), la stessa specie si distribuisce tra la superficie e 150-180m, con i massimi valori nello strato 20-0m che presenta temperature tra 0°C e -1.5°C . *Clione limacina antarctica* occupa in tutte le stazioni l'intero strato campionato, con i valori massimi alle quote più profonde, ad eccezione delle quattro stazioni della piattaforma di BTN (da 24 a 27) dove i massimi valori di abbondanza sono stati registrati nello strato tra i 200 e 300m.

Uno studio sulla migrazione verticale nictimerale di queste due specie effettuato nella stazione 22, mediante pescate giorno-notte, non ha messo in evidenza nessuna tendenza agli spostamenti lungo la colonna d'acqua, dalla superficie sino a 500m di profondità. Infatti, come si può chiaramente evincere dalla Fig. 23, *L. helicina antarctica* non si sposta dallo strato superficiale (0-50m), mentre *C. limacina antarctica* resta relegata nello strato più profondo tra 300 e 500m.



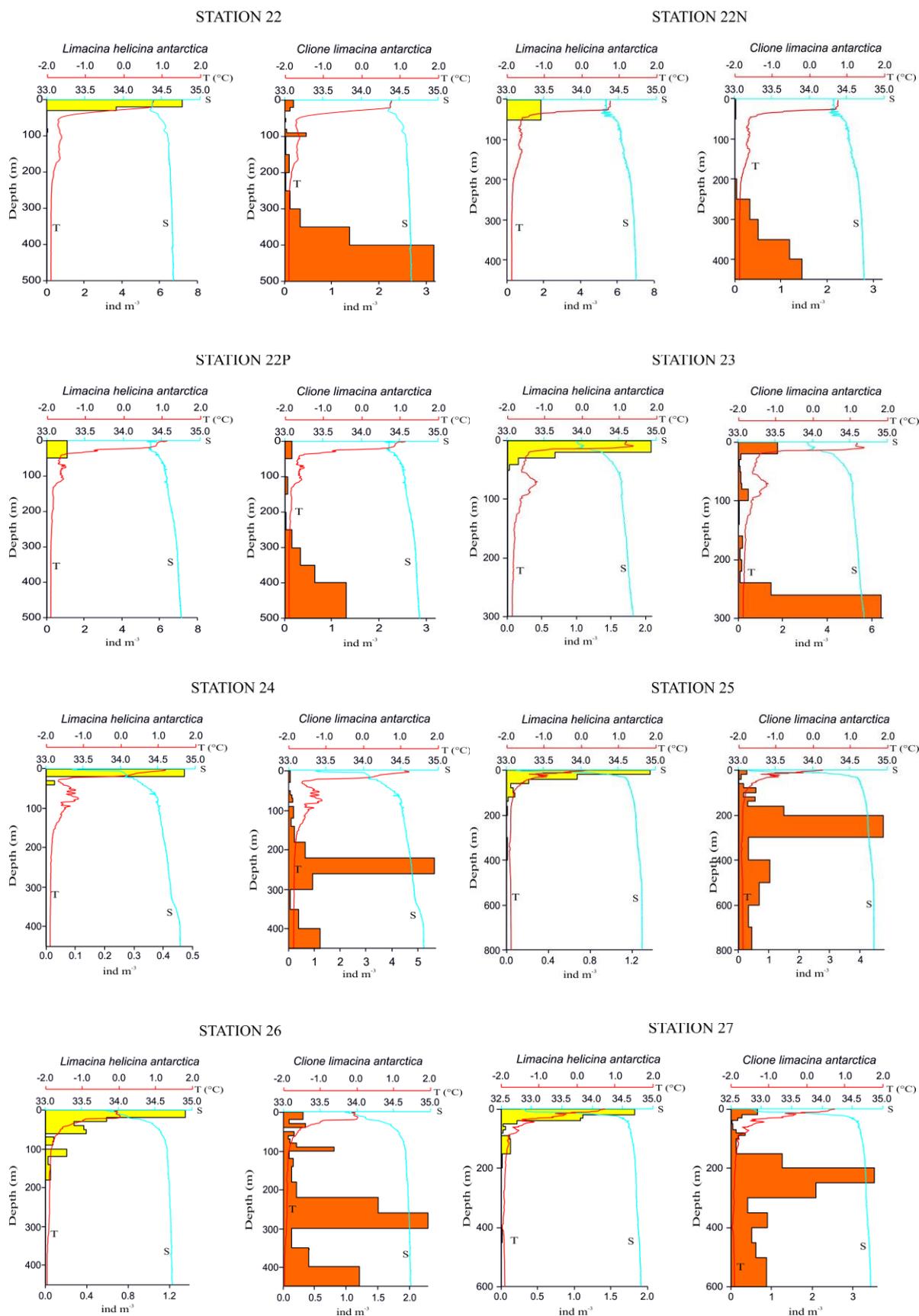


Fig. 22. Profili sulla distribuzione verticale di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* della campagna oceanografica CARIBOO.

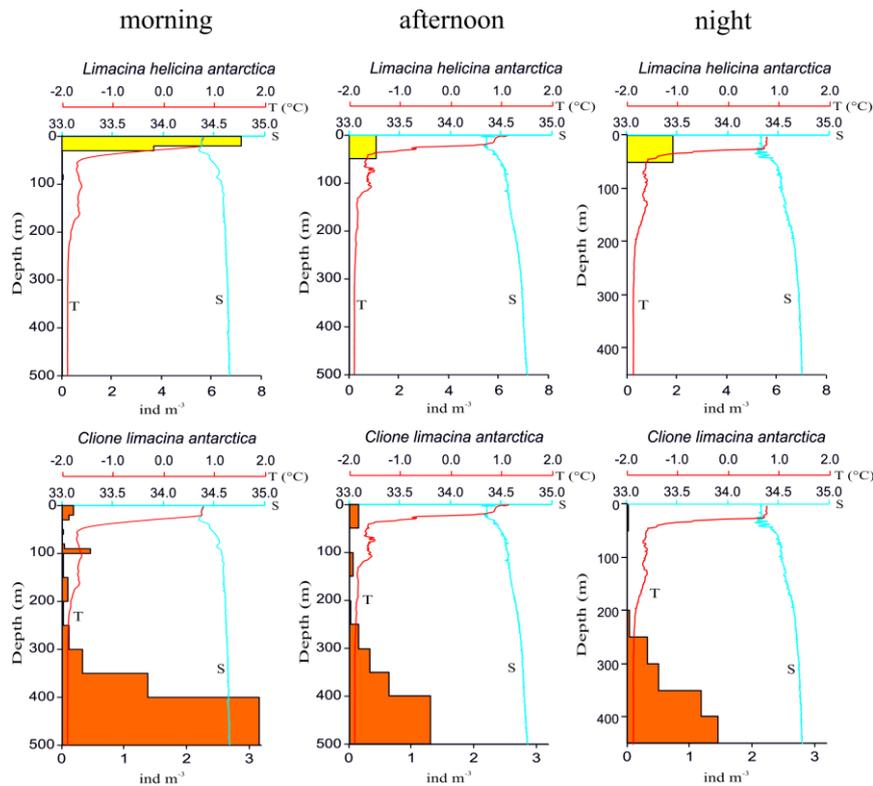


Fig. 23. Profili sulla distribuzione verticale di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* durante un ciclo giorno-notte

5.3. ROSSMIZE

Distribuzione orizzontale

In termini di distribuzione spaziale, i risultati ottenuti in questa spedizione (Faranda et al. 2000) dimostrano che il Mare di Ross è caratterizzato da differenti livelli di produzione primaria, e precisamente l'area occidentale rispetto alla longitudine 175° è molto più produttiva, probabilmente in seguito alla disponibilità di micronutrienti, particolarmente ferro. Quest'area è caratterizzata da due bloom di fitoplancton, di cui uno in primavera-estate e l'altro nella tarda estate. I risultati dell'echosurvey indicano che la biomassa di krill può raggiungere alti valori particolarmente nelle aree di copertura parziale del ghiaccio. In queste stesse aree sono state registrate alte densità di predatori di krill, come i pinguini di Adelia ed Imperatore, foche carnivore e balene (70°-71°S). In Fig. 24, è stata riportata la distribuzione spaziale di *L. helicina antarctica* nello strato 100-0m, dove raggiunge una percentuale dell'85.1% rispetto a tutta la colonna d'acqua campionata. L'abbondanza media è risultata essere di $222 \text{ ind/m}^2 \pm 364$ con un valore massimo di 1.651 ind/m^2 registrato nella stazione 6A. Seguono, in ordine di abbondanza, le stazione 7 ed 11A rispettivamente con 969 e 962 ind/m^2 . Il rapporto percentuale medio *Limacina*/zooplancton totale è risultato essere di $1.51\% \pm 2.4$ (Fig. 16), con i massimi valori di 9.5% registrati nella stazione 6A e 8.8% nella stazione 11A. In Fig. 25, è stata riportata la distribuzione orizzontale di *C. limacina antarctica*.

Questa specie ha raggiunto un'abbondanza media in tutta la colonna d'acqua campionata di $7.2 \text{ ind/m}^2 \pm 4.4$, con il massimo di 35.4 ind/m^2 registrato nella stazione 11A. Il rapporto percentuale *Clione*/zooplancton totale è di $0.02\% \pm 0.02$, con il valore massimo di 0.09 nella stazione 11A.

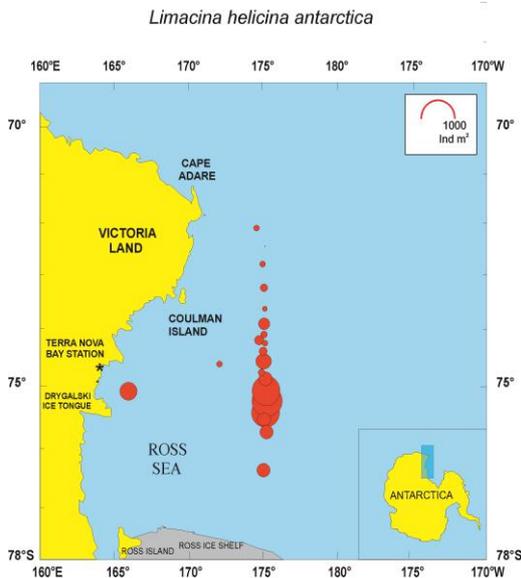


Fig. 24. Distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* durante la spedizione ROSSMIZE.

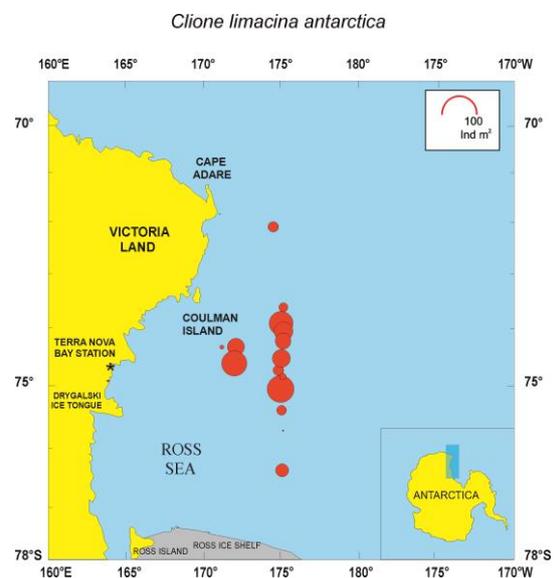


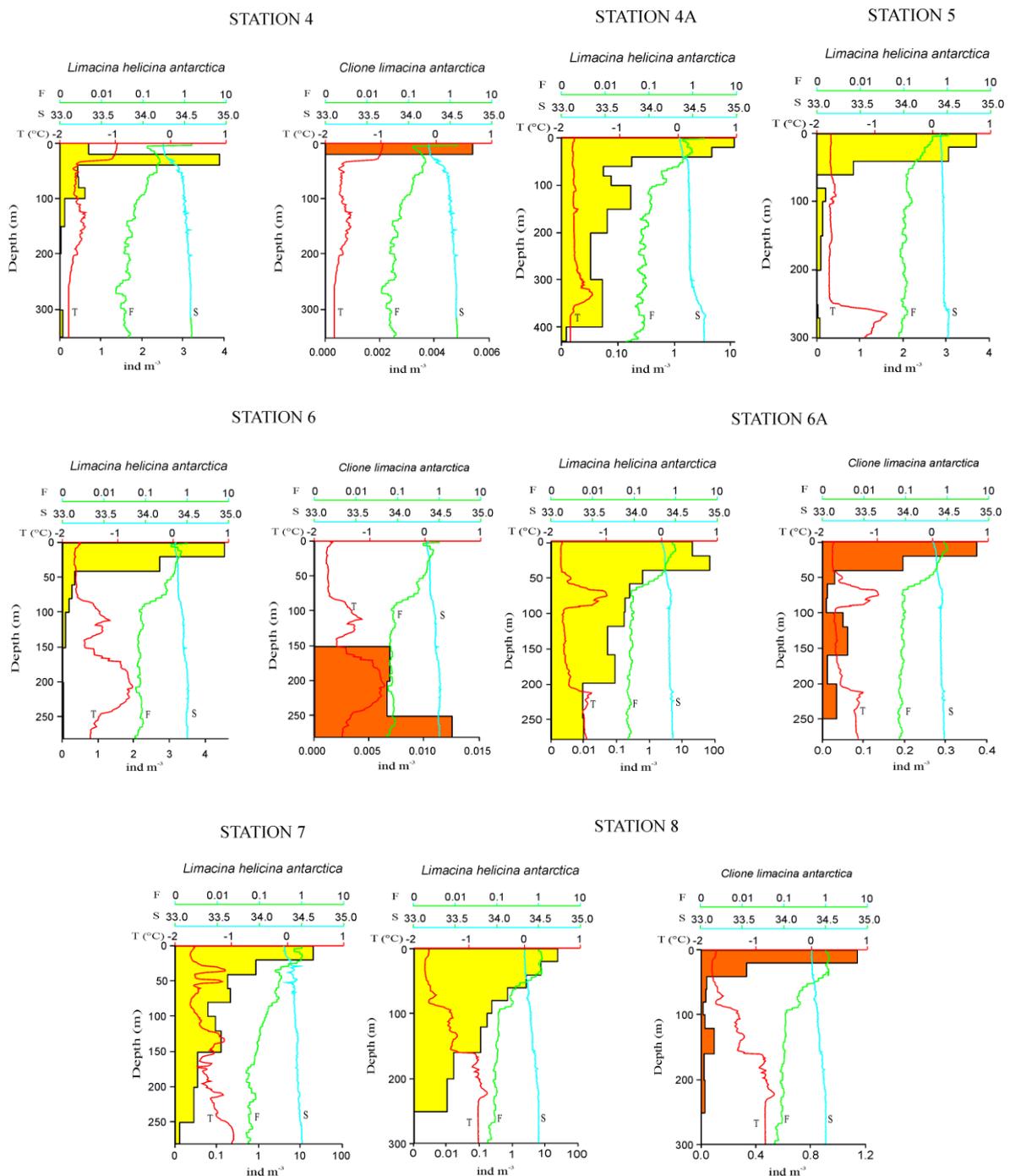
Fig. 25. Distribuzione spaziale orizzontale di *C. limacina antarctica* durante la spedizione ROSSMIZE.

Distribuzione verticale

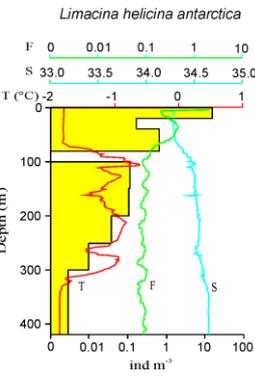
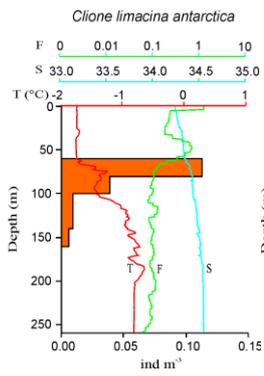
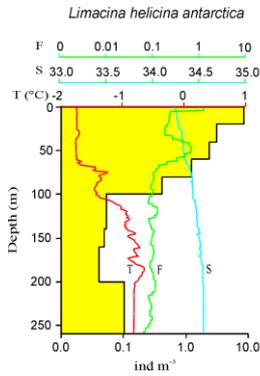
In Fig. 26, si riportano i profili verticali sulla distribuzione di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* in 22 stazioni disposte lungo un transetto longitudinale (Sud-Nord), lungo la longitudine di 175°W , dalla polynya del Ross Ice Shelf (RIS) sino a Capo Adare. La strategia di campionamento prevedeva di rivisitare le stesse stazioni in condizioni di diversa copertura sul ghiaccio marino, a distanza di pochi giorni. Ad eccezione della stazione 4 dove è presente un termoclino nei primi 40m, il primo periodo (16-30 Novembre) è caratterizzato dalla totale assenza di un termoclino in cui si evince un regime di isotermità verticale di circa -1.8°C . Evidente anche la formazione di un marcato aloclino intorno ai 40-60m di profondità. La fluorescenza non mostra valori significativi, attestandosi tra 0.1 ed 1.2 lungo tutto l'arco temporale dei prelievi. Un accenno di massimo di clorofilla è quasi sempre evidente nei primi 5m della colonna d'acqua, anche se in qualche caso (staz. 6A e 9A) questi valori occupano uno strato più profondo, chiaramente in relazione allo scioglimento dei ghiacci che determina un arricchimento durante la sedimentazione. Il range di distribuzione di *L. helicina antarctica* occupa quasi sempre tutto lo strato campionato con valori massimi tra la superficie ed i primi 20m. Anche *C. limacina antarctica* presenta lo stesso andamento

verticale, ma con valori massimi differenti nelle stazioni campionate, e precisamente nei primi 20m (staz. 6A, 8 e 11A), 60-80m (staz. 9A) e 100-300m (staz. 6 e 11C).

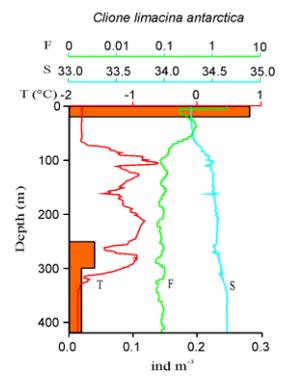
Con il procedere della stagione la temperatura superficiale è più calda (circa -1.3°C) e compare un debole termocline con un discreto aloclino e cunei di acqua più calda tra 100-200m. La distribuzione verticale di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* sostanzialmente non cambia, anche se i massimi valori occupano strati un pò più profondi, rispettivamente di 40-60m e 100-450m (Fig. 27).



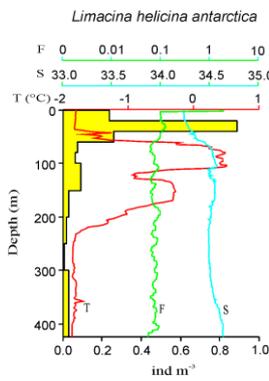
STATION 9A



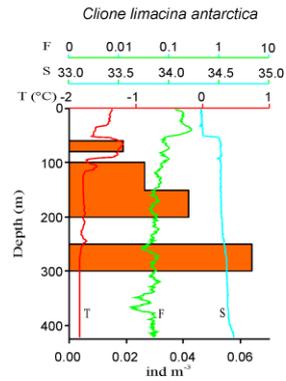
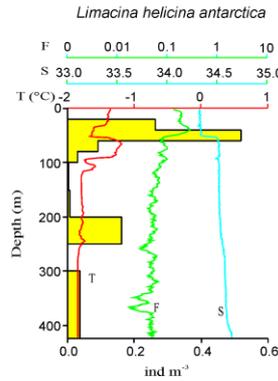
STATION 11A



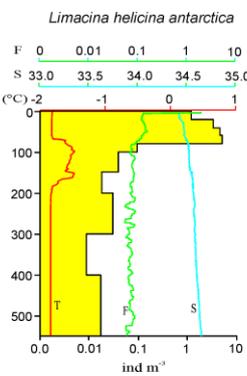
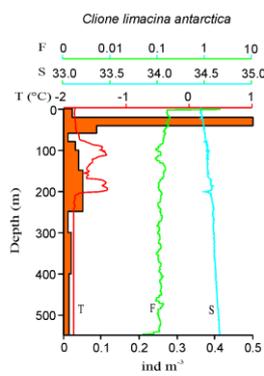
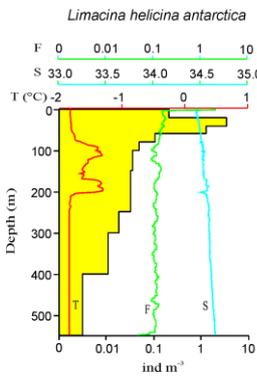
STATION 11B



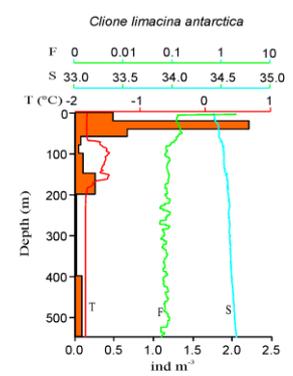
STATION 11C



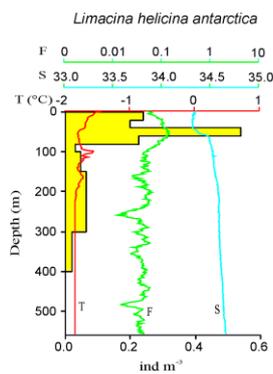
STATION 15



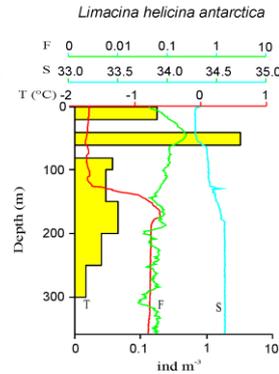
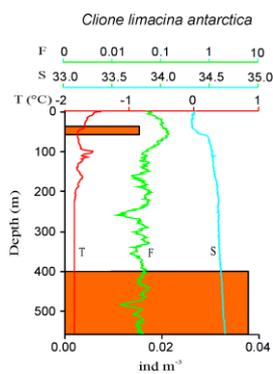
STATION 15A



STATION 15C



STATION 19A



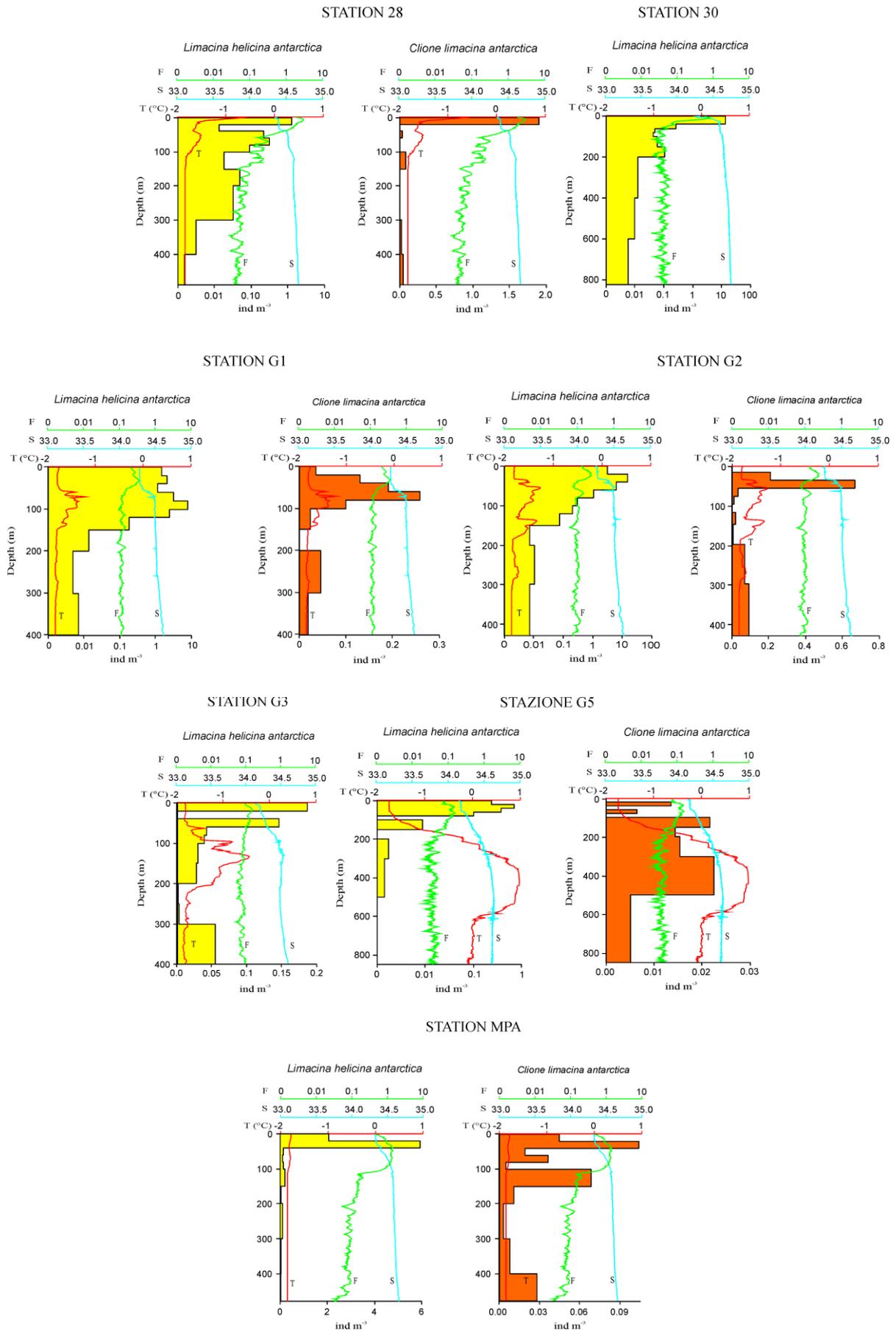
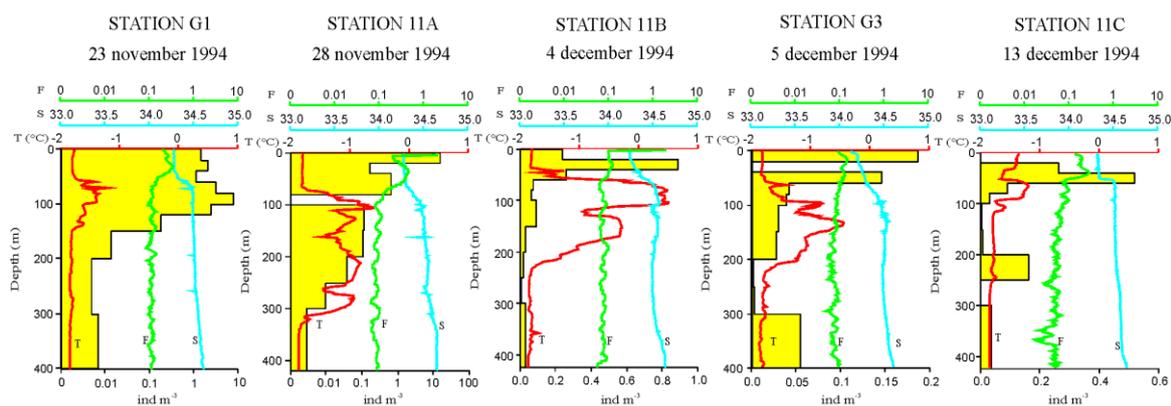


Fig. 26. Profili sulla distribuzione verticale di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* della campagna oceanografica ROSSMIZE.

Limacina helicina antarctica



Clione limacina antarctica

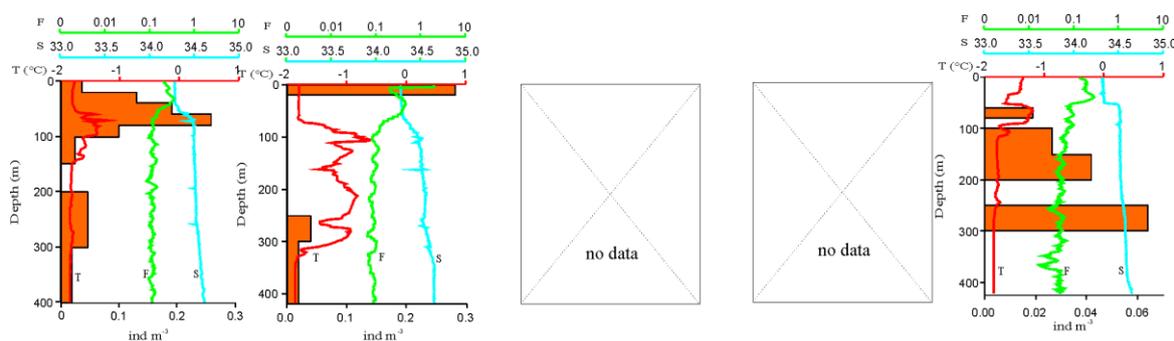


Fig. 27. Evoluzione temporale delle abbondanze e dei parametri chimici e fisici relativi di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* durante la campagna oceanografica ROSSMIZE.

5.4. PIPEX

Scarse abbondanze e bassa diversità specifica hanno caratterizzato il platelet-ice e la sua acqua interstiziale. Il copepode arpacicoide *Harpacticus furcifer* è stata la specie più frequente e più abbondante in ambedue i sottosistemi, rispettivamente con 75.4% e 61.1%, seguita dai copepodi calanoidi *Stephos longipes* (16,9%) e *Paraeuchaeta antarctica* (9,7%), quest'ultima solo nell'acqua interstiziale. Sebbene queste tre specie di copepodi costituiscano l'86.7% della meiofauna nel ghiaccio, le abbondanze medie nell'acqua interstiziale si riducono a pochi individui (0.3-1.8 ind/l). In aggiunta, sono stati riscontrati pochi individui di anfipodi e uova embrionate di *P. antarcticum*, mentre sono risultati completamente assenti i molluschi pelagici.

Nell'acqua libera sotto il ghiaccio, in tutti i campioni dominano i copepodi seguiti dal mollusco pteropode erbivoro *L. helicina antarctica* (Fig. 28), che ha raggiunto valori di abbondanza compresi tra 36 e 275 ind/m³ durante il breve arco temporale dei prelievi. Rispetto a tutta la comunità zooplanctonica, questa specie costituisce una percentuale media dello 0.3% (Fig. 16). Sono stati raccolte anche modeste quantità dello pteropode gymnosoma

carnivoro *C. limacina antarctica* con valori compresi tra 8 e 35 ind/m³. Tra i copepodi domina *Oithona similis* (96,8%) con individui adulti e stadi di copepoditi.

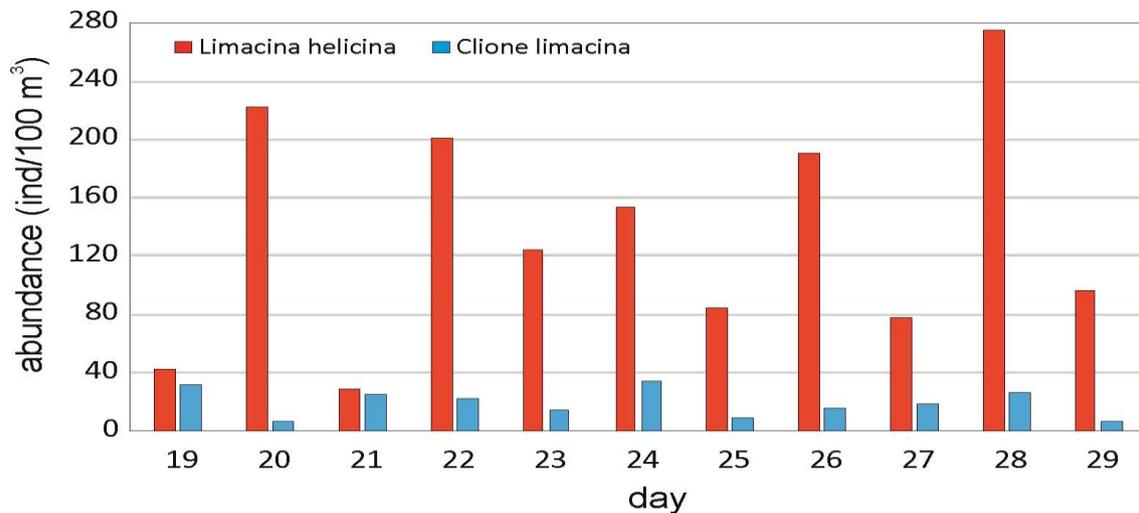


Fig. 28. Evoluzione temporale dell'abbondanza di *L. helicina antarctica* e *C. limacina antarctica* nella campagna oceanografica PIPEX.

5.5. ECOFISH

I risultati delle ultime campagne Italiane hanno evidenziato l'importanza strategica della regione costiera di BTN per la riproduzione del pesce nototenide *P. antarcticum*, specie chiave dell'ecosistema che ricopre un ruolo importante nella rete trofica pelagica coinvolgendo oltre i copepodi planctonici anche il mollusco pteropode *L. helicina antarctica*. Fra gli obiettivi del progetto ECOFISH (ecologia e ciclo vitale di specie ittiche costiere del Mare di Ross) particolare attenzione è stata posta al parallelismo nello sviluppo larvale e nel ciclo vitale di *P. antarcticum* con le sue prede, tra cui *L. helicina antarctica*. Lo studio tende a comprendere meglio il ruolo delle aree costiere interne del Mare di Ross nel trasferimento di materia ed energia lungo la rete trofica pelagica.

Il conteggio tassonomico relativo a tutti i campioni prelevati (mediante retino WP2) ha messo in evidenza la preponderanza assoluta dei copepodi di piccola taglia con una media di 938 ind/m³ (69.5%) seguita da *L. helicina antarctica* (133 ind/m³ 9.8%) e naupli di copepodi con 101 ind/m³ (7.5%). Anche il meroplancton è stato abbastanza ritratto con una media di 162 ind/m³ (12%), insieme a larve di echinodermi, larve di gasteropodi e larve di policheti. I campioni prelevati con il retino Bongo hanno dato scarsi valori numerici, con preponderanza di copepodi (18 ind/m³ 62.0%) e stadi di calyptopis di *E. crystallophias* (4.7 ind/m³ 16.5%). La stazione più ricca di individui prelevati con retino WP2 è stata la 6 con 4.155 ind/m³,

mentre la più povera è stata la stazione 3. La grande quantità di fecal pellets ($1.097/m^3$ 44.5%) dimostra un'attività di grazing abbastanza rilevante.

In Fig. 29, viene riportata l'abbondanza media nello strato campionato per *L. helicina antarctica* prelevata con la rete WP2, che è risultata essere di $18.627 \text{ ind}/m^2 \pm 9.935$, mentre il massimo valore di abbondanza ($35.372 \text{ ind}/m^2$) è stato registrato nella stazione 6.

La percentuale media di *L. helicina antarctica* rispetto allo zooplancton totale è risultata di $10.6\% \pm 5.9$ (Fig. 16), con un massimo di 21.7% registrato nella stazione 1. In Fig. 30, viene riportata l'abbondanza media del pteropode *C. limacina antarctica* prelevato con la rete WP2 ($80 \text{ ind}/m^2 \pm 43$), con il massimo valore di $164 \text{ ind}/m^2$ registrato nella stazione 8. Il rapporto percentuale tra *C. limacina antarctica* e lo zooplancton totale è risultato di $0.05\% \pm 0.05$.

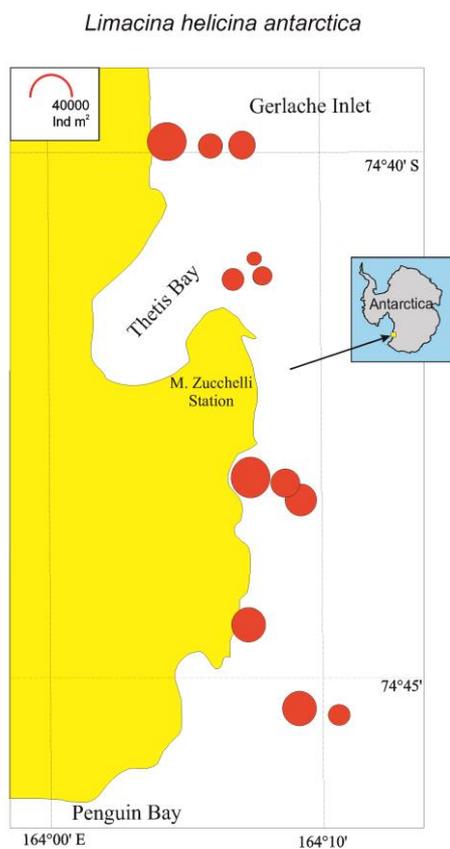


Fig. 29. Distribuzione spaziale orizzontale di *L. helicina antarctica* durante la spedizione ECOFISH.

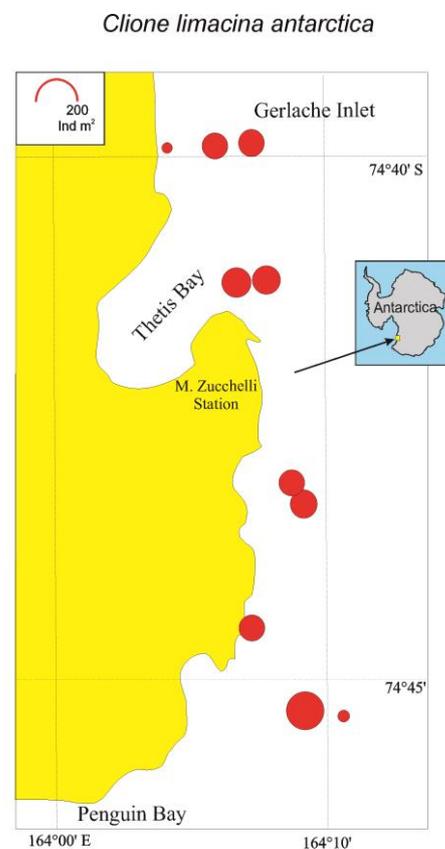


Fig. 30. Distribuzione spaziale orizzontale di *C. limacina antarctica* durante la spedizione ECOFISH.

5.6. CEFA

Barcoding

L'analisi molecolare si basa su un'indagine riguardante le caratteristiche genetiche, che ci danno la possibilità di ottenere un *fingerprinting* molecolare (impronta digitale) e, quindi l'opportunità di identificare un organismo. A questo scopo viene analizzata la sequenza

nucleotidica del gene mitocondriale *COI*, un gene che codifica per la Citocromo c ossidasi I, una delle proteine che entra a far parte della catena respiratoria mitocondriale portando alla produzione di ATP. Molti sono i motivi per i quali la scelta ricade su questo gene. Prima di tutto, si tratta di una molecola di DNA ubiquitaria, presente in tutti gli organismi eucariotici, una molecola complessa che evolve molto lentamente, ma che contiene regioni variabili che permettono di distinguere tra loro gli organismi del regno animale che appartengono alle diverse specie. Determinando la sequenza nucleotidica della *COI* di un organismo è poi possibile confrontarla con quelle note di altre migliaia di organismi presenti nelle banche dati, utilizzando programmi bioinformatici disponibili in rete, così da poter risalire in maniera rapida alla specie oggetto di studio nel caso sia presente nel database.

Oggi è relativamente semplice ottenere tali sequenze, grazie all'utilizzo di tecniche molecolari, come la PCR (*Polymerase Chain Reaction*), che permette di ottenere molte copie di una sequenza di DNA. Tale prodotto è utilizzato dai sequenziatori automatici, i quali a loro volta permettono la rapida determinazione della sequenza nucleotidica a partire da un frammento di DNA amplificato. I risultati di amplificazione conseguiti in questo studio di tesi, sono stati ottenuti utilizzando i primers in PCR nelle condizioni descritte in materiali e metodi. Essi hanno portato all'amplificazione di un prodotto che successivamente, è stato separato mediante elettroforesi su gel di agarosio, risultato mostrato in Fig. 31.

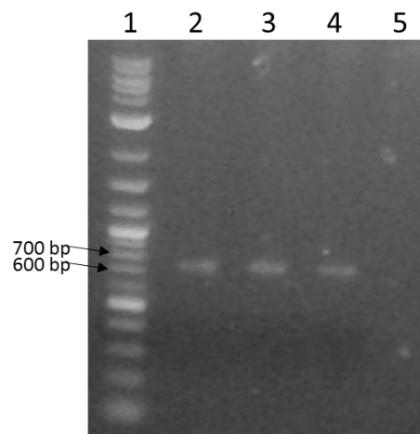


Fig. 31. Elettroforesi su gel di agarosio al 1.5%. **Corsia 1:** DNA ladder; **corsia 2:** campione 1; **corsia 3:** campione 2; **corsia 4:** controllo positivo; **corsia 5:** controllo negativo.

Il prodotto amplificato è stato separato mediante elettroforesi su gel di agarosio e la lunghezza della banda ottenuta, compresa tra 700 e 600bp del DNA ladder, è risultata essere intorno a 650bp (Fig. 31), dimensione compatibile con quella attesa. Stabilita la specificità di amplificazione, il frammento è stato escisso da gel e purificato come descritto in materiali e metodi. Il purificato è stato successivamente inviato in un centro di servizi in cui l'amplicone

è stato sottoposto a sequenziamento di Sanger, adoperando i medesimi primers già utilizzati durante il processo di amplificazione. Dall'analisi degli elettroferogrammi risultanti (Fig. 32) di entrambe le sequenze (fwd e rev), si è proceduto alla correzione manuale nelle regioni di inizio (5') e fine (3') in cui vi era la sovrapposizione di picchi, andando a determinare un amplificato di 540bp.

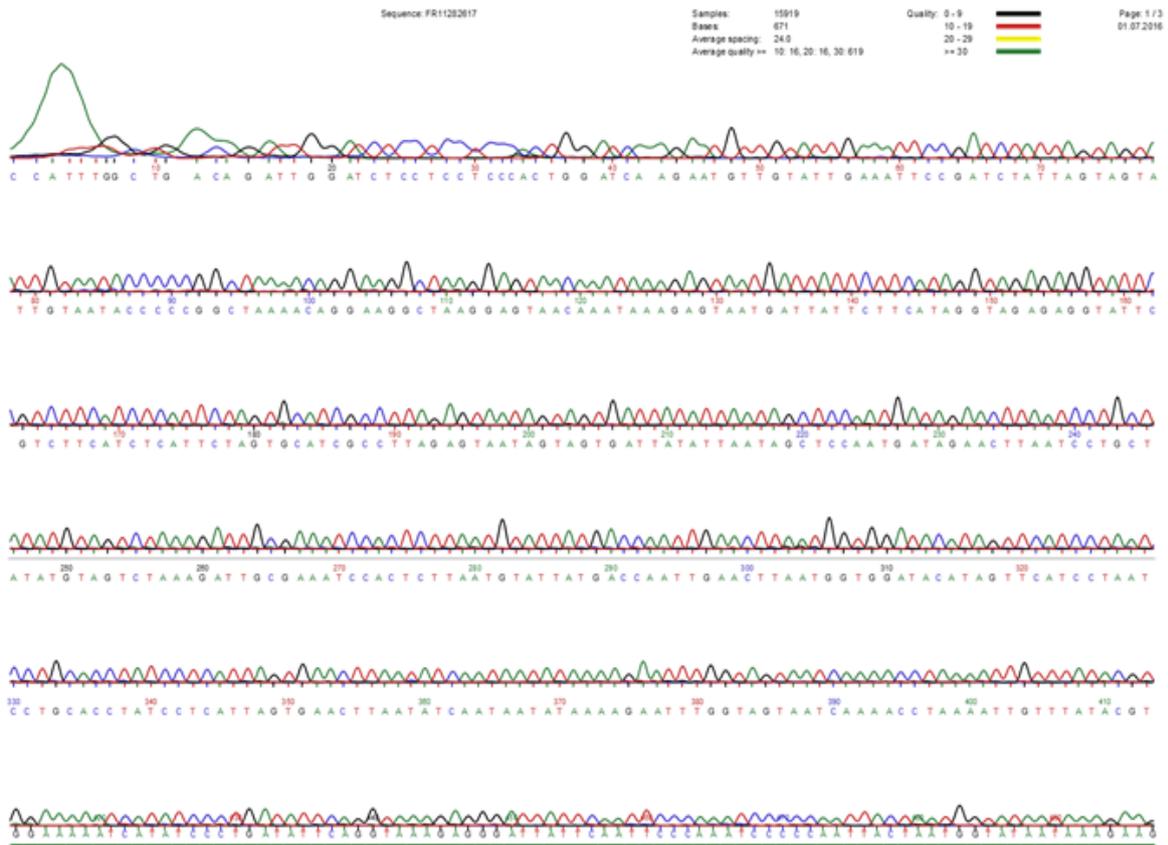


Fig. 32. Elettroferogramma della sequenza *COI* utilizzando il primer reverse.

Nella Tab. 6, sono riportati i risultati del sequenziamento con entrambi i primers, dopo essere state corrette manualmente.

fwd	5'gtttagtaggatttatttacccttacttattcgattaaattgcgtatctatatttctaagcggcaattttataacgtcttagtcacaaacctgcattaattataat ttctctttattataaccattagtaattgggggatttgggaattgaataatccctcttacctgaatatcagggatgatgattttccacgtataaacaatttaggttt gattactaccaaattctttatattattgatattaagttcactaatgaggataggtgcaggattagatgaactatgatccaccattaagtcaattggtcataat acattaagagtggatttcgcaatcttagactacatataagcaggattaagttctatcattggagctattaatataactactactacttaagcggatgcacta gaatgagatgaagacgaataacctctacatgaagaataatcattactcttattgttactccttagcctctctgttttagcgggggtattacaactact aatagatcggaaattcaatacaacattcttgatccagtgaggaggagatccaatctgttcagcattattttgatttttggcactgggaagttaaaaat tggaaaagaggagaggaa-3'
rev	5'gatctattagtagtattgtaataccccggctaaaacaggaaggctaaggagtaacaataaagagtaatgattattcttcataggtagagaggtattcg tctcatctcattctagtgcatcgcttagagtaatagtagtgattatattaatagctcaatgatagaactaatcctgctatattgtagtctaaagattgcgaaat ccactcttaattgattatgaccaattgaacttaattggtggatcatagttcatcctaatcctgcacatcctcattagtgacttaatatcaataataaaga attggtagtaatacaaacctaaaattgtttatagctggaataatcatatccctgatattcaggtaaagagggtattcaattcccaaatcccccaactactaa tggataataaagaagaaaattataatgcatggtttgactaagacgttataaattgacccttagaataatagatagcgaatttaacgaataagta a-3'

Tab. 6. Sequenze *COI* dopo la correzione.

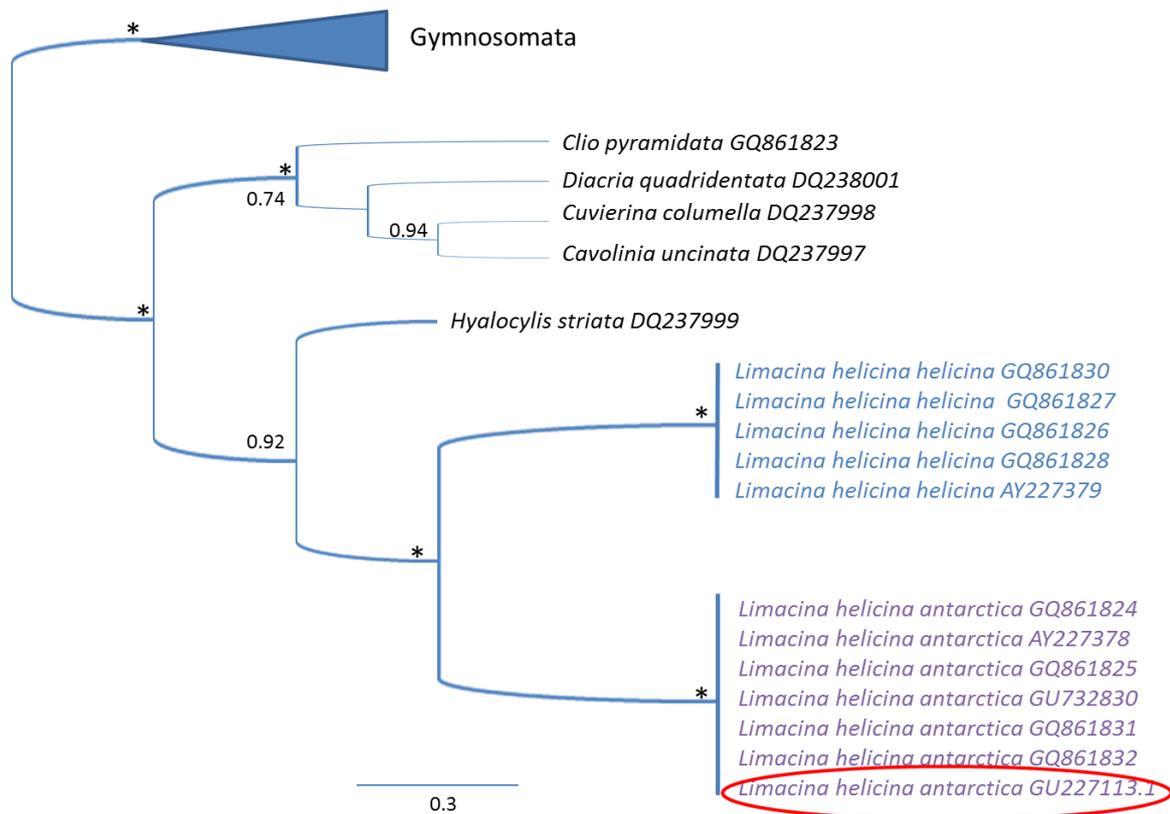


Fig. 34. Rappresentazione di un albero filogenetico del genere *Limacina*, in cui è evidenziata la distanza intraspecifica fra le due specie polari. La distanza genetica tra le sequenze geniche della *COI* negli individui artici è di $0.15 \pm 0.06\%$ (*L. helicina helicina* forma *helicina*, *acuta* e *pacifica*) mentre le variazioni aumentano per le specie antartiche a $0.60 \pm 0.07\%$ (*L. helicina antarctica* forma *antarctica* e *rangi*). La distanza tra le specie residenti ai due poli si incrementa, raggiungendo variazioni nella sequenza del $33.56 \pm 0.09\%$.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Lo stato delle conoscenze sulla composizione zooplanctonica è fondamentale per comprendere la salubrità e la dinamica degli ecosistemi (Bucklin et al. 2009). L'olozooplankton, di cui fa parte il genere *Limacina*, occupa una posizione importantissima della catena trofica antartica, proprio per questa ragione, *L. helicina* è stata oggetto di diversi studi, sia per quanto riguarda l'aspetto ecologico che fisiologico, filogenetico e recentemente molecolare. Fino a qualche anno fa, *L. helicina* era considerata essere una specie bipolare (Phipps 1774), grazie agli studi molecolari oggi sappiamo che non è così (Hunt et al. 2010). Con l'avvento delle biotecnologie, gli studi tassonomici hanno avuto una forte accelerazione nella loro evoluzione. Il DNA barcoding utilizza un sistema costituito da codici a barre per caratterizzare tassonomicamente diversi organismi che vivono nello stesso o anche in ambienti e zone ecologicamente differenti, come ad esempio l'ambiente pelagico di una zona oceanica può essere messo in relazione con un'area costiera (Longhurst 2001). Le analisi mediante DNA barcoding permettono di studiare i diversi gruppi che compongono l'olozooplankton, confermando che le sequenze *mtCOI* seguono accuratamente e discriminano le varie specie della comunità zooplanctonica come i copepodi (Bucklin et al. 2003; Bucklin & Frost 2009), molluschi gasteropodi (Remigio & Hebert 2003), cnidari (Ortman 2008), eufausiacei (Bucklin et al. 2007) e altre specie di crostacei (Lefebure et al. 2006; Costa et al. 2007). I presenti studi supportano l'uso della parziale sequenza della *mtCOI* per l'identificazione e la discriminazione delle specie. Le stesse metodiche, nonché strategie, possono essere applicate per le zone polari, dove i cambiamenti nelle abbondanze, composizione e distribuzione delle specie possono anticipare dei cambiamenti climatici nel vicino futuro (Grebmeier et al. 2006; Bluhm & Gradinger 2008). Hunt et al. (2010) furono i primi ad applicare il barcoding, al fine di chiarire alcuni aspetti chiave di questa specie. Il primo risultato riportato dagli autori, fu la netta distinzione tra la specie artica ed antartica; infatti la differente omologia di sequenza presa in esame (*mtCOI*) in queste analisi era netta e sufficiente a stabilire la distinzione a livello tassonomico tra organismi appartenente a due specie diverse (Costa et al. 2007).

Il Continente Antartico è popolato da una sola specie chiamata *L. helicina*, a sua volta, suddivisa in due forme distinte morfologicamente e fisiologicamente in: “forma” *rangii* e “forma” *antarctica* (Hunt et al. 2010).

Recentemente Roberts et al. (2014), riportarono una nuova problematica riguardo la classificazione tassonomica nonché, alcuni aspetti biologici di questa specie in Antartide.

Gli autori sostengono, che in letteratura vi sia una grossa confusione riguardo la specie antartica con molti punti interrogativi da chiarire. In particolare in Antartide è stata descritta fino ad oggi una sola specie come *L. helicina antarctica* con le due forme annesse (*rangii* e *antarctica*). In realtà tale classificazione sembrerebbe errata, essendo la nomenclatura corretta secondo gli autori, confermata ormai anche dal World Register of Marine Species (WoRMS) *L. rangii* f. *antarctica* e *L. rangii* f. *rangii*. Gli stessi autori si servono di alcuni aspetti ecologici emersi in bibliografia di *L. helicina*, come le grandi differenze di distribuzione verticale, nonché i differenti cicli vitali, e le dimensioni variabili ritrovate e riportate; infatti un chiaro esempio di questa diversità di dati, è data dalle osservazioni di Hopkins (1987) in cui trovò che le densità di *Limacina* potevano variare in maniera rilevante nelle stesse aree geografiche. Esse potevano raggiungere i 300 ind/m³ nel Mare di Ross, mentre altri studi riportavano la specie come componente dominante dello zooplancton sempre nella stessa area (Hunt et al. 2008) o considerando altre settori antartici. Roberts et al. (2014) danno una spiegazione a tutta questa confusione e incertezza, sostenendo che molto spesso i ricercatori si riferiscono alla f. *antarctica*, non tentando di determinare quale effettivamente sia tra le due forme, anche se la f. *antarctica* che è stenoterma (preferisce acque più fredde) e la f. *rangii* che è euroterma (preferisce acque più calde) presentano morfologie distinte e modelli biogeografici che dovrebbero essere separati, ove possibile.

Proprio per queste ragioni e in accordo con Hunt et al. (2010) e Roberts et al. (2014) la specie oggetto del nostro studio è stata analizzata, sia con metodiche classiche che molecolari. I risultati ottenuti dal sequenziamento dei campioni derivanti dalla campagna CEFA, hanno trovato accordo con quanto già presente in bibliografia. Dalle analisi di sequenza (*mtCOI*) risultante dai nostri campioni e dalle sequenze presenti in GeneBank, abbiamo trovato una differenza del 33.65% rispetto alla specie artica, trovandoci in accordo con il lavoro di Hunt et al. (2010) e confermando quanto già riportato in letteratura sulla diversità di specie tra le due polari. I nostri risultati dimostrano che la specie oggetto del nostro studio è una *L. helicina* f. *antarctica* (Hunt et al. 2010) o secondo la nuova nomenclatura *L. rangii* forma *antarctica* (Roberts et al. 2014). Inoltre, dall'analisi di sequenza, è stato appurato che la specie corrisponde ad una già presente in banca dati con l'identificativo [GU227113.1](#) depositata da Heimeier et al. (2010) avendo un match del 100% sulla sequenza analizzata. Purtroppo dai nostri risultati rimane sempre una lacuna riguardo la determinazione della "forma" a livello molecolare; infatti, come sopradescritto, la problematica è causa della scarsità di informazioni geniche riguardo la distinzione molecolare da poter utilizzare nella fase di allineamento. Data la mancanza di un dato certo molecolare nella determinazione della forma, ci si è affidati solo

alla diagnostica mediante metodica classica. Da queste nostre analisi e da quanto descritto si è deciso di continuare a chiamare la specie *L. helicina antarctica* secondo la nomenclatura tutt'oggi più utilizzata dagli autori (Manno et al. 2016; Hunt et al. 2010; Mass et al. 2011).

Similarmente ad altre aree del settore Antartico (Hunt et al. 2008), *L. helicina antarctica* costituisce, dopo i copepodi, ed insieme a stadi di calyptopis e furcilia di *E. crystallophias* (Guglielmo et al. 1990; Elliott et al. 2009) la componente dominante della comunità mesozooplanctonica superficiale estiva del Mare di Ross Occidentale, costituendo in media più del 50% delle catture totali in tutte le aree considerate ed il 98,7%, tenendo conto solo dello strato 0-100m.

La massima abbondanza di *Limacina* è confinata a BTN, dove i modelli di distribuzione orizzontale e verticale sembrano strettamente correlati alle caratteristiche idrografiche ed alla presenza di differenti masse d'acqua (Patterson & Whitworth 1990). Gli alti numeri registrati vicino Capo Washington e al Drygalsky Ice Tongue (DIT), sembrano associati con una corrente del lembo costiero antartico fluente verso Ovest ed il lembo del vortice del Mare di Ross (Locarnini 1994). Più del 60% degli individui di *Limacina* sono stati raccolti nell'acqua superficiale antartica (AASW) ben stratificata e la distribuzione verticale sembra essere correlata con il termoclino estivo. Nella zona più a Nord di BTN il termoclino è più profondo (40-60m) e più freddo (-0.5°C) rispetto alla parte meridionale dove lo spessore dell'AASW è più sottile (20-30m), ma più caldo (0°C) (Jacobs et al. 1985; Budillon & Spezie 2000). La AASW che scorre lungo la costa viene spostata verso i bordi di Capo Washington ed il DIT, e l'accumulo di *Limacina* nei sistemi frontali potrebbe essere spiegato da questa deriva. La presenza di acqua costiera superficiale più calda (WSW) con temperature più alte di 0°C, ed una stratificazione ben stabile, determina un ambiente favorevole allo sviluppo del plancton. In condizioni alimentari favorevoli, gli stadi giovanili di *Limacina* guadagnerebbero un significativo vantaggio nella crescita, occupando strati con temperature più calde (Dadon & de Cidre 1992; Lalli & Gilmer 1989). Una caratteristica peculiare del Mare di Ross è la presenza di acque superficiali libere dal ghiaccio, che si propagano da Sud verso Nord, con un precoce incremento delle stesse alla luce solare ed anche un incremento in lunghezza della zona marginale (MIZ) (Hecq et al. 1992). La schiusa di *Limacina* potrebbe coincidere con la stratificazione della colonna d'acqua (Thabet et al. 2015; Laubscher et al. 1993; Balarin 1999; Froneman et al. 2001). Dopo la schiusa, le uova raggiungerebbero lo strato superficiale dove le condizioni alimentari sono più favorevoli (Granata et al. 2000; Comiso et al. 1993; Almogi-Labin et al. 1988; Kobayashi 1974; Lalli & Gilmer 1989; Böer et al. 2005; Gannefors et al. 2005; Bernard 2006; Bednaršek et al. 2012a).

Gli stadi larvali e giovanili di *Limacina* sono stati riscontrati a tutte le profondità campionate, risultati che concordano con quelli di Manno et al. (2016) con i massimi valori nello strato 600-400m. Differenti studi, hanno dimostrato un progressivo incremento della lunghezza standard con la profondità (Hunt et al. 2008), una strategia di segregazione verticale nelle differenti classi dimensionali che potrebbe ridurre la competizione intraspecifica (McClintock & Janssen 1990; Phelger et al. 1999). Le osservazioni sulla distribuzione della lunghezza-frequenza di *Limacina* in tutta l'area studiata, sembrano essere in buon accordo con i dati in letteratura (Kobayashi 1974; Almogi-Labin et al. 1988; Fabry 1989; Gannefors et al. 2005; Bednaršek et al. 2012a; Hunt et al. 2008).

Secondo i nostri dati, il range di lunghezza dello stadio post-larvale, a fine della prima estate, era di circa 2.5mm, con una stima del tasso di crescita di 0.03-0.05mm al giorno, leggermente più basso di quelli stimati per le specie presenti nel Mar di Weddell (Hunt et al. 2008), mentre i tassi di accrescimento della specie artica presentano valori di crescita di 0.18mm al giorno (Kobayashi et al. 1974). I giovani di *Limacina* dell'anno, hanno un accrescimento lento, circa 0.02-0.03mm per giorno, da Marzo a Novembre. I risultati suggeriscono differenze nei modelli di accrescimento larvale tra il Mare di Ross e il Mare di Weddell.

In riferimento a precedenti studi (Pane et al. 2004; Manno et al. 2010) la parte più a Nord di BTN sembra rappresentare un'area di nursery per lo sviluppo di *Limacina*. La presenza di una polynya (Hecq et al. 1992, 1999) permanente a BTN, potrebbe fornire condizioni alimentari più favorevoli per lo sviluppo dei primi stadi di vita. Così, gli stadi planctonici giovanili di *Limacina* (0.5-1mm) si concentrerebbero nello strato superficiale mescolato, dove le condizioni trofiche nella classe dimensionale tra 0.01 e 1.5mm sembrano essere vicini all'optimum per questa specie (Hunt et al. 2008). È stato visto che i primi stadi larvali di molti molluschi pteropodi tecosomi (Gilmer & Harbison 1991) si alimentano su prede grandi tra 0.05 e 0.75mm.

Nell'Oceano Meridionale, gli stadi larvali di *Limacina* sembrano cibarsi di particellato al di sotto dei 5µm, dimensioni assimilabili alla struttura anatomica dell'apparato boccale presente in questi organismi (Perissinotto 1992). Per le forme giovanili ed adulte presenti nel Mar di Ross e nelle acque adiacenti, la dieta consiste essenzialmente di diatomee, dinoflagellati, piccoli copepodi e forme giovanili di *Limacina* stessa (Lalli & Gilmer 1989; Manno et al. 2010; Hunt et al. 2010; Maas et al. 2011). In vicinanza di Capo Washington, alla profondità di 20-40m, è stato notato che la distribuzione orizzontale e verticale di *Limacina* presenta un andamento parallelo ai picchi di abbondanza delle giovani postlarve di *P. antarcticum*, considerate efficienti predatori di *Limacina* (Granata et al. 2000, 2009). Nell'area più a Sud di

BTN, postlarve più grandi e giovanili di *Limacina* (0.5-1mm) sono più abbondanti rispetto alla parte più a Nord e sembrano cibarsi nella colonna d'acqua dove *Calanoides acutus*, copepoditi, piccoli anfipodi, iperidi e stadi furcilia e calytopis di *E. crystallophias* (Pane et al. 2004) sono elementi abbondanti della comunità zooplanctonica (Guglielmo et al. 1990). In questa regione la Chl-a raggiunge valori massimi nello strato superficiale (0-10m) vicino il DIT (2.0-2.4 mg/m³, Innamorati et al. 1990).

Limacina helicina è conosciuta per essere una specie efficiente ed opportunistica, ben adattata ad alimentarsi su un ampio spettro di particelle di fito- micro- e mesozooplankton, a seconda della loro disponibilità stagionale. Diversi sono i fattori che possono influenzare la selezione del cibo da parte di *Limacina*, come ad esempio la distribuzione verticale di predatori e prede (Hubold 1985) e/o la struttura dimensionale della popolazione dei predatori (Moreno et al. 1986). Altri fattori importanti nella selezione del cibo sono la densità e i differenti modelli di distribuzione delle particelle di cibo nel plancton. Per esempio, alcune specie sia di fito- che di zooplankton, come *P. antarctica* e *Oithona similis* in tutti i suoi stadi di sviluppo, considerate potenziali prede di *Limacina*, formano grandi aggregazioni, e sono pertanto distribuiti in maniera irregolare nella colonna d'acqua, sia in acqua priva di ghiaccio che sotto il ghiaccio. Questo fenomeno può spiegare l'alta selezione negativa mostrata dalle postlarve e giovanili di *L. helicina*. La stessa spiegazione può essere applicata ai campioni primaverili, dove le prede dei copepodi da ghiaccio come *Paralabidocera antarctica*, *Stephos longipes* e *Harpacticus furcifer*, hanno mostrato un modello di distribuzione a chiazze (Guglielmo et al. 2007). La composizione alimentare delle postlarve di *L. helicina* raccolti in primavera corrisponde alla tipica struttura zooplanctonica riscontrata nel ghiaccio marino, nel plateau e nell'acqua superficiale della colonna d'acqua sotto il ghiaccio di BTN (Guglielmo et al. 2007). La presenza di adulti *S. longipes*, adulti e stadi copepoditi III-V di *H. furcifer* e abbondanti stadi naupliari II-IV di *P. antarctica*, suggerisce che le larve di *L. helicina* si alimentano attivamente sotto il ghiaccio.

Molti studi sulle abitudini alimentari, sia in differenti siti che in diverse stagioni, hanno dimostrato la plasticità nella dieta di *L. helicina* durante il suo ciclo di vita. Sia la diversità e l'ampio spettro delle prede, dalle diatomee al micro-mesozooplankton e copepodi associati al ghiaccio, indicano una scelta selettiva di prede durante diversi momenti del suo ciclo vitale, piuttosto che una modalità di alimentazione opportunistica. I primi nostri dati sperimentali (non inclusi in questa tesi) dimostrano che i copepodi associati al ghiaccio svolgono un ruolo chiave nell'alimentazione di stadi giovanili di *Limacina* in primavera, quando la copertura di ghiaccio è già completa. Quindi, la specie sembra essere ben adattata a vivere ed alimentarsi

nell'interfaccia ghiaccio-acqua. Qui infatti, vengono trovati abbondanti prede con alto contenuto di carbonio, come ad esempio *P. antarctica* (Arndt & Swadling 2006) presente in sciame densi. Probabilmente, un simile comportamento alimentare è possibile durante il periodo invernale precedente, considerando che il copepode articoide *H. furcifer* si riproduce in inverno e può rappresentare, dopo la prima estate, la prima fonte di alimento per stadi giovanili di *Limacina*.

Considerando la minaccia dell'acidificazione degli oceani e la suscettibilità di questi organismi alle variazioni di pH (Orr et al. 2005), una conseguenziale diminuzione o scomparsa di questa specie porterebbe a sua volta ad una diminuzione del tasso di grazing sulla *P. antarctica*, con conseguenze notevoli sull'ecosistema. Questo si rifletterebbe a sua volta sulle fioriture di *P. antarctica* nell'Oceano Antartico, sul flusso verticale del carbonio nell'oceano profondo e anche sulle dinamiche DMSP/DMS nella regione.

Nella polynya in BTN la produzione primaria e la biomassa fitoplanctonica risultano notevolmente incrementati tra Dicembre e Febbraio (Lazzara et al. 1999; Fonda Umani et al. 2002; Saggiomo et al. 2002), periodo in cui è stata riscontrata un'alta produzione di fecal pellets (FPs), per la maggior parte caratterizzati da un importante contenuto di cellule fitoplanctoniche. Accornero et al. (2003) hanno descritto una diretta correlazione tra i fecal pellets di *Limacina* e il flusso verticale di carbonio organico a BTN. Nell'Oceano Meridionale *L. helicina antarctica* contribuisce significativamente al trasporto del carbonio organico verso le profondità, a causa della robustezza (resistenza alla degradazione meccanica e microbica) e all'elevato tasso di affondamento dei suoi pellets fecali (Manno et al. 2010). Quindi, gli pteropodi migratori si nutrono negli strati superficiali durante la notte e migrano a profondità maggiori durante il giorno, dove essi espellono i prodotti di scarto ricchi di carbonio (FPs), contribuendo così al trasporto del carbonio organico tramite pompa biologica (Accornero et al. 2003; Honjo et al. 2008; Maas et al. 2012b). I FPs di *L. helicina* nel Mare di Ross contribuiscono in media al 19% del flusso di particelle di carbonio organico (POC), con il più alto contributo sino al 30% (Manno et al. 2010). Il risultato di una alimentazione intensiva da parte degli pteropodi potrebbe quindi tradursi in un massiccio flusso verticale di materia organica fuori dello strato superficiale (Bathmann et al. 1991). Da questi risultati gli stessi autori ipotizzano che un declino della popolazione di *Limacina*, a causa dei processi di acidificazione dell'acqua polare e subpolare, potrebbe modificare la pompa del carbonio. *Limacina helicina* è anche un importante componente alimentare per altri organismi, come alcuni carnivori zooplanctonici, per esempio *Ctenofori* (Larson & Harbison 1989), *Clionidae*

(Conover & Lalli 1972), e predatori superiori, tra cui pesci, uccelli marini e balene (Hunt et al. 2008; Karnovsky et al. 2008).

La conoscenza della strategia di sopravvivenza di *Limacina* associata al ghiaccio ed al platelet di BTN è molto limitata, e quindi, il rapporto trofodinamico tra *Limacina* e la meiofauna associata al ghiaccio dovrebbe essere esaminato in modo più dettagliato. Successivi risultati, in corso di elaborazione, sull'attività sperimentale di grazing in campioni primaverili, potrebbero fornirci ulteriori ed importanti informazioni sul ruolo chiave di *Limacina* nella rete alimentare di BTN, come trasferimento di energia dalle alghe del ghiaccio ai diversi stadi di questa vulnerabile specie di mollusco pteropode antartico.

BIBLIOGRAFIA

- Accornero A., Manno C., Esposito F., & Gambi M.C. (2003). The vertical flux of particulate matter in the polynya of Terra Nova Bay. Part II. Biological components. *Antarctic Science*. 15: 175-188.
- Almogi-Labin A., Hemleben C., & Deuser W.G. (1988). Seasonal variation in the flux of euthecosomatous pteropods collected in a deep sediment trap in Sargasso Sea. *Deep-Sea Research*. 35, 3: 441-464.
- Andersen V., Sardou J., & Gasser B. (1997). Macroplankton and mikronekton in the northeast tropical Atlantic: abundance, community composition and vertical distribution in relation to different trophic environments. *Deep-Sea Research I*. 44, 2: 193-222.
- Arndt C.E., & Swadling K.M. (2006). Crustacea in Arctic and Antarctic sea ice: distribution, diet and life history strategies. *Advances in Marine Biology*. 51: 197-315.
- Arrigo K.R., & McClain C.R. (1994). Spring phytoplankton production in the western Ross Sea. *Science*. 266: 261-263.
- Arrigo K.R., Robinson D.H., Worthen D.L., Dunbar R.B., DiTullio G.R., VanWoert M., & Lizotte M.P. (1999). Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science*. 283: 365-367.
- Atkinson A. (1998). Life cycle strategies of epipelagic copepods in the Southern Ocean. *J. Mar. Syst.* 15: 289-311.
- Atkinson A. (2004). UK contribution to So-Globec: a cruise to the Scotia Sea, January-February 2003. *Globec Int. Newsl.* 10: 6-8.
- Balarin M.G. (1999). Size fractionated phytoplankton biomass and primary production in the Southern Ocean. M.Sc. Thesis, Rhodes University, Grahamstown. 137.
- Bandel K. (1982). Morphologie und Bildung der frühontogenetischen Gehäuse bei conchiferen Mollusken. *Facies*. 7: 1-198.
- Bandel K., & Hemleben C. (1995). Observations on the ontogeny of thecosomatous pteropods (holoplanktic Gastropoda) in the southern Red Sea and from Bermuda. *Marine Biology*. 124: 225-243.
- Bates N.R., Hansell D.A., Carlson C.A., & Gordon L.I. (1998). Distribution of CO₂ species, estimates of net community production and air sea CO₂ exchange in the Ross Sea polynya. *Journal of Geophysical Research*. 103 (C2): 2883-2896.
- Bathmann U.V., Noji T.T., & von Bodungen J.E.I. (1991) Sedimentation of pteropods in the Norwegian Sea in autumn. *Deep-Sea Res.* 38: 1341-1360.
- Bé A.W.H., & Gilmer R.W. (1977). A zoogeographic and taxonomic review of euthecosomatous pteropoda. In: Ramsey A.T.S. *Oceanic micropaleontology*, Academic Press, London. 1: 733-808.
- Bednaršek N., Feely R.A., Reum J.C.P., Peterson B., Menkel J., Alin S.R., & Hales B. (2014). *Limacina helicina* shell dissolution as an indicator of declining habitat suitability owing to ocean

- acidification in the California Current Ecosystem. Proceedings of the royal society b. *Biological Sciences*. DOI: 10.1098/rspb.2014.0123.
- Bednaršek N., Možina J., Vogt M., O'Brien C., & Tarling G.A. (2012c). The global distribution of pteropods and their contribution to carbonate and carbon biomass in the modern ocean. *Earth System Science Data*. 4: 167-186.
- Bednaršek N., Tarling G.A., & Bakker D.C.E. (2012a). Population dynamics and biogeochemical significance of *Limacina helicina antarctica* in the Scotia Sea (Southern Ocean). *Deep-Sea Research II: Topical Studies in Oceanography*. 59-60, 105-116.
- Bednaršek N., Tarling G.A., Bakker D.C.E., Fielding S., Jones E.M., Venables H.J., Ward P., Kuzirian A., Lézé B., Feely R.A., & Murphy E.J. (2012b). Extensive dissolution of live pteropods in the Southern Ocean. *Nature Geoscience*. 5: 881-885.
- Benson D.A., Cavanaugh M., Clark K., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., & Sayers E.W. (2013). *Nucleic Acids Res. GenBank®*. 41(D1): D36-D42.
- Berge J.A., Bjerkgeng B., Pettersen O., Schaanning M.T., & Oxnevad S. (2006). Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L. *Chemosphere*. 62(4): 681-687.
- Bernard K.S. (2006). The role of the euthecosome pteropod, *Limacina retroversa*, in the Polar Frontal Zone Southern Ocean. *PhD thesis, Rhodes University*. 196.
- Bernard K.S., & Froneman P.W. (2009). The sub-Antarctic euthecosome pteropod, *Limacina retroversa*. Distribution patterns and trophic role. *Deep-Sea Research I*. 56: 582-598.
- Bernard K.S., Steinberg D.K., & Schofield O.M.E. (2012). Summertime grazing impact of the dominant macrozooplankton off the Western Antarctic Peninsula. *Deep-Sea Research I*. 62: 111-122.
- Berner R.A., & Honjo S. (1981). Pelagic sedimentation of aragonite its geochemical significance. *Science*. 3: 940-942.
- Berry J.P., & Dayton P.K. (1988). Current patterns in McMurdo Sound, Antarctica and their implications for productivity of local benthic communities. *Polar Biology*. 8: 367-376.
- Bluhm B.A., & Gradinger R. (2008). Regional variability in food availability for Arctic marine mammals. *Ecological Applications*. 18: 77-96.
- Böer M., Gannefors C., Kattner G., Graeve M., Hop H., & Falk-Petersen S. (2005). The Arctic pteropod *Clione limacina*: seasonal lipid dynamics and life-strategy. *Marine Biology*. 147: 707-717.
- Böer M., Graeve M., & Kattner G. (2007). Exceptional long-term starvation ability and sites of lipid storage of the Arctic pteropod *Clione limacina*. *Polar Biology*. 30: 571-580.
- Böer M., Kattner G., & Graeve M. (2006). Impact of feeding and starvation on the lipid metabolism of the Arctic pteropod *Clione limacina*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 328: 98-112.

- Boldrin A. & Stocchino C. (1990). On the hydrological characteristics of Terra Nova Bay (Ross Sea Antarctica). In: *National Scientific Commission for Antarctica, Oceanographic Campaign 1987-88. Data report I*, Genova. 11-57.
- Bollens S.M., Frost B.W., Thoreson D.S., & Watts S.J. (1992). Diel vertical migration in zooplankton: field evidence in support of the predator avoidance hypothesis. *Hydrobiologia*. 234, 1: 33-39.
- Boltovsky D. (1999). South Atlantic Zooplankton. *Leiden, Backhuys Publishers*, vols. 1 & 2. 1706.
- Boysen-Ennen E., Hagen W., Hubold G., & Piatkowski U. (1991). Zooplankton biomass in the ice-covered Weddell Sea, Antarctica. *Marine Biology*. 111: 227-235.
- Brierley A.S., & Thomas D.N. (2002). Ecology of southern ocean pack ice. *Advances in Marine Biology*. 43: 171-277.
- Bromwich D.H., & Kurtz D.D. (1984). Katabatic wind forcing of the Terra Nova Bay Polynya. *J. Geophys. Res.* 89: 3561-3572.
- Bryan P.J., Yoshida W.Y., McClintock J.B., & Baker B.J. (1995). Ecological role for pteroenone, a novel antifeedant from the conspicuous antarctic pteropod *Clione antarctica* (Gymnosomata: Gastropoda). *Marine Biology*. 122, 2: 271-277.
- Bucklin A., & Frost B.W. (2009). Morphological and molecular phylogenetic analysis of evolutionary lineages within Clausocalanus (Copepoda: Calanoida). *Journal of Crustacean Biology*. 29: 111-20.
- Bucklin A., Frost B.W., Bradford-Grieve J., Allen L.D., & Copley N.J. (2003). Molecular systematic and phylogenetic assessment of 34 calanoid copepod species of the Calanidae and Clausocalanidae. *Marine Biology*. 142: 333-343.
- Bucklin A., Wiebe P.H., Smolenack S.B., Copley N.J., & Beaudet J.G. (2007). DNA barcodes for species identification of euphausiids (Euphausiacea, Crustacea). *Journal of Plankton Research*. 29: 483-93.
- Budillon G., & Spezie G. (2000). Thermohaline structure and variability in the Terra Nova Bay polynya (Ross Sea) between 1995-98. *Antarctic Science*. 12(4): 501-516.
- Byrne M. (2011). Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanography and Marine Biology: An annual review*. 49: 1-42.
- Chen C., & Bé A.W.H. (1964). Seasonal distributions of euthecosomatous pteropods in the surface waters of five stations in the western North Atlantic. *Bulletin of Marine Science Gulf and Caribbean*. 14: 185-220.
- Collier R., Dymond J., Honjo S., Manganini S., Francois R., & Dunbar R. (2000). The vertical flux of biogenic and lithogenic material in the Ross Sea: moored sediment trap observations 1996-1998. *Deep-Sea Res. II*. 47: 3491-3520.
- Comeau S., Gorsky G., Alliouane S., & Gattuso J.P. (2010b). Larvae of the pteropod *Cavolinia inflexa* exposed to aragonite undersaturation are viable but shell-less. *Marine Biology*. 157: 2341-2345.

- Comeau S., Gorsky G., Jeffree R., Teyssié J.-L., & Gattuso J.-P. (2009). Impact of ocean acidification on a key Arctic pelagic mollusc (*Limacina helicina*). *Biogeosciences*. 6: 1877-1882.
- Comeau S., Jeffree R., Teyssié J.-L., & Gattuso J.-P. (2010a). Response of the Arctic. Pteropod *Limacina helicina* to Projected Future Environmental Conditions. *Plos One*. 5(6): e11362. doi:10.1371/journal.pone.0011362.
- Comiso J.C., McClain C.R., Sullivan C.W., Ryan J.P., & Leonard C.L. (1993). Coastal Zone Color Scanner pigment concentrations in the Southern Ocean and relationships to geophysical surface features. *Journal of Geophysical Research Oceans*. 98: 2419-2451.
- Conover R.J., & Lalli C.M. (1972). Feeding and growth in *Clione limacina* (Phipps), a pteropod mollusc. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 9: 279-302.
- Costa F.O., deWaard J.R., Boutillier J., Ratnasingham S., Dooh R.T., & Hajibabaei M. (2007). Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. *Can. Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 64: 272-295.
- Dadon J.R., & de Cidre L.L. (1992). The reproductive cycle of the Thecosomatous pteropod *Limacina retroversa* in the western South Atlantic. *Marine Biology*. 114: 439-442.
- Doney S.C., Fabry V.J., Feely R.A., & Kleypas J.A. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem, *Ann. Rev. Marine Scienze*. 1: 169-192.
- Duffy J.E., & Stachowicz J.J. (2006). Why biodiversity is important to oceanography: potential roles of genetic, species, and trophic diversity in pelagic ecosystem processes. *Marine Ecology Progress Series*. 311: 179-189.
- Dupont S., Havenhand J., Thorndyke W., Peck L., & Thorndyke M. (2008). Near-future level of CO₂ ocean acidification radically effects larval survival and development in the brittlestar *Ophiotrix fragilis*. *Marine Ecology Progress Series*. 373: 285-294.
- Elliott T.D., Tang K.W., & Shields A.R. (2009). Mesozoplankton beneath the summer sea ice in McMurdo Sound, Antarctica: abundance, species composition and DMSP content. *Polar Biology*. 32: 113-122.
- Fabry V.J. (1989). Aragonite production by pteropod molluscs in the subarctic Pacific. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*. 36, 11: 1735-1751.
- Fabry V.J. (1990). Shell growth rates of pteropod and heteropod molluscs and aragonite production in the open ocean: Implications for the marine carbonate system. *Journal of Marine Research*. 48: 209-222.
- Fabry V.J., Seibel B.A., Feely R.A., & Orr J.C. (2008). Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Scienze*. 65: 414-432.
- Falk-Petersen S., Leu E., Berge J., Kwasniewski S., Nygard H., Røstad A., Keskinen E., Thormar J., von Quillfeldt C., Wold A., & Gulliksen B. (2008). Vertical migration in high Arctic waters during autumn 2004. *Deep-Sea Research II*. 55: 2275-2284.
- Faranda F.M., Guglielmo L., & Ianora A. (2000). *Ross Sea Ecology*. Springer, 2000. 604.

- Feely R.A., Sabine C.L., Kitack L., Berelson W., Kleypas J., Fabry V.J., & Millero F.J. (2004). Impact of Anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ System in the Oceans. *Science*. 305, 5682: 362-366.
- Flores H., van Franeker J.-A., Cisewski B., Leach H., Van de Putte A.P., Meesters H.W.G., Bathmann U., & Wolff W.J. (2011). Macrofauna under sea ice and in the open surface layer of the Lazarev Sea, Southern Ocean. *Deep-Sea Research II*. 58: 1948-1961.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., & Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3(5): 294-299.
- Fonda Umani S., Accornero A., Budillon G., Capello M., Tucci S., Cabrini M., Del Negro P., Montia M., & De Vittor C. (2002). Particulate matter and plankton dynamics in the Ross Sea Polynya of Terra Nova Bay during the Austral Summer 1997/98. *Journal of Marine Systems*. 36: 29-49.
- Fortier M., Fortier L., Hattori H., Saito H., & Legendre L. (2001). Visual predators and the diel vertical migration of copepods under Arctic sea ice during the midnight sun. *Journal of Plankton Research*. 23, 11: 1263-1278.
- Fransz H.G., & Gonzalez S.R. (1997). Latitudinal metazoan plankton zones in the Antarctic circumpolar current along 6 degree W during austral spring 1992. *Deep-Sea Res. II*. 44: 395-414.
- Froneman P.W., Laubischer R.K., & Mcquaid C.D. (2001). Size-fractionated Primary Production in the South Atlantic and Atlantic Sectors of the Southern Ocean. *Journal of Plankton Research*. 23, 6: 611-622.
- Fu F.X., Warner M.E., Zhang Y., Feng Y., & Hutchins D.A. (2007). Effects of increased temperature and CO₂ on photosynthesis, growth and elemental ratios of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*. 43: 485-496.
- Gangstø R., Gehlen M., Schneider B., Bopp L., Aumont O., & Joos F. (2008). Modeling the marine aragonite cycle: changes under rising carbon dioxide and its role in shallow water CaCO₃ dissolution. *Biogeosciences*. 5: 1057-1072.
- Gannefors C., Boer M., Kattner G., Graeve M., Eiane K., Gulliksen B., Hop H., & Falk-Petersen S. (2005). The Arctic sea butterfly *Limacina helicina*: lipids and life strategy. *Marine Biology*. 147: 169-177.
- Gattuso J-P., Frankignoulle M., Bourge I., Romaine S., & Buddemeier R.W. (1998). Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Global and Planetary Change*. 18: 37-46.
- Gazeau F., Quiblier C., Jansen J.M., Gattuso J-P., Middelburg J.J., & Heip C.H.R. (2007). Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophysical Research Letters*. 34.
- Gilmer R.W. (1972). Free-floating mucus webs: a novel feeding adaptation for the open ocean. *Science*. (Washington, D.C.) 176: 1239-1240.
- Gilmer R.W. (1990). In situ observations of feeding behavior of thecosome pteropod molluscs. *American Malacological Bulletin*. 8: 53-59.

- Gilmer R.W., & Harbison G.R. (1991). Diet of *Limacina helicina* (Gastropoda: Thecosomata) in Arctic waters in midsummer. *Marine Ecology Progress Series*. 77: 125-134.
- Gilmer R.W., & Harbison G.R. (1986). Morphology and field behavior of pteropod molluscs: feeding methods in the families Cavolinidae, Limacinidae and Peraclididae (Gastropoda: Thecosomata). *Marine Biology*. 91: 47-57.
- Gliwicz M.Z. (1986). Predation and the evolution of zooplankton population. *Limnology and Oceanography*. 24: 226-242.
- Gordon A.L., & Tchernia P. (1972). Waters of the Continental Margin off Adélie Coast, Antarctica, in, Antarctic Oceanology II: The Australian-New Zealand Sector. *Antarct. Res. Ser. edited by Dennis E. Hayes*. 19: 59-69.
- Granata A., Guglielmo L., Greco S., Vacchi M., Sidoti O., Zagami G., & La Mesa M. (2000). Spatial distribution and feeding habits of larval and juvenile *Pleuragramma antarcticum* in the Western Ross Sea (Antarctica). In: Faranda F., Guglielmo L., Ianora A. *Ross Sea Ecology*. Springer, Berlin. 369-393.
- Granata A., Zagami G., Vacchi M., & Guglielmo L. (2009). Summer and spring trophic niche of larval and juvenile *Pleuragramma antarcticum* in the Western Ross Sea, Antarctica. *Polar Biology*. 32: 369-382.
- Grebmeier J.M., Cooper L.W., Feder H.M., & Sirenko B.I. (2006). Ecosystem dynamics of the Pacific-influenced Northern Bering and Chukchi Seas in the Amerasian Arctic. *Progress in Oceanography*. 71: 331-361.
- Guglielmo L., Costanzo G., Manganaro A., & Zagami G. (1990). Spatial and vertical distribution of zooplanktonic communities in Terra Nova Bay (Ross Sea). *Nat. Sc. Com. Ant. Ocean. Camp. 1987-88*. Data Rep. I. 257-398.
- Guglielmo L., Zagami G., Saggiomo V., Catalano G., & Granata A. (2007). Copepods in spring annual sea ice at Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Polar Biology*. 30: 747-758.
- Guinotte J.M., & Fabry V.J. (2008). Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1134: 320-342.
- Haagensen D.A. (1976). Carribean zooplankton. Pat II. Thecosomata. Office of Naval. *Reaserch. Dept. Navy. Washington*. 551-712.
- Hamner W.M., Madin L.P., Alldredge A.L., Gilmer R.W., & Hamner P.P. (1975). Underwater observations of gelatinous zooplankton: sampling problems, feeding biology, and behavior. *Limnol Oceanogr*. 20: 907-917.
- Harris J.O., Maguire G.B., Edwards S.J., & Johns D.R. (1999). Low dissolved oxygen reduces growth rate and oxygen consumption rate of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laeigata* Donovan. *Aquaculture*. 174: 265-278.
- Hauton C., Tyrrell Toby., & Williams J. (2009). The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*. *Biogeosciences*. 6(8): 1479-1489.

- Hays G.C., Kennedy H., & Frost B.W. (2001). Individual variability in diel vertical migration of a marine copepod: why some individuals remain at depth when other migrate. *Limnology and Oceanography*. 46: 250-254.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., & deWaard J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 270(1512): 313-21.
- Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H., & Hallwachs W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 101(41): 14812-14817.
- Hecq J.H., Guglielmo L., Goffart A., Catalano G., & Goosse H. (1999). Modelling approach of the Ross Sea plankton ecosystem. In: Faranda F., Guglielmo L., Ianora A. *Ross Sea Ecology*. Italian Antarctic Expeditions (1986-1995). *Springer Berlin*. 395-412.
- Hecq J.H., Magazzù G., Goffart A., Catalano G., Vanucci S., & Guglielmo L. (1992). Distribution of planktonic components related to vertical structure of water masses in the Ross Sea and the Pacific sector of the Southern Ocean. In: *Anonymous, Atti del 9° congresso A.I.O.L., Santa Margherita Ligure, 20-23 Novembre 1990*. 665-678.
- Heimeier D., Lavery S., & Sewell M.A. (2010). Using DNA barcoding and phylogenetics to identify Antarctic invertebrate larvae: Lessons from a large scale study. *Marine Genomics*. 3: 165-177.
- Hofmann G.E., Barry J.P., Edmunds P.J., Gates R.D., Hutchins D.A., Klinger T. & Sewell M.A. (2010). The effect of ocean acidification on calcifying organisms in marine ecosystems: an organism-to-ecosystem perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 41: 127-147.
- Hollingsworth P.M. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106(31): 12794-7.
- Hönisch B., Hemming N.G., Archer D., Siddall M., & McManus J.F. (2009). Atmospheric Carbon Dioxide Concentration Across the Mid-Pleistocene Transition. *Science*. 324: 1551-1554.
- Honjo S., Manganini S.J., Krishfield R.A., & Francois R. (2008). Particulate organic carbon fluxes to the ocean interior and factors controlling the biological pump: a synthesis of global sediment trap programs since 1983. *Progress Oceanography*. 76: 217-285.
- Hood R.R., Laws E.A., Armstrong R.A., Bates N.R., Brown C.W., Carlson C.A., Chai F., Doney S.C., Falkowski P.G., Feely R.A., Friedrichs M.A.M., Landry M.R., Moore J.K., Nelson D.M., Richardson T.L., Saluhoglu B., Schartau M., Toole D.A., & Wiggert J.D. (2006). Pelagic functional group modelling: Progress, Challenges and prospects. *Deep-Sea Research II*. 53: 459-512.
- Hopkins T.L. (1987). Midwater food web in McMurdo Sound, Ross Sea, Antarctica. *Marine Biology*. 96: 93-106.
- Hubold G. (1985). The early life history of the high-antarctic silver-fish *Pleuragramma antarcticum*. In: Seigfried, W.R., Coridy P.R., Laws R.M. *Antarctic nutrient cycles and food webs*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 445-451.

- Hunt B., Strugnell J., Bednaršek N., Linse K., Nelson R.J., Pakhomov E., Seibel B., Steinke D., & Wüzburg L. (2010). Poles Apart: The “Bipolar” Pteropod Species *Limacina helicina helicina* Is Genetically Distinct Between the Arctic and Antarctic Oceans. *Plos One*. 5, 3: 9835.
- Hunt B.P.V., Pakhomov E.A., Hosie G.W., Siegel V., Ward P., & Bernard K. (2008). Pteropods in Southern Ocean ecosystems. *Progress Oceanography*. 78: 193-221.
- Innamorati M., Ferrari I., Marino D., & Ribera D'Alcalà M. (1990). Metodi nell'ecologia del plancton marino. *Nova Thalassia*. 11: 372.
- Innamorati M., Mori C., Massi L., Lazzara L., & Nuccio C. (1999). Phytoplankton biomass related to environmental factors in the Ross Sea. In: Faranda F.M., Guglielmo L., Ianora A. *Ross Sea Ecology*. Springer-Verlag, Berlin. 217-230.
- Jacobs S.S., Amos A.F., & Bruchhausen P.M. (1970). Ross sea oceanography and antarctic bottom water formation. *Deep Sea Research and Oceanographic*. 17: 935-962.
- Jacobs S.S., Fairbanks R., & Horibe Y. (1985). Origin and evolution of water masses near the Antarctic continental margin: evidence from H₂ ¹⁸O/H₂ ¹⁶O ratios in seawater. In: *Oceanology of the Antarctic Continental Shelf*. 59-85.
- Jennings R.M., Bucklin A., Ossenbrügger H., & Hopcroft R.R. (2010). Species diversity of planktonic gastropods (Pteropoda and Heteropoda) from six ocean regions based on DNA barcode analysis. *Deep-Sea Research II*. 57: 2199-2210.
- Juranek L.W., Russel A.D., & Spero H.J. (2003). Seasonal oxygen and carbon isotope variability in euthecosomatous pteropods from the Sargasso Sea. *Deep-Sea Research I*. 50: 231-245.
- Karnovsky N.J., Hobson K.A., Iverson S., & Hunt Jr.G.L. (2008). Seasonal changes in diets of seabirds in the North Water Polynya: a multiple-indicator approach. *Marine Ecology Progress Series*. 357: 291-299.
- Kattner G., Hagen W., Graeve M., & Albers C. (1998). Exceptional lipids and fatty acids in the pteropod *Clione limacina* (Gastropoda) from both polar oceans. *Marine Chemistry*. 61: 219-228.
- Kobayashi H.A. (1974). Growth cycle and related vertical distribution of the thecosomatous pteropod *Spiratella Limacina helicina* in the central Arctic Ocean. *Marine Biology*. 26: 295-301.
- Kosobokova K.N., & Hopcroft R.R. (2010). Diversity and vertical distribution of mesozooplankton in the Arctic's Canada Basin. *Deep-Sea Research II*. 57: 96-110.
- Kumar S., Tamura K., & Nei M., (2004). MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*. 5(2): 150-163.
- Kurihara H., & Kato Sand Ischimatu A. (2007). Effect of increased seawater pCO₂ on the early development of the oyster *Crassostrea gigas*. *Aquatic Biology*. 1: 91-98.
- Kurihara H., & Shirayama Y. (2004). Effect of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. *Marine Ecology Progress Series*. 274: 161-169.

- Kurtz D.D., & Bromwich D.H. (1985). A recurring, atmospherically forced polynya in TNB. *Antarct Res Ser.* 43: 493-508.
- Lalli C.M., & Gilmer R.W. (1989). The thecosomes, shelled pteropods. The biology of holoplanktonic gastropod mollusks. *Stanford University Press, Stanford, Calif.* 58-166.
- Lampert W. (1989). The adaptive significance of diel vertical migration of zooplankton. *Functional Ecology.* 3: 21-27.
- Langdon C., & Atkinson M.J. (2005). Effect of elevated pCO₂ on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment. *Journal of Geophysical Research: Oceans.* Vol. 110, Issue C9. DOI: 10.1029/2004JC002576.
- Larson R.J., & Harbison G.R. (1989). Source and fate of lipids in polar gelatinous zooplankton. *Arctic.* 42: 339-346.
- Laubscher R.K., Perissinotto R., & Mcquaid C.D. (1993). Phytoplankton production and biomass at frontal zones in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Polar Biology.* 13: 471-481.
- Lazzara L., Saggiomo V., Innamorati M., Mangoni O., Massi L., Mori G., & Nuccio C. (1999). Photosynthetic parameters, irradiance, biooptical properties and production estimates in the Western Ross Sea. In: Faranda F. M., Guglielmo L., Ianora A. *Ross Sea Ecology.* Berlin: Springer. 259-273.
- Lefebure T., Douady C.J., Gouy M., & Gibert J. (2006). Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: proposal of a molecular threshold to help species delimitation. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 40: 435-447.
- Legendre L., & Michaud J. (1998). Flux of biogenic carbon in oceans: size-dependent regulation by pelagic food webs. *Marine Ecology Progress Series.* 164: 1-11.
- Lischka S., Budenbender J., Boxhammer T., & Riebesell U. (2011). Impact of ocean acidification and elevated temperatures on early juveniles of the polar shelled pteropod *Limacina helicina*: mortality, shell degradation, and shell growth. *Biogeosciences.* 8: 919-932.
- Littlepage J.L. (1965). Oceanographic investigations in McMurdo Sound, Antarctica. *American Geophysical Union, Washington, D.C.* 5: 1-37.
- Locarnini R.A. (1994). Water masses and circulation in the Ross Gyre and environs. Ph.D. Thesis, Texas A&M University, College Station. Texas. USA [unpublished].
- Longhurst A.R. (2001). Ecological Geography of the Sea. *Elsevier-Academic Press, San Diego and London.* 398.
- Maas A.E., Elder L.E., Dierssen H.M., & Seibel B.A. (2011). Metabolic response of Antarctic pteropods (Mollusca: Gastropoda) to food deprivation and regional productivity. *Marine Ecology Progress Series.* 441: 129-139.
- Maas A.E., Wishner K.F., & Seibel B.A. (2012b). Metabolic suppression in thecosomatous pteropods as an effect of low temperature and hypoxia in the Eastern Tropical North. *Marine Biology.* 159: 1955-1967.

- Mackas D.L., & Galbraith M.D. (2002). Zooplankton Distribution and Dynamics in North Pacific Eddy of Coastal Origin: I. Transport and Loss of Continental Margin Species. *Journal of Oceanography*. 58: 725-738.
- Mahoney A.R., Gough A.J., Langhorne P.J., Robinson N.J., Stevens C.L., Williams M.J.M., & Haskell T.G. (2011). The seasonal appearance of ice shelf water in coastal Antarctica and its effect on sea ice growth. *Journal of Geophysical Research*. 116, C. 11032.
- Manno C., Peck V.L., & Tarling G.A. (2016). Pteropod eggs released at high pCO₂ lack resilience to ocean acidification. *Scientific Reports*. doi:10.1038/srep25752.
- Manno C., Tirelli V., Accornero A., & Fonda Umani S. (2010). Importance of the contribution of *Limacina helicina* faecal pellets to the carbon pump in Terra Nova Bay (Antarctica). *Journal of Plankton Research*. 34: 145-152.
- Martens F. (1675). Spitzbergische oder Groenlandische Reise Beschreibung gethan im Jahre 1671. Schultzen. *Hamburg*. 135.
- McClintock J.B., & Janssen J. (1990). Pteropod abduction as a chemical defense in a pelagic antarctic amphipod. *Nature*. 346: 462-464.
- Michaelidis B., Ouzounis C., Palaras A., & Pörtner H.O. (2005). Effects of long-term moderate hypercapnia on acid-base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series*. 293: 109-118.
- Mileikovsky S.A. (1970). Breeding and larval distribution of the pteropod *Clione limacina* in the North Atlantic, Subarctic and North Pacific Oceans. *Marine Biology*. 6: 317-332.
- Moreno C.A., Lunecke K.M., & Lopez M.I. (1986). The response of an intertidal *Concholepas concholepas* (Gastropoda:Muricidae) to protection from man in southern Chile and its effects on benthic sessile assemblages. *Oikos*. 46: 359-64.
- Moy A.D., Howard W.R., Bray S.G., & Trull T.W. (2009). Reduced calcification in modern Southern Ocean planktonic foraminifera. *Nature Geoscience*. 2: 276-280.
- Mucci A. (1983). The solubility of calcite and aragonite in seawater at various salinities, temperatures and 1 atmosphere total pressure. *American Journal of Science*. 238: 780-799.
- Myers T.D. (1968). Horizontal and vertical distribution of thecosomatous pteropods off Cape Hatteras. *Unpubl. PhD. diss. Duke Univ.* 224.
- Ohman M.D. (1990). The demographic benefits of diel vertical migration by zooplankton. *Ecological Monographs*. 60, 3: 257-281.
- Orr J.C., Fabry V.J., Aumont O., Bopp L., Doney S.C., Feely R.A., Gnanadesikan A., Gruber N., Ishida A., Joos F., Key R.M., Lindsay K., Maier-Reimer E., Matear R., Monfray P., Mouchet A., Najjar R.G., Plattner G.K., Rodgers K.B., Sabine C.L., Sarmiento J.L., Schlitzer R., Slater R.D., Totterdell I.J., Weirig M.F., Yamanaka Y., & Yool A. (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*. 437: 681-686.

- Ortman B.D. (2008). DNA barcoding the medusozoa and ctenophora. Ph.D. Dissertation. *University of Connecticut*. 121.
- Pakhomov E.A., & Froneman P.W. (2004). Zooplankton dynamics in the eastern Atlantic sector of the Southern Ocean during the austral summer 1997/1998-Part 2: Grazing impact. *Deep-Sea Research II*. 51: 2617-2631.
- Pakhomov E.A., Froneman P.W., & Perissinotto R. (2002). Salp/krill interactions in the Southern Ocean: spatial segregation and implications for the carbon flux. *Deep-Sea Research II*. 49: 1881-1907.
- Pane L., Feletti M., Francomacaro B., & Mariottini G.L. (2004). Summer coastal zooplankton biomass and copepod community structure near Italian TNB (TNB, Ross Sea, Antarctica). *Journal of Plankton Research*. 26, 12: 1479-1488.
- Patterson S.L., & Whitworth T. (1990). Physical oceanography. In: Glasby GP (ed) Antarctic sector of the Pacific. *Elsevier, Amsterdam*. 55-93.
- Perissinotto R. (1992). Mesozooplankton size- selectivity and grazing impact on the phytoplankton community of the Prince Edward Archipelago (Southern Ocean). *Marine Ecology Progress Series*. 79: 243-258.
- Phelger C.F., Nelson M.M., Mooney B., & Nichols P.D. (1999). Lipids of abducted Antarctic pteropod, Spongiobranchaea australis, and their hyperiid amphipod host. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 124: 295-307.
- Phipps C.J. (1774). A voyage towards the North Pole undertaken by H.M. command 1773. *London*. 1-253.
- Picco P., Amici L., Demicheli L., Langone L., Meloni R., & Ravaioli M. (1999). Temporal variability of currents in the Ross Sea (Antarctica). In: Manzella G.M.R., Spezie G. (Eds.), *Oceanography of the Ross Sea Antarctica*. Springer, Milano. 103-117.
- Pörtner H.O. (2002). Review. Physiological basis of temperature-dependent biogeography: trade-offs in muscle design and performance in polar ectotherms. *Journal of Experimental Biology*. 205: 2217-2230.
- Pörtner H.O. (2008). Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view. *Marine Ecology Progress Series*. 373: 203-217.
- Portner H.O., Haroewig I., Sartoris F.J., & Van Dijk P. (1998). Energetic aspects of cold adaptation: critical temperatures in metabolic, ionic and acid-base regulation. In Cold Ocean Physiology. Portner H.O., Playle R.C. *Cambridge University Press*. 88-120.
- Raskoff k. (2005). Hidden Ocean Expedition: NOAA Office of Ocean Exploration. *Clione*, a shell-less snail known as the Sea Butterfly swims in the shallow waters beneath Arctic ice. *NOAA Photo Library*.
- Ratnasingham S., & Hebert P.D.N. (2007). Barcoding BOLD: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*. 7(3): 355-64.

- Redfield A.C. (1939). The history of population of *Limacina retroversa* during its drift across the Gulf of Maine. *Biological Bulletin*. 76.
- Reipschlag A., & Portner H.O. (1996). Metabolic depression during environmental stress: The role of extracellular versus intracellular pH in *Sipunculus nudus*. *Journal of Experimental Biology*. 199: 1801-1807.
- Reiss J., Forster J., Cássio F., Pascoal C., Stewart R., & Hirst A.G. (2010). When microscopic organisms inform general ecological theory. *Advances in Ecological Research*. 43: 45-85.
- Remigio E., & Hebert P. (2003). Testing the utility of partial COI sequences for phylogenetic estimates of gastropod relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 29: 641-647.
- Riebesell U., Zondervan I., Rost B., Tortell P.D., Zeebe R.E., & Morel F.M.M. (2000). Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature*. 407: 364-367.
- Roberts D. Hopcroft R.R. & Hosie G.W. (2014). Southern Ocean pteropods. *Biogeographic Atlas of the Southern Ocean*. 276-283.
- Rosa R., & Seibel B.A. (2008). Synergistic effect of climate-related variables suggests future physiological impairment in a top oceanic predator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 52: 20776-20780.
- Rosenthal J.J.C, Seibel B.A., Dymowska A., & Bezanilla. (2012). Trade-off between aerobic capacity and locomotors capability in an Antarctic pteropod. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106, 15: 6192-6196.
- Russo A. (2000). Water mass characteristics during the ROSSMIZEcruise (Western Sector of the Ross Sea, November-December1994). In: Faranda F., Guglielmo L., Ianora A. *Ross Sea Ecology*. Springer, Berlin Heidelberg New York. 83-93.
- Sabine C.L., Feely R.A., Gruber N., Key R.M., Lee K., Bullister J.L., Wanninkhof R., Wong C.S., Wallace D.W.R., Tilbrook B., Millero F.J., Peng T.H., Kozyr A., Ono T., & Rios A.F. (2004). The Oceanic Sink for Anthropogenic CO₂. *Science*. 305(5682): 367-371.
- Saggiomo V., Catalano G., Mangoni O., Budillon G., & Carrada G.C. (2002). Primary production processes in ice-free waters of the Ross Sea (Antarctica) during the austral summer 1996. *Deep-Sea Res. II*. 49: 1787-1801.
- Saitou N., & Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4: 406-425.
- Sakshaug E. (2003). Primary and secondary production in the Arctic Seas, in The organic carbon cycle in the Arctic Ocean. edited by Stein R, Macdonald RW. *Springer-Verlag, Berlin*. 57-81.
- Sakshaug E., Bjørge A., Gulliksen B., Loeng H., & Mehlum. F. (1994). Structure, biomass distribution, and energetics of the pelagic ecosystem in the Barents Sea: A synopsis. *Polar Biology*. 14: 405-411.
- Sameoto D.D., Jarosynski L.O., & Fraser W.B. (1980). The BIONESS - new design in multiple net zooplankton, samplers. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 37: 722-724.

- Sato-Okoshi W., Okoshi K., Sasaki H., & Akiha F. (2010). Shell structure of two polar pelagic molluscs, Arctic *Limacina helicina* and Antarctic *Limacina helicina antarctica*. *Polar Biology*. 33: 1577-1583.
- Schalk P.H. (1990). Spatial and seasonal variation in pteropods (Mollusca) of Indo-Malayan waters related to watermass distribution. *Marine Biology*. 105: 59-71.
- Schnack-Schiel S.B., & Hagen W. (1994). Life cycle strategies and seasonal variations in distribution and population structure of four dominant calanoid copepod species in the eastern Weddell Sea, Antarctica. *Journal of Plankton Research*. 16: 1543-1566.
- Seibel B.A., & Dierssen H.M. (2003). Cascading trophic impacts of reduced biomass in the Ross Sea Antarctica: just the tip of the iceberg. *Biological Bulletin*. 205: 93-97.
- Seibel B.A., & Fabry V.J. (2003). Marine biotic response to elevated carbon dioxide. *Adv App Biodiversity Science* 4: 59-67.
- Seibel B.A., Dymowska A., & Rosenthal J. (2007). Metabolic temperature compensation and coevolution of locomotory performance in pteropod molluscs. *Integrative and Comparative Biology*. 47, 6: 880-891.
- Seibel B.A., Maas A.E., & Dierssen H.M. (2012). Energetic Plasticity Underlies a Variable Response to Ocean Acidification in the Pteropod, *Limacina helicina antarctica*. *Plos One*. doi:10.1371/journal.pone.0030464.
- Shirayama Y., & Thornton H. (2005). Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *Journal of Geophysical Research: Oceans* Vol. 110, Issue C9. DOI: 10.1029/2004JC002618.
- Smith S.L., & Schnack-Schiel S.B. (1990). Polar zooplankton. In: Smith WO (ed) Polar oceanography, Part B: chemistry, biology and geology. *Academic Press, London*. 527-598.
- Smith W.O., & Gordon L.I. (1997). Hiperproductivity of the Ross Sea (Antarctica) polynya during austral spring. *Journal of Geophysical Research*. 24: 233-236.
- Solis N.B., & von Westernhagen H. (1978). Vertical distribution of Euthecosomatous Pteropods in the upper 100 m of the Hilutangen Channel, Cebu, The Philippines. *Marine Biology*. 48: 79-87.
- Spezie G., Tucci S., Budillon G., Corradi N., Piccazzo M., Fanucci F., Firpo M., Mirabile L., & Ferrari M. (1993). Water masses characteristics, sediment dispersal and seismic stratigraphy in the continental margin of the Ross Sea (Antarctica). *Ann Ist Univ Nav Napoli*. 60: 32.
- Stepien J.C. (1980). The occurrence of chaetognaths, pteropod and euphasiids in relation to deep flow recersals in the Straits of Florida. *Deep-Sea Research*. 27A, 987-1011.
- Stocchino C., & Lusetti C. (1990). Prime osservazioni sulle caratteristiche idrologiche e dinamiche di Baia Terra Nova (Mare di Ross, Antartide). *Istituto Idrografico della Marina, Genova*. 1-55.
- Stocchino C., & Manzella G.M.R. (1991) Analisi delle correnti marine di Baia Terra Nova (Mare di Ross - Antartide). *Consiglio Nazionale Ricerche, Roma*. 1-56.
- Stoeckle M. (2003). Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. *BioScience*. 53(9): 2-3.

- Sullivan C.W., Arrigo K.R., McClain C.R., Comiso J.C., & Firestone J. (1993). Distributions of Phytoplankton Blooms in the Southern Ocean. *Science*. 262: 1832-1837.
- Thabet A.A., Maas A.E., Lawson G.L., & Tarrant A.M. (2015). "Life cycle and early development of the thecosomatous pteropod *Limacina retroversa* in the Gulf of Maine, including the effect of elevated CO₂ levels". *Marine Biology*. 162: 2235.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., & Higgins D.G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 25: 4876-4882.
- Van Den Berg C., Higgins W.E., Dressler R.L., Whitten W.M., Soto-Arenas M.A., & Chase M.W. (2009). A phylogenetic study of laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of Botany*. 104(3): 417-30.
- Van der Spoel S. (1967). Euthecosomata, a group with remarkable development stages (Gastropoda, Pteropoda). *J. Noorduy en Zoom. N.V. Gorinchem*. 375.
- Van der Spoel S. (1973). Growth, reproduction and vertical migration in *Clio pyramidata* Linne, 1767 forma *lunceolata* (Lesueur, 1813), with notes on some other Cavoliniidae (Mollusca, Pteropoda). *Beaufortia*. 281: 117-134.
- Van der Spoel S. (1976). Pseudothechosomata, Gymnosomata and Heteropoda (Gastropoda). *Utrecht: Bohn, Scheltema & Holkema*. 484.
- Van der Spoel S., & Dadon J.R. (1999). Pteropoda. In: Boltovsky D. (Ed.): South Atlantic Zooplankton. *Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands*. 649-706.
- Volkov A.F. (2008). Integral Patterns of Quantative Distribution of Mass Zooplankton Species in Far Eastern Seas and the North-Western Pacific Ocean Basing on the Annual Mean Data of 1984-2006. *Russian Journal of Marine Biology*. 34, 7: 490-496.
- Voronina N.M. (1998). Comparative abundance and distribution of major filter-feeders in the Antarctic pelagic zone. *Journal of Marine System*. 17: 357-390.
- Ward P., Whitehouse M., Brandon M., Shreeve R., & Woodd-Walker R. (2003). Mesozooplankton community structure across the Antarctic Circumpolar Current to the north of South Georgia: Southern Ocean. *Marine Biology*. 143: 121-130.
- Watanabe Y., Yamaguchi A., Ishida H., Harimoto T., Suzuki S., Sekido Y., & Ikeda T. (2006). Lethality of increasing CO₂ levels on deep-sea copepods in the western North Pacific. *Journal of Oceanography*. 62: 185-196.
- Wells F.E. (1976). Seasonal patterns of abundance and reproduction of euthecosomatous pteropods off Barbados, West Indies. *Veliger*. 18: 241-248.
- Wiebe P.H. (1972). A field invetigation of the relationship between length of tow, size of net and sampling error. *J. Cons Perni. Int. Explor. Mer*. 34: 268-275.

Williamson C.E., Fischer J.M., Bollens S.M., Overholt E.P., & Breckenridge J.K. (2011). Toward a more comprehensive theory of zooplankton vertical migration: Integrating ultraviolet radiation and water transparency into biotic paradigm. *Limnology and Oceanography*. 5: 1603-1623.

Wormuth J.H. (1981). Vertical distributions and diel migrations of Euthecosomata in the northwest Sargasso Sea. *Deep Sea Research Part A, Oceanographic Research Papers*. 12: 1493-1515.

Wormuth J.H. (1985). The role of cold-core Gulf Stream rings in the temporal and spatial patterns of euthecosomatous pteropods. *Deep-Sea Research*. 32: 773-788.

Zeebe R.E., Zachos J.C., Caldeira K., & Tyrrell T. (2008). Carbon emissions and acidification. *Science*. 4: 51-52.