

Capitolo 5

Ecofisiologia di '*Glenodinium sanguineum*' (Gs) *in situ* mediante mesocosmi (*enclosures*)



*In questo capitolo vengono riportati i risultati derivanti da studi in situ tramite esperimenti condotti in volumi di acqua confinati. Coerentemente con gli obiettivi di questa parte del progetto, si è indotto l'incremento sperimentale di Gs in ambiente controllato studiando le dinamiche competitive nei confronti di altri taxa fitoplanctonici e fornendo materiale di studio ai partner di progetto. Il fosforo è risultato essere il nutriente principale in grado di indurre la forte proliferazione di Gs; si è inoltre accertata la migrazione verticale di Gs e si sono indagati i meccanismi di grazing da parte dello zooplancton e in particolare da parte del rotifero *Gastropus stylifer*. Sui dinoflagellati aggregati in forti concentrazioni nelle strutture sperimentali sono stati esaminati i pigmenti e i metaboliti secondari. È stata inoltre condotta una caratterizzazione genetica della comunità a dinoflagellati.*

Selezione dei risultati ottenuti in strutture sperimentali posizionate nel Lago di Tovel nel corso del Progetto SALTO-WP6

Massimiliano TARDIO^{1*}, Daniel SPITALE¹, Francesco GHETTI², Costanza BAGNOLI², Luciano NANNICINI², Alfredo SERITTI², Flavio CORRADINI³ & Marco CANTONATI¹

¹Sezione di Limnologia e Algologia, Museo Tridentino di Scienze Naturali (MTSN), Via Calepina 14, I-38100 Trento

²CNR Istituto di Biofisica, Via G. Moruzzi 1, I-56100 Pisa

³Istituto Agrario di San Michele all'Adige, Via E. Mach 1, I-38010 S. Michele all'Adige (TN)

* E-mail dell'Autore per la corrispondenza: tardio@mtsn.tn.it

RIASSUNTO - *Selezione dei risultati ottenuti in strutture sperimentali posizionate nel Lago di Tovel nel corso del Progetto SALTO-WP6* - Dal 1997 il Museo Tridentino di Scienze Naturali compie studi mediante mesocosmi nella porzione sud-occidentale del Lago di Tovel, al fine di comprendere le cause che hanno determinato la scomparsa dell'arrossamento. Lo studio *in situ* dell'ecofisiologia del *Glenodinium sanguineum* March. (in realtà un complesso di specie qui per comodità indicato con *Gs* - le informazioni qui riportate sono in sostanza riferibili alla nuova specie in corso di descrizione *Baldinia anauniensis*) dal 2001 al 2004 è stato inquadrato nel Workpackage 6 del progetto SALTO (Studio sull'Arrossamento del Lago di Tovel). Oltre a verificare le esigenze nutrizionali dell'alga, sono stati studiati i potenziali *trigger* responsabili del suo viraggio dalla "forma verde" a quella "rossa", gli aspetti biologici (competizione con le diatomee e predazione da parte dello zooplancton) e gli aspetti fisiologici come i movimenti orizzontali e la migrazione verticale. È stato verificato che il fosforo è l'elemento limitante la crescita del fitoplancton nel Lago di Tovel, mentre l'azoto generalmente diviene limitante solo quando un arricchimento in P determina un aumento di biomassa algale. Per divenire dominante, *Gs* necessita di condizioni di alto irraggiamento che si riflettono in temperature dell'acqua superiori ai 12° C; la temperatura, assieme alla disponibilità di silice, compare tra i principali fattori regolanti la competizione tra *Gs* e la diatomea *Fragilaria tenera*. In particolari condizioni si può instaurare un rapporto preda-predatore tra *Gs* e il rotifero *Gastropus stylifer*. Nessun *trigger* studiato è riuscito a provocare il viraggio di *Gs* dalla "forma verde" a quella "rossa", in buon accordo con la recente scoperta che le due forme *sensu* Baldi sono in realtà specie distinte. In condizioni sperimentali *Gs* ha mostrato la capacità di compiere migrazioni verticali giornaliere. Le evidenze relative a movimenti orizzontali non sono conclusive, ma sembrano suggerire che il vento sia in grado di trasportare i *Gs* degli strati d'acqua superficiali verso la Baia Rossa.

SUMMARY - *Selected results from enclosures experiments obtained in Lake Tovel during the SALTO-WP6 Project* - Since 1997 the Museo Tridentino di Scienze Naturali applied the enclosures' technique in the study of the south-western part of Lake Tovel to understand the causes of the ceasing of the dinoflagellate red bloom. The *in situ* study of the eco-physiology of *Glenodinium sanguineum* March. (more precisely a species-complex here referred to as *Gs* - information reported here is attributable to the new species *Baldinia anauniensis* which is being described) from 2001 to 2004 was part of the Work Package 6 of the SALTO/BEST Project (Blooms and Environment: Science for Tovel). Besides testing the nutritional requirements, the potential triggers able to cause a shift from the green form to the red one were studied, as well as biological (competition and grazing) and physiological aspects and vertical and horizontal movements. Phosphorous is the limiting factor for the Lake Tovel phytoplankton; nitrogen becomes limiting only when it is depleted by a phytoplanktonic biomass increased after phosphorus enrichments. To become dominant *Gs* needs high irradiance which in turn affects water temperature; temperature together with silica are the main factors controlling the competition between *Gs* and the diatom *Fragilaria tenera*. In particular conditions there can be a prey-predator relationship between *Gs* and the rotifer *Gastropus stylifer*. No one of the triggers tested caused the shift of *Gs* from the green form to the red one, in good agreement with recent findings showing that the forms *sensu* Baldi are, in reality, two distinct species. *Gs* showed clear daily vertical migrations in experimental structures. Results concerning horizontal movements are not conclusive, but seem to suggest that the breeze can potentially transport the *Gs* of the upper water-layers towards the Red Bay.

Parole chiave: WP6-SALTO, mesocosmi, Lago di Tovel, *Glenodinium sanguineum sensu lato*, nutrienti, luce, migrazione verticale

Key words: WP6-SALTO, enclosures, Lake Tovel, *Glenodinium sanguineum sensu lato*, nutrients, light, vertical migration

1. INTRODUZIONE

Dal 1997 al 2000 l'Ente Parco Naturale Adamello-Brenta ha finanziato al Museo Tridentino di Scienze Naturali di Trento (MTSN), in collaborazione con l'Unità Operativa di Biochimica e Tecnologie Innovative per la valorizzazione dell'Ambiente (BTIA) dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige (IASMA), lo studio ecofisiologico in mesocosmi del dinoflagellato *Glenodinium sanguineum* March. (*Gs*) al fine di comprendere le cause che hanno determinato la scomparsa del fenomeno di arrossamento del Lago di Tovel. All'interno dei mesocosmi si sono effettuate modificazioni sperimentali utili a comprendere le esigenze dell'alga nei confronti di varie risorse ambientali, quali luce, temperatura e disponibilità di nutrienti. Dalle osservazioni raccolte nel corso dei tre anni di sperimentazioni è risultato chiaro il ruolo svolto dal fosforo nel controllare lo sviluppo del popolamento fitoplanctonico e quello svolto da buone condizioni di insolazione nel consentire ai dinoflagellati di approfittare di eventuali surplus di questo nutriente.

Dall'estate 2001 le ricerche in mesocosmi sono confluite nel progetto SALTO, costituendo il nucleo operativo del Work Package 6 (WP6), riguardante lo studio ecofisiologico di *Gs* in mesocosmi: l'obiettivo era quello di capire le dinamiche che un tempo portavano l'alga a proliferare e a sintetizzare il pigmento rosso. Alle ricerche previste da tale filone di ricerca, coordinato dal dott. Marco Cantonati, Conservatore della Sezione di Limnologia e Algologia del Museo Tridentino di Scienze Naturali, hanno partecipato i collaboratori dello stesso museo, il Dipartimento Valorizzazione delle Risorse Naturali dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige per le analisi chimiche, il Dipartimento di Chimica Bioorganica dell'Università di Trento, il Laboratorio di Protistologia dell'Università di Pisa e il Dipartimento di Fotobiologia, Istituto di Biofisica, del CNR di Pisa.

Le osservazioni sul fitoplancton di Tovel e sull'ecofisiologia di *Glenodinium sanguineum* (*Gs*) *sensu lato* che verranno di seguito presentate si riferiscono esclusivamente ad analisi svolte nell'ambito del progetto SALTO-WP6. Per una corretta interpretazione di quanto sarà esposto, è necessario ricordare che i dinoflagellati un tempo definiti *Glenodinium sanguineum* sono in realtà un complesso di specie, all'interno del quale spiccano *Tovellia sanguinea* sp. *inedit.* (ex "forma rossa *sensu* Baldi") e *Baldinia anauniensis* gen. *inedit.* (ex "forma verde *sensu* Baldi"). A questi risultati si è giunti grazie a ricerche

svolte nell'ambito di SALTO WP5 e coordinate dal Dipartimento Valorizzazione delle Risorse Naturali dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige (Flaim *et al.* 2004; Moestrup *et al.* 2006). I risultati riportati nel presente lavoro, fanno riferimento a *Glenodinium sanguineum sensu lato* (*Gs*), anche se sono tutti sostanzialmente riferibili a *B. anauniensis*.

2. SCOPO DELLA RICERCA

2.1. Gli obiettivi del progetto SALTO-WP6

Gli obiettivi del WP6 sono stati i seguenti: i) indurre incrementi significativi dei popolamenti di *Gs* in ambiente controllato, descriverne nei dettagli le fasi di sviluppo, il ciclo vitale, le migrazioni verticali e svolgere indagini *in situ* sui trigger che inducono l'accumulo di carotenoidi; ii) a partire da vari stadi del ciclo biologico, definire la distribuzione qualitativa dei carotenoidi e di altri metaboliti secondari attraverso moderni metodi analitici, spettroscopici e chimici; iii) studiare aspetti fotobiologici di *Gs* e dei pigmenti isolati.

In dettaglio, si elencano le attività previste dal progetto:

1. progettazione e installazione delle strutture necessarie a condurre gli esperimenti sul *Gs* nel lago;
2. arricchimento con nutrienti di porzioni d'acqua isolate;
3. installazione di filtri selettivi per radiazione UVA e UVB;
4. determinazioni e monitoraggio dei popolamenti fitoplanctonici;
5. identificazione e documentazione dei vari stadi del ciclo vitale di *Gs*;
6. immissione di alte densità di *Gs* in un mezzo ambiente con scarsa disponibilità di N e sottoposto a elevati irraggiamenti luminosi;
7. studio delle migrazioni verticali di *Gs*;
8. campionamento di materiale concentrato di *Gs* per avviare colture in laboratorio e per le analisi chimiche e fotobiologiche;
9. definizione della distribuzione qualitativa dei carotenoidi della microalga attraverso metodi spettroscopici, chimici, e analitici;
10. irraggiamento delle colture di *Gs* con esclusione progressiva di bande UVB e UVA;
11. misure di fluorescenza degli estratti organici e dei pigmenti isolati dal punto di vista fotobiologico.

2.2. Scopo delle ricerche dell'estate 2001

Le ricerche dell'estate 2001 si prefiggevano i seguenti obiettivi:

- studiare i fattori che inducono l'alga a proliferare e a elaborare il carotenoide responsabile del cromatismo (astaxantina). La programmazione di tale studio è partita dalle numerose osservazioni presenti in bibliografia sull'elevata capacità di un'alga clorofita, *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille, di elaborare astaxantina prima dell'incistamento (vedi per esempio Hagen *et al.* 2000; Olaizola 2000; Mendes-Pinto *et al.* 2001; Grünewald & Hagen 2001). *H. pluvialis* sintetizza astaxantina in particolari condizioni di stress quali un elevato irraggiamento e deficit del nutriente azoto. Il nostro studio si è rivolto quindi all'analisi degli effetti di un surplus di luce e di una carenza di azoto sul metabolismo di sintesi dei pigmenti (tra cui astaxantina) di *Gs*;
- studiare gli effetti dell'eliminazione dell'irraggiamento UV sul popolamento fitoplanctonico e in particolare su *Gs*;
- studiare gli effetti di immissioni di macro (P) e micronutrienti (Fe e Se) sul popolamento fitoplanctonico e in particolare su *Gs*.

2.3. Scopo delle ricerche dell'estate 2002

Le sperimentazioni *in situ* dell'estate 2002 sono state particolarmente rivolte allo studio dei fattori biologici che controllano le fioriture di *Gs*. In particolare si sono esaminati:

- gli effetti della rimozione dello zooplancton predatore sul popolamento fitoplanctonico e in particolare su *Gs*;
- i rapporti di competizione tra *Gs* e la diatomea *Fragilaria tenera* (W. Smith) Lange-Bertalot;
- l'importanza del momento in cui viene somministrato il fosforo nel determinare la specie algale che andrà a dominare il popolamento fitoplanctonico;
- la misura del rendimento quantico ottimale fotosintetico;
- la misura del carbonio organico disciolto.

Si sono inoltre effettuati primi tentativi di irraggiamento con radiazione UV di elevate densità di *Gs* per verificare se tale stress provoca la produzione di pigmento rosso.

2.4. Scopo delle ricerche dell'estate 2003

Gli obiettivi delle sperimentazioni *in situ* dell'estate 2003 sono stati i seguenti:

- studio dei fattori nutrizionali (P, N e letame bovino) e biologici (predazione e competizione) nel controllare le fioriture di *Gs*;

- studio degli effetti di diversi stress luminosi su alte concentrazioni di *Gs*;
- studio della migrazione verticale di *Gs*;
- studio della migrazione orizzontale di *Gs*;
- misurazione della torbidità delle acque in seguito a dilavamento della strada circumlacuale dovuto a un episodio di maltempo con elevate precipitazioni atmosferiche;
- analisi del ciclo di sviluppo di *Gs*.

Durante tutte e tre le annate sperimentali si sono effettuati prelievi di concentrati dell'alga all'interno dei mesocosmi per gli studi di laboratorio eseguiti dalle Università di Trento e Pisa e presso il CNR di Pisa.

3. MATERIALI E METODI

3.1. Tipologie di mesocosmi utilizzate, zone di posizionamento e interventi sperimentali effettuati

Gli esperimenti in mesocosmi delle tre annate sperimentali sono stati condotti nella zona sud-occidentale del lago, la Baia Rossa, laddove si presentava con maggiore intensità il fenomeno dell'arrossamento (per la descrizione delle tre tipologie di mesocosmi utilizzate vedi Cantonati *et al.* 2002). Cilindri e sacchi sono stati posizionati nella parte nord-occidentale della Baia Rossa nei pressi dell'albergo Lago Rosso (C; Fig. 1). Le vasche sono state impiegate per analizzare la zona di riva sud-orientale della Baia Rossa (V; Fig. 1).



Fig. 1 - Il Lago di Tovel con indicazione delle zone oggetto delle ricerche in mesocosmi (C= zona cilindri e sacchi; V= zona vasche).

Fig. 1 - Lake Tovel with locations of the areas of the enclosures' experiments (C= cylinders and bags zone; V= pools zone).

Tab. 1 - Modificazioni sperimentali effettuate durante le tre annate all'interno dei mesocosmi.

Tab. 1 - Outline of the experiments carried out during the three years in the enclosures.

2001		SO	S2	S5	S7	
		17-lug	21-lug	26-lug	30-lug	
cilindri	A	controllo				
	B	P= +20		P= +20		
vasche	C	P= +20		P= +20	lampade	
	D	controllo				
	E	copertura				
	F	copertura P= +20				
	G	P= +20 Se= +0,05 Fe= +40	Fe= +40	P= +20 Se= +0,05 Fe= +40	Fe= +40	
sacchi	1	controllo				
	2	P= +20		P= +20		
	3	Se= +0,05		Se= +0,05		
	4	P= +20 Se= +0,05		P= +20 Se= +0,05		
	5	Fe= +40	Fe= +40	Fe= +40	Fe= +40	
	6	P= +20 Fe= +40	Fe= +40	P= +20 Fe= +40	Fe= +40	
	7	P= +20 Se= +0,05 Fe= +40	Fe= +40	P= +20 Se= +0,05 Fe= +40	Fe= +40	
2002		SO	S8	S13	S15	
		23-lug	02-ago	16-ago	22-ago	
cilindri	A	controllo				
	B	P= +20		P= +20		
	C	P= +20	P= +20			
	D	P= +20 lampade	P= +20			
sacco	1		P= +20	P= +20 N= +200		
2003		SO	S3	S4	S6	S9
		04-ago	08-ago	11-ago	14-ago	20-ago
cilindri	A	controllo				
	B	P= +20				P= +20 N= +200
	C	P= +20				P= +20 N= +200
	D	P= +40				P= +40 N= +200
sacchi	A	controllo				
	B		P= +20			P= +20 N= +200
	C			letame= +10,24g	letame= +10,24g	letame= +10,24g

Le date di posizionamento (S0) e di realizzazione degli interventi sperimentali, le tipologie di mesocosmi utilizzate e il tipo d'intervento sperimentale effettuato durante i tre anni di studio sono riassunti in tabella 1. Gli arricchimenti in fosforo sono avvenuti utilizzando una soluzione di KH_2PO_4 , quelli in selenio utilizzando una soluzione di Na_2SeO_3 , quelli in ferro utilizzando una soluzione di $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$, quelli in letame bovino, secondo i dati disponibili in bibliografia, in modo da aumentare la concentrazione di fosforo di circa $20 \mu\text{g l}^{-1}$.

3.2. Specifici interventi sperimentali effettuati nel corso dell'estate 2001

Nel 2001 all'interno del cilindro C funzionavano 16 lampade al neon OSRAM L 18W/77 FLUORA; il primo agosto al di sotto di un portalampe, è stato posizionato un sacco (denominato "8° sacco") riempito per metà con acqua carente di azoto e per metà con acqua contenente alte densità di Gs. Le vasche E e F sono state coperte con un telo commerciale per ombreggiature.

3.3. Specifici interventi sperimentali e analisi effettuati nel corso dell'estate 2002

Nel 2002 all'interno del mesocosmo B si sono effettuati due arricchimenti, il secondo dei quali è avvenuto il 16 agosto, giorno in cui il biovolume di Gs superava quello della diatomea *Fragilaria tenera*. Nella stessa giornata è stato avviato un nuovo esperimento con riempimento di un sacco con acqua di lago e fosforo ($+20 \mu\text{g l}^{-1}$). All'interno del cilindro D funzionavano 4 lampade al neon con una componente maggiorata di UVB del 5% rispetto alle normali lampade bianche.

L'estremità inferiore del cilindro C è stata chiusa con un retino con maglie da $100 \mu\text{m}$, in modo da mantenere all'esterno tutti gli organismi di dimensioni superiori.

Ulteriori analisi effettuate:

- *Misura del rendimento quantico ottimale della fotosintesi dei popolamenti algali.* I prelievi sono stati fatti tre volte al giorno (10.30, 13.30 e 17.30) lungo tutta la colonna d'acqua, con un retino da fitoplancton con maglia di $10 \mu\text{m}$. La misura *in vivo* della fluorescenza della clorofilla è una tecnica molto utile per lo studio del funzionamento e della struttura dell'apparato fotosintetico, anche perché l'emissione di fluorescenza può essere misurata con metodi non distruttivi e non invasivi (Karukstis 1991). In alghe adattate al buio, a seguito di un impulso di eccitazione, si misurano bassi valori di fluorescenza (fluorescenza iniziale, F_0): tutti i siti accettori sono nello stato ossidato, pronti per accettare l'elettrone dal centro di rea-

zione (centri di reazione aperti). Dopo l'applicazione di un impulso di luce bianca saturante, i siti accettori passano allo stato ridotto (centri di reazione chiusi) e la fluorescenza raggiunge il valore massimo (F_m). Il parametro $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ rappresenta il rendimento quantico ottimale della fotosintesi (*Photosynthetic Optimal Quantum Yield*). Questo parametro è stato utilizzato come indicatore di stress dell'apparato fotosintetico sia in alghe (Ralph 1999) che in organismi vegetali superiori e, per quanto riguarda lo stress da irraggiamento, è risultato più sensibile della misura della produzione di ossigeno fotosintetico tramite elettrodo a ossigeno (Ralph & Burchett 1995). Il parametro F_v/F_m è stato inoltre utilizzato come indicatore di stress salino (Kamermans *et al.* 1999) e da limitazione di carbonio (Hellblom & Björk 1999; Schwarz *et al.* 2000). Il valore F_v/F_m è stato misurato a temperatura ambiente con un fluorimetro PAM, Pulse Amplitude Modulation (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germania) (Schreiber 1994). Le misure sono state rilevate dopo aver adattato il campione al buio per cinque minuti, in modo che tutti i centri di reazione fossero aperti e quindi che il valore di F_0 misurato fosse il più basso possibile.

- *Misure di carbonio organico disciolto (DOC).* Le misure di DOC sono state effettuate con il Total Carbon Analyser Shimadzu 5000. 10 ml di campione sono stati acidificati con $50 \mu\text{l}$ di H_3PO_4 al 50% e gorgogliati per 15 minuti con ossigeno ultrapuro, allo scopo di rimuovere il carbonio inorganico. Quindi, $100 \mu\text{l}$ di campione sono stati iniettati nella fornace posta a 680°C sotto flusso di ossigeno. La CO_2 prodotta è stata quantificata per mezzo di un rivelatore non dispersivo a infrarosso. Le misure di fluorescenza sono state effettuate con uno spettrofluorimetro Perkin-Elmer LS50B e le slitte di eccitazione ed emissione regolate rispettivamente a 5 nm e 10 nm. Gli spettri di emissione della fluorescenza *humic like* sono stati ottenuti regolando la lunghezza d'onda di eccitazione a 355 nm e registrando l'emissione nell'intervallo spettrale 370-500 nm. La scansione è stata effettuata a una velocità di 200 nm min^{-1} (Seritti *et al.* 1994).
- *Prove d'irraggiamento in acquarietti.* Il 13 agosto 2002 sono stati prelevate alte densità di Gs dai bordi dei cilindri per effettuare analisi di laboratorio il giorno seguente: il volume prelevato (circa 20 l) è stato suddiviso in 3 acquarietti sottoposti a diverse intensità e dosi di luce bianca (lampade al neon "OSRAM L 18W/77 FLUORA") e di UVB (lampade Q-lamp) secondo lo schema riportato in tabella 2. Ad ognuno di quelli che in tabella vengono denominati "Tempi sperimentali" si sono effettuati 2 prelievi da 200 ml sottoposti a

Tab. 2 - Disegno sperimentale delle prove d'irraggiamento di alte densità di *Gs* in acquarietti.

Tab. 2 - *Outline of the irradiance tests of high densities of Gs in small aquaria.*

Acquarietto 1: BIANCO (solo lampade fluora)		
Acquarietto 2: fluora + UVB a 10 cm di distanza		
Acquarietto 3: fluora + UVB a 25 cm di distanza		
ore 9	Tempo 0 (T0)	prima dell'irraggiamento
ore 9.30	Tempo 1 (T1)	dopo mezz'ora di irragg. UV
ore 10	Tempo 2 (T2)	dopo mezz'ora di pausa
ore 11	Tempo 3 (T3)	dopo un'ora di irragg. UV
ore 12	Tempo 4 (T4)	dopo 1 ora di pausa
ore 13.30	Tempo 5 (T5)	dopo 1 ora e mezza di irragg. UV

filtrazione con filtri Wathman GF/C; dei due filtri ottenuti uno è stato conservato a -20 °C fino al momento dell'estrazione e dell'analisi spettrofotometrica condotta secondo Lorenzen (1967) e l'altro consegnato al Laboratorio di Chimica Bioorganica per l'analisi dei pigmenti.

3.4. Specifici interventi sperimentali e analisi effettuate nel corso dell'estate 2003

Nel 2003 l'estremità inferiore del cilindro C è stata chiusa con un retino con maglie da 50 µm, in modo da mantenere all'esterno tutti gli organismi di dimensioni superiori.

Ulteriori analisi effettuate:

- *Profilo orizzontale e verticale dell'estinzione della luce.* Il 31 luglio si sono presentate cattive condizioni meteo con pioggia durante l'arco della giornata; il giorno seguente, per valutare gli effetti del dilavamento delle rive (specialmente quella nei pressi della strada) sul popolamento fitoplanctonico del lago, si sono effettuate delle misure di estinzione della luce lungo il transetto indicato in figura 2 alle diverse profondità, utilizzando un radiometro "LI-COR (LI-1400) quantum sensor".
- *Prove d'irraggiamento con UV.* L'8, 11 e 14 agosto, presso la Stazione Limnologica del Museo, si sono effettuate prove d'irraggiamento di aggregati di *Gs* presi dai cilindri. L'8 agosto 2 capsule Petri sono state riempite una con 75 ml di aloni e una anche con 75 ml di acqua distillata; i due campioni sono stati sottoposti a irraggiamento UV utilizzando la Q-lamp a una distanza di 21 cm per 5 minuti. L'11 agosto si è ripetuto l'esperimento irraggiando i campioni alla stessa distanza per 1h e 30 min. Il 14 agosto un tubo in plexiglass di diametro 6 cm e lungo 190 cm è stato riempito con

aloni, sistemato in posizione verticale e suddiviso in 4 porzioni: la zona 1 è stata coperta con carta stagnola ottenendo il buio all'interno del tubo, la zona 2 è stata irraggiata con le lampade con contenuto in UVB maggiorato del 5% rispetto a luci bianche, la zona 3 con lampade fluora e la zona 4 con le Q-lamp. Le lampade sono rimaste accese dalle ore 15 alle 16.45.

- *Movimenti orizzontali.* Il 4-5 settembre nella porzione di lago raffigurata in figura 3 sono state fatte due prove atte ad approfondire lo studio dei movimenti orizzontali di *G. sanguineum*: alte concentrazioni dell'alga, prelevate retinando la Baia Rossa, sono state marcate con "rosso neutro", un colorante, che, pur colorando le cellule di rosso, le mantiene in condizioni vitali. Tale campione è stato versato lungo il transetto R alle ore 12:00 il 4 settembre (1° prova) e alle ore 10:30 il 5 settembre (2° prova). Alle distanze di tempo indicate in tabella 3 sono state compiute 3 retinate orizzontali per ognuno dei 3 transetti indicati in figura 3: A-B (distante 30 m dal punto di rilascio), C-D (distante 80 m) e E-F (distante 120 m). Presso la Stazione Limnologica sono stati effettuati successivamente i conteggi per determinare la percentuale dei marcati ricatturati.
- *Migrazione verticale.* Nei giorni 4-5 e 11-12 settembre si è voluto approfondire lo studio della migrazione verticale di *Gs*: alte densità dell'alga raccolte retinando la baia Rossa sono state versate nella sommità di un tubo di plexi-



Fig. 2 - Punti del transetto oggetto dello studio dell'estinzione della luce con la profondità.

Fig. 2 - *Transect points in which underwater light extinction was measured.*

glass trasparente di diametro 6 cm e lunghezza 190 cm, che è stato poi immesso nel lago in posizione verticale nei pressi dei cilindri. A distanza di 10, 35, 60, 85, 110, 135, 160 e 180 cm dalla sommità del tubo si sono inserite delle tettarelle per pipette Pasteur con un microforo dal quale, a tempi regolari (Tab. 4), si prendevano campioni di acqua che venivano sottoposti a misurazione della temperatura e al conteggio di *Gs*. In diverse fasi della giornata è stata inoltre misurata l'estinzione della luce alle diverse profondità.

Tab. 3 - Ora d'immissione e di prelievo dei *Gs* marcati durante le due giornate di studio dei movimenti orizzontali.
 Tab. 3 - Release and sampling time of marked *Gs* during the two days of experiments on the horizontal movements.

04-set		05-set	
Intervento	Ora (solare)	Intervento	Ora (solare)
Immissione	12:00	Immissione	10.30
Prelievo 1	13:30	Prelievo 1	11.30
Prelievo 2	15:30	Prelievo 2	12.30
Prelievo 3	17:30	Prelievo 3	13.30



Fig. 3 - Localizzazione della zona oggetto dello studio dei movimenti orizzontali di alte densità di *Gs* trattate con colorante vitale (R= zona di rilascio dell'alga; A-B= prima zona di controllo a 30 m da R; C-D= seconda zona di controllo a 80 m da R; E-F= terza zona di controllo a 120 m da R).
 Fig. 3 - The area of the study of the horizontal movements of aggregates of *Gs* marked with vital stain (R= release point of the marked dinoflagellates; A-B= first monitoring transect at 30 m from R; C-D= second monitoring transect at 80 m from R; E-F= third monitoring zone at 120 m from R).

Tab. 4 - Ora d'immissione (T0) e di campionamento del mesocosmo a tubo durante le due giornate di studio della migrazione verticale.

Tab. 4 - Release (T0) and sampling time of *Gs* high-densities within a column-shaped enclosure during the two days of experiments on the vertical migration.

4-5 settembre		11-12 settembre	
Tempo	Ora (solare)	Tempo	Ora (solare)
T0	22:30	T0	11:45
T1	5:00	T1	13:20
T2	9:00	T2	17:15
T3	10:30	T3	19:15
T4	12:15	T4	23:15
T5	14:30	T5	5:40
		T6	7:50
		T7	10:15
		T8	13:00
		T9	16:00
		T10	18:15

3.5. Strumentazioni utilizzate per il monitoraggio dei parametri fisici, chimici e biologici.

Durante tutte e tre le annate sperimentali, all'inizio di ogni campionamento sono state registrate le condizioni meteorologiche, l'ora del prelievo, la pressione atmosferica, il livello del lago e i più significativi parametri fisico-chimici con sonda multiparametrica "HYDROLAB H20". Campioni d'acqua sono stati prelevati mediante un campionatore Patalas-Schiendler; le analisi chimiche sono state condotte secondo i metodi IRSA-CNR (1994), quelle del fitoplancton secondo Utermöhl (1958), utilizzando un microscopio invertito OLYMPUS IX70 e IX71 e contando a ogni ingrandimento almeno 100 individui del taxon dominante, il che corrisponde a un errore del 20% circa (Lund *et al.* 1958). Il biovolume algale è stato determinato secondo Rott (1981). Le analisi dei pigmenti clorofilliani sono state effettuate secondo Lorenzen (1967).

4. RISULTATI

4.1. Annata 2001

I risultati relativi all'annata 2001 sono stati oggetto di tre pubblicazioni (Cantonati *et al.* 2003; Tardio *et al.* 2003; Spitale *et al.* 2004).

In modo di offrire al lettore un quadro completo, li riassumiamo qui in estrema sintesi:

- il fosforo e le condizioni di illuminazione sono

- fattori chiave che controllano la proliferazione e la dominanza di *Gs* (Cantonati *et al.* 2003);
- l'azoto diventa un fattore limitante solo in condizioni forzate dall'aggiunta di fosforo (Cantonati *op. cit.*);
 - *Gs* compete per le risorse con altre flagellate (*Gymnodinium uberrimum*, *Dinobryon cf. sociale* var. *americana*, *Campylomonas* sp. e *Tetraselmis* sp.) dotate tutte di peculiari caratteristiche ecologiche (Tardio *et al.* 2003);
 - *Gs* all'interno di mesocosmi di piccole dimensioni ha una risposta tardiva a condizioni di disponibilità di fosforo, e reazioni assenti o modeste ad arricchimenti con selenio e ferro (Spitale *et al.* 2004).

Nell'ottavo sacco, riempito per metà con acqua presa all'interno di aloni formati sui bordi dei cilindri, la massima concentrazione di *Gs* è stata riscontrata il 9 agosto ($5 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$, circa 700 mila ind. l^{-1} ; Fig. 4).

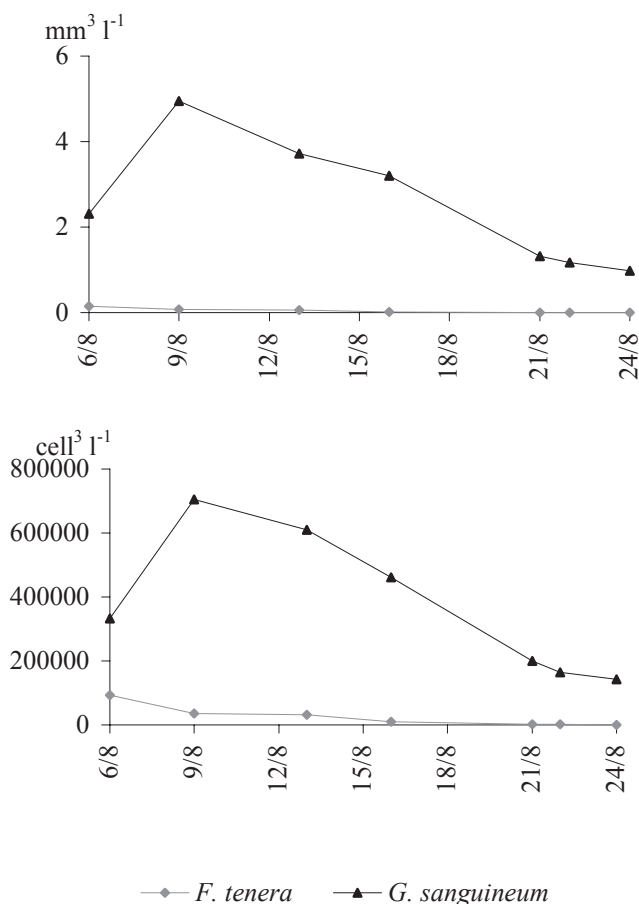


Fig. 4 - Andamento dei biovolumi dei gruppi algali, dei biovolumi e delle densità delle specie principali all'interno dell'8° sacco.

Fig. 4 - Biovolumes of the taxa, biovolumes and densities of the main species in the 8th bags.

4.2. Annata 2002

Durante l'estate 2002 si è assistito, in quasi tutte le strutture, a un rapporto di competizione tra *Gs* e *F. tenera* (Spitale *et al.* 2005). Questa situazione ha consentito alla diatomea di dominare all'inizio del periodo sperimentale quando era disponibile la silice e, conseguentemente al consumo di questa, a *Gs* di svilupparsi (in maniera più significativa sui bordi delle strutture formando degli aloni). Per valutare l'importanza del momento in cui viene somministrato il fosforo nel determinare la specie algale che andrà a dominare il popolamento fitoplanctonico, è stata effettuata una prova di arricchimento di un sacco il 16 agosto, giorno in cui *Gs* si trovava in condizioni di dominanza sul resto della comunità e in particolare su *F. tenera*; tali condizioni di dominanza, unite alla disponibilità di P, hanno permesso un forte sviluppo del dinoflagellato (Spitale *et al.* 2005).

La predazione da parte dello zooplancton. Il monitoraggio del popolamento zooplanctonico all'interno del mesocosmo C confrontato con il controllo, per verificare l'effettiva efficacia della rete nell'abbattere la predazione, mostra che tale rete è riuscita a eliminare solo gli organismi più grandi (Fig. 5): si è avuto così un abbattimento totale delle uova di cladoceri e di copepodi, e una forte diminuzione dei cladoceri. Invece i rotiferi, più piccoli, non hanno subito una diminuzione e sono risultati presenti con densità maggiori.

Rendimento quantico ottimale fotosintetico. I risultati delle misure di F_v/F_m sono rappresentati nei grafici di figura 6. I valori misurati all'interno dei vari mesocosmi e all'esterno sono relativi a tutti gli organismi vegetali presenti. Non sono evidenti signi-

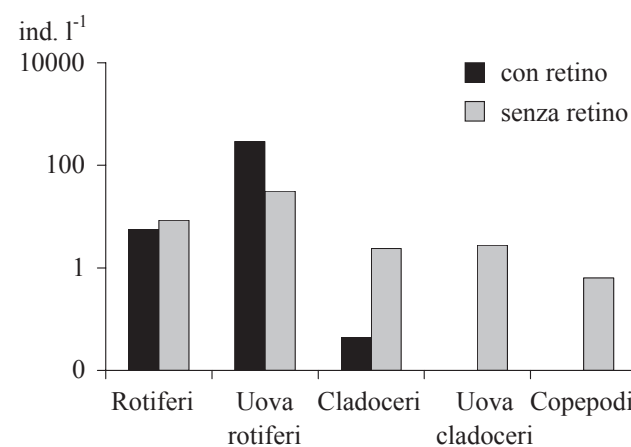


Fig. 5 - Andamento delle densità dello zooplancton all'interno del mesocosmo con retino (C) e senza retino (A).

Fig. 5 - Densities of the zooplankton in the enclosures with (C) and without zooplankton net (A).

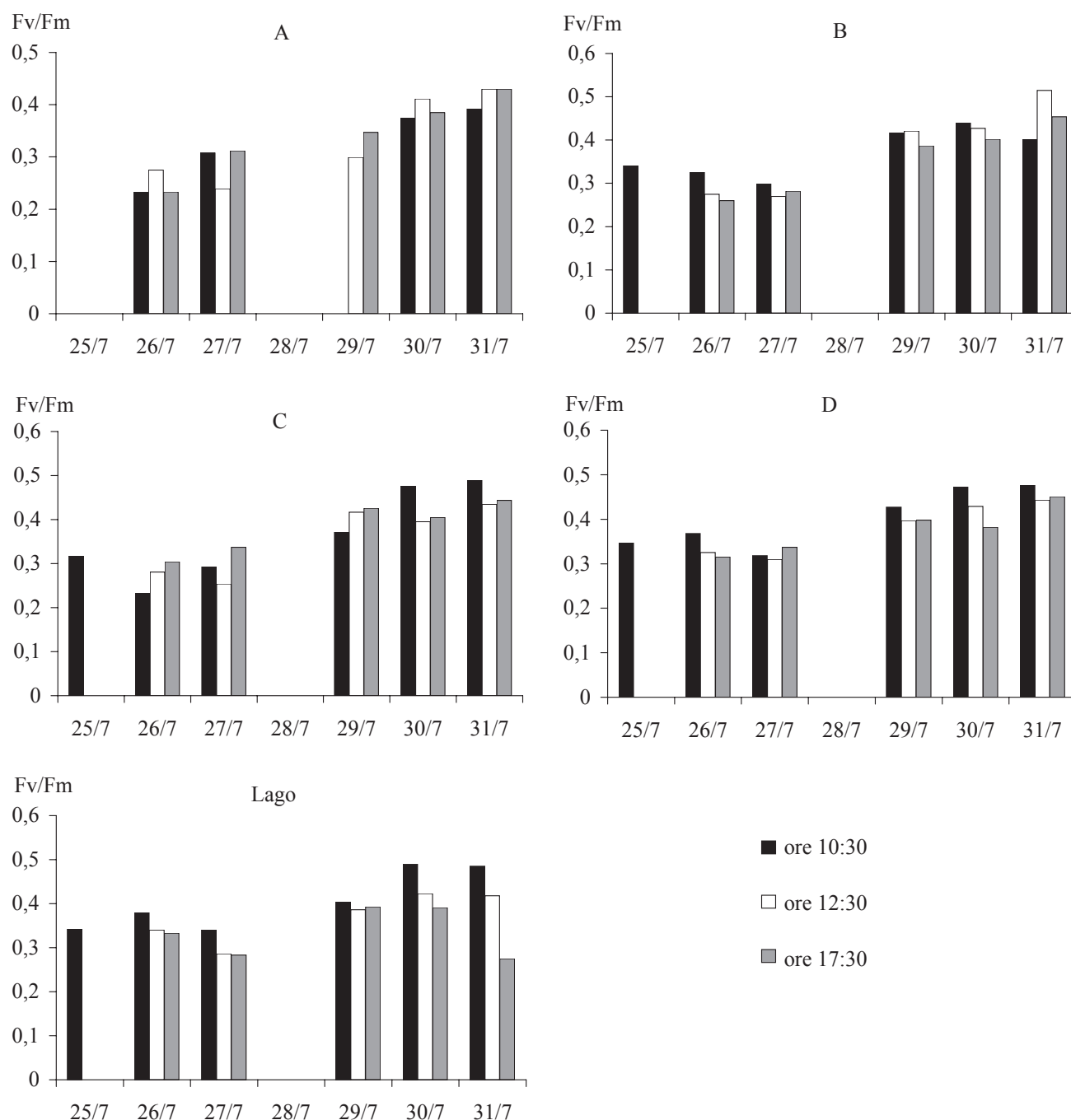


Fig. 6 - Andamento del rendimento quantico ottimale fotosintetico all'interno dei mesocosmi e nel lago.
 Fig. 6 - Trend of optimal photosynthetic quantum yield in the enclosures and in the lake.

ficative differenze di F_v/F_m tra i quattro mesocosmi e il lago, ma solo un progressivo aumento del valore di F_v/F_m con il passare dei giorni di campionamento.

Carbonio organico disciolto (DOC). I grafici in figura 7a mostrano i risultati delle misure di DOC effettuate nei quattro mesocosmi e all'esterno, nell'acqua del lago. L'andamento dei valori di DOC, nelle varie strutture e nel lago mostra una situazione piuttosto stabile nel periodo di tempo del campionamento. In figura 7b e 7c sono riportati i confronti

tra gli andamenti nel tempo del DOC e della fluorescenza eccitata a 355 nm, relativi al mesocosmo B e al lago. Gli andamenti mostrano un sostanziale accordo tra i dati DOC e quelli della $F_n(355)$; questo tipo di fluorescenza, denominata *humic like*, è ascrivibile alle sostanze umiche di origine terrestre come la lignina, per cui questi dati suggeriscono che il carbonio organico presente è principalmente di origine naturale terrestre piuttosto che legato ad apporti antropogenici.

Irraggiamento con UVB di Gs in acquarietti.
L'analisi della clorofilla relativa alla prova d'irraggiamento con UVB in acquarietti di aloni contenenti Gs (Fig. 8) mostra un crollo iniziale del valore di clorofilla all'interno dell'acquarietto mantenuto a 10 cm di distanza dalla fonte luminosa; nei tem-

pi di controllo successivi, i valori di clorofilla dei tre acquarietti si uniformano intorno a $50 \mu\text{g l}^{-1}$. L'andamento dell'indice dei carotenoidi e dei pigmenti è in continua diminuzione per il controllo e si mantiene invece costante per gli acquarietti irraggiati con UV.

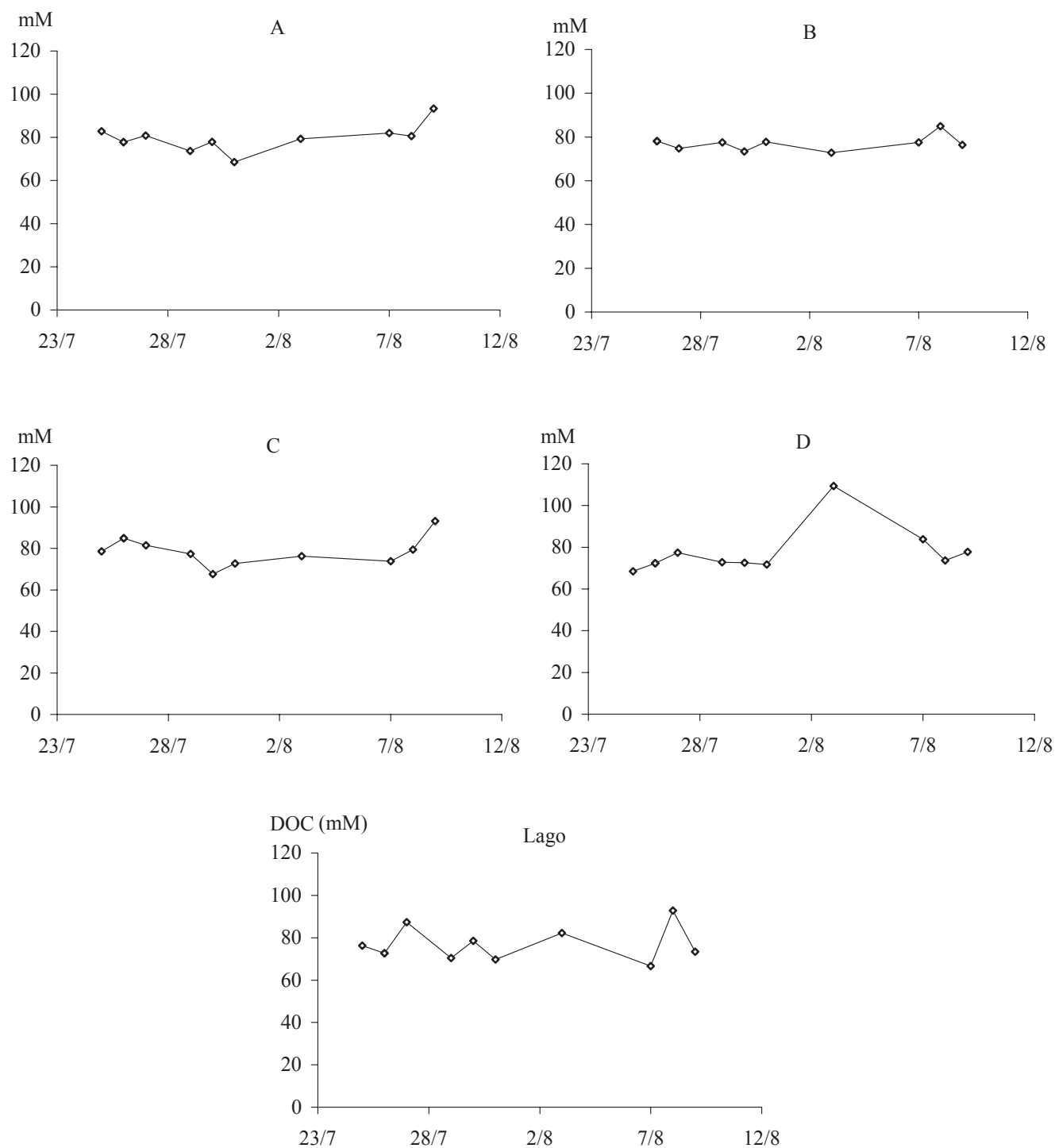


Fig. 7a - Andamento delle concentrazioni di DOC all'interno dei mesocosmi e nel lago.

Fig. 7a - Trend of DOC concentrations in the enclosures and in the lake.

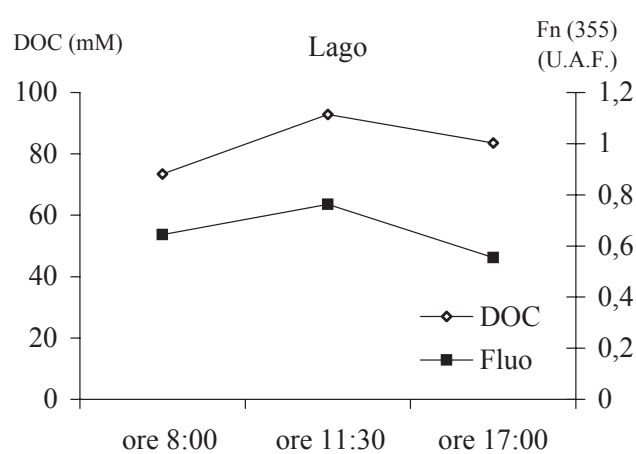
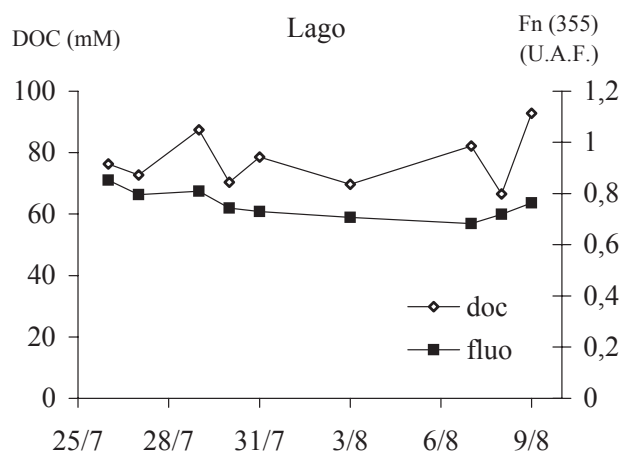
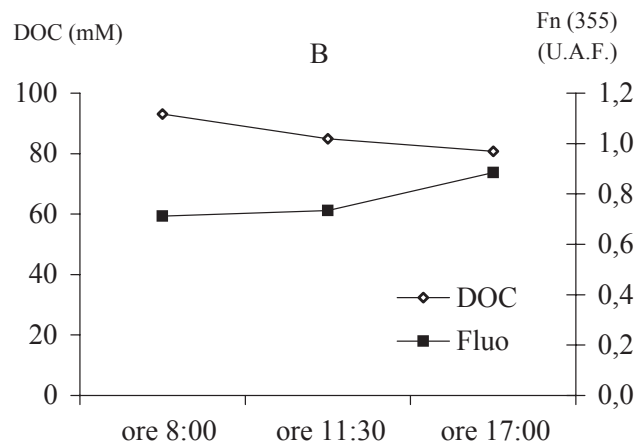
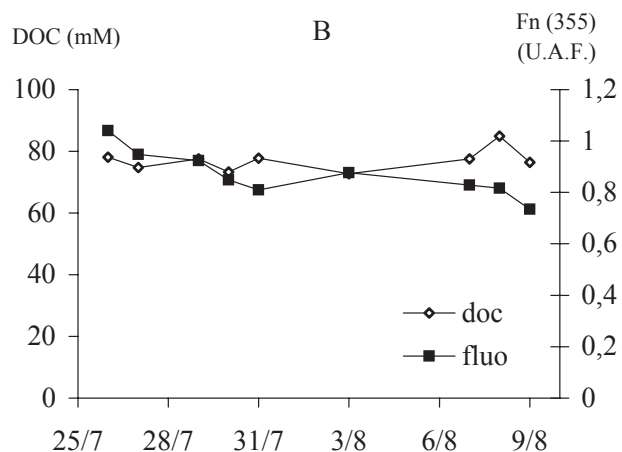


Fig. 7b - Andamento della fluorescenza dei campioni prelevati dal mesocosmo B e dal lago, confrontato con quello della concentrazione di DOC.

Fig. 7b - Fluorescence trends of samples collected in enclosure B and in the lake, compared with that of DOC concentration.

Fig. 7c - Andamento della fluorescenza dei campioni prelevati dal mesocosmo B e dal lago nell'arco di una giornata, confrontato con quello della concentrazione di DOC.

Fig. 7c - Fluorescence trend during a day of samples collected in enclosure B and in the lake, compared with that of DOC concentrations.

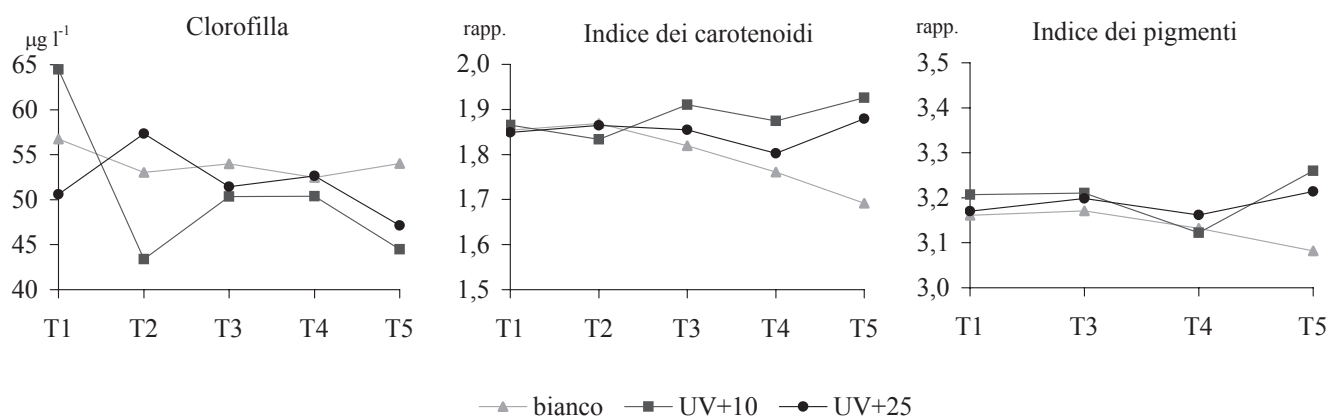


Fig. 8 - Andamento della clorofilla, degli indici dei carotenoidi e dei pigmenti all'interno degli acquarietti contenenti alte densità di Gs sottoposte a illuminazione con lampade "fluora" e UV.

Fig. 8 - Chlorophyll density, carotenoids and pigments indices in the small aquaria containing high densities of Gs irradiated with "fluora" and UV lamps.

4.3. Annata 2003

Si è potuta descrivere nel tubo di plexiglass un'evidente migrazione verticale del dinoflagellato dove sono stati eliminati effetti di disturbo come movimenti dell'acqua, vento ecc.; questa situazione si manifesta con movimenti verso la superficie, indotta da fototassi positiva, nelle prime ore della mattina e con movimenti verso il fondo, per geotassi negativa, nel corso della notte (Tardio *et al.* 2005).

Predazione dello zooplancton. La rete da zooplancton nel mesocosmo C ha effettivamente provocato l'abbattimento dello zooplancton predatore e conseguentemente della predazione sul fitoplancton; quest'ultimo ha mostrato una discreta proliferazione

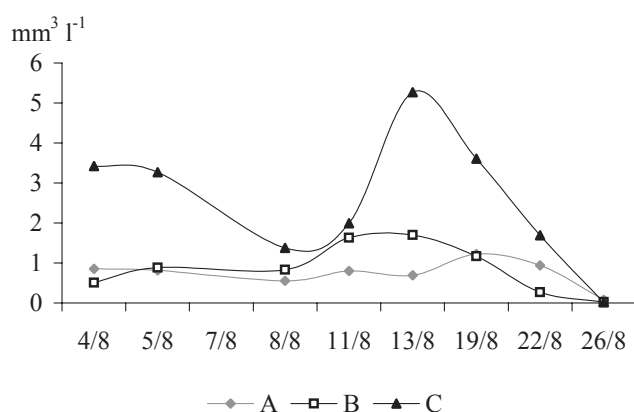


Fig. 9 - Andamento dei biovolumi totali del fitoplancton all'interno dei cilindri durante l'estate 2003.

Fig. 9 - Total biovolumes of the phytoplankton in the cylinders during summer 2003.

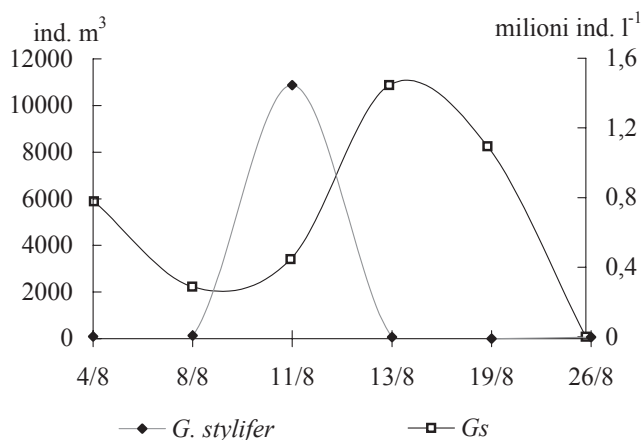


Fig. 10 - Variazioni nelle densità di *Gs* e *Gastropus stylifer* all'interno del cilindro provvisto di rete da zooplancton (C).

Fig. 10 - Preda-predator changes in the densities of *Gs* (prey) and *Gastropus stylifer* (predator) in the cylinder with zooplancton net (C).

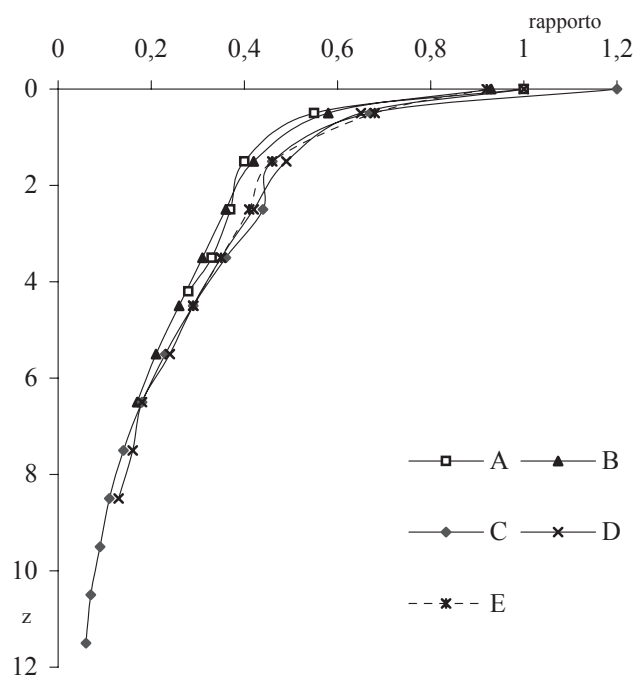


Fig. 11 - Rapporto di estinzione della luce alle diverse profondità nei cinque punti del transecto (A, B, C, D, E).

Fig. 11 - Light extinction ratio at different depths in the 5 points of the transect (A, B, C, D, E).

(Fig. 9), in particolare *Gs* che in un secondo momento ha anche esibito un interessante rapporto predatore-predatore con il rotifero *Gastropus stylifer* Imhof (Fig. 10).

Profilo di estinzione della luce lungo un transecto orizzontale. Lungo i diversi punti del transecto orizzontale raffigurato in figura 11, l'estinzione della luce alle diverse profondità ha un andamento differente: nei punti A e B (più prossimi alla strada), da 0,5 a 4 m di profondità, il rapporto tra la luce misurata in acqua e quella in aria è leggermente inferiore per la presenza di maggior torbidità.

Prove d'irraggiamento con UV. Le prove d'irraggiamento con UV delle capsule Petri contenenti aloni dell'8 e dell'11 agosto non hanno dato risultati degni di nota.

La prova d'irraggiamento della colonna di plexiglass del 14 agosto ha dato i seguenti risultati: in zona 4 molte cellule, vive meno del 2%; in zona 3 molte cellule, vive meno del 2%; in zona 2 circa il 20% di cellule vive; in zona 1 buon addensamento, circa 50% di cellule vive.

Migrazione orizzontale. Il 4 e il 5 settembre è stata fatta una prova d'immissione di elevate densità di *Gs* trattati con colorante vitale lungo la linea R di figura 3. Il 4 settembre l'immissione è avvenuta alle ore 12 solari (Tab. 3); il prelievo delle 13.30 ha manifestato la presenza del dinoflagellato in maniera maggiore

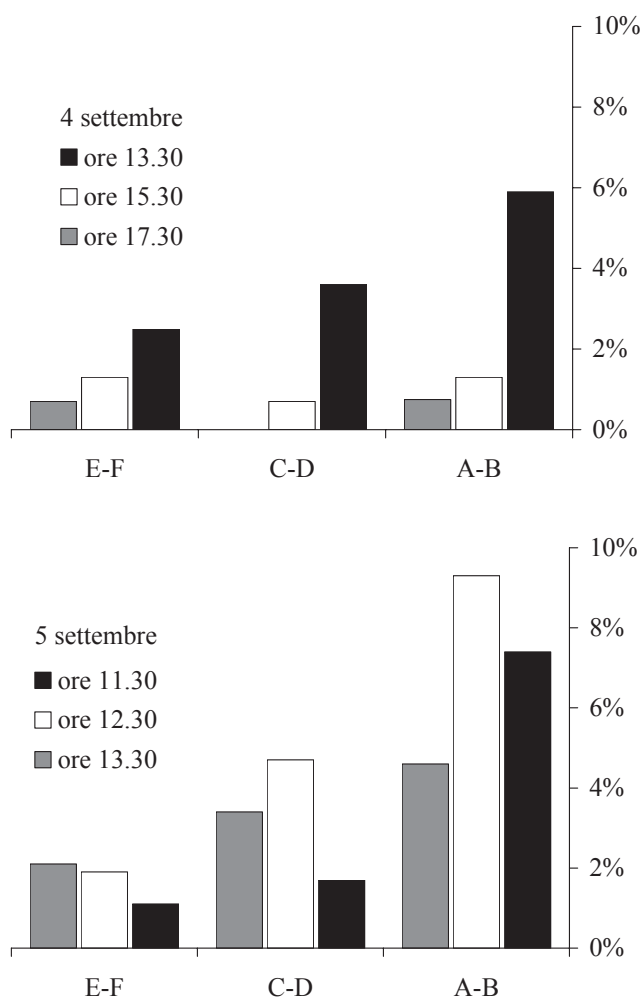


Fig. 12 - Percentuale di *Gs* colorati ritrovati nelle diverse zone di campionamento alle diverse ore del giorno in seguito all'immissione (prove del 4 e del 5 settembre).

Fig. 12 - Percentage of marked *Gs* recovered in the sampling transect at different times of the day after releasing (4th and 5th September experiments).

lungo il transetto A-B (Fig. 12). Successivamente (ore 15.30 e 17.30 solari), i glenodini rossi sono quasi completamente scomparsi. Il 5 settembre la prova è stata ripetuta con immissione di *Gs* rossi alle ore 10.30 solari (Tab. 3): dopo un'ora la maggior parte dei glenodini si manteneva nella zona A-B più prossima al punto di rilascio; dopo 2 ore la situazione rimaneva la stessa e dopo 3 ore si registrava un calo di concentrazione di marcati anche nella prima zona senza un aumento nelle altre zone (Fig. 12).

5. DISCUSSIONE

Le ricerche svolte in diverse tipologie di mesocosmi durante le tre annate del progetto SALTO-WP6

(2001-2003) hanno permesso di ottenere risultati originali sul fitoplancton del Lago di Tovel e in particolare su *Gs* (questi ultimi riferibili a *Baldinia anauniensis* gen. inedit. sp. inedit.); è stato possibile verificare diversi fattori biotici e abiotici che condizionano la proliferazione di *Gs*. Il primo elemento limitante la proliferazione del fitoplancton del Lago di Tovel risulta essere il fosforo; inoltre, *Gs* per proliferare e divenire dominante sul resto del popolamento fitoplanctonico necessita di condizioni di elevato irraggiamento (Cantonati *et al.* 2003). L'azoto diventa un fattore limitante solo in condizioni forzate dall'aggiunta di fosforo. Durante il periodo estivo *Gs* compete per le risorse con altre flagellate (Tardio *et al.* 2003) e con la diatomea *Fragilaria tenera* (Spitale *et al.* 2004); queste alghe sono tutte dotate di peculiari caratteristiche ecologiche. Le condizioni ambientali (in particolare l'irraggiamento, la temperatura e la disponibilità di fosforo) presenti durante l'estate determinano la o le specie algali che, adattandosi meglio, dominano il popolamento fitoplanctonico.

Ulteriori studi sull'ecofisiologia di *Gs* hanno permesso di approfondire la spiccata capacità dell'alga di compiere migrazioni verticali giornaliere (Tardio *et al.* 2005). È stato possibile verificare che il movimento dal fondo verso la superficie, che avviene durante le prime ore del mattino, è determinato da fototattismo positivo; invece, quello dalla superficie verso gli strati profondi sembra provocato da geotassi positiva.

Lo studio sull'effetto della predazione dello zooplancton sul fitoplancton di Tovel e in particolare su *Gs* permette di formulare le seguenti considerazioni:

- l'iniziale, parziale abbattimento dello zooplancton nel mesocosmo C ha favorito lo sviluppo del fitoplancton e in particolare di *Gs*;
- *Gs* ha subito un calo in seguito alla forte proliferazione del rotifero *Gastropus stylifer*. Tale fenomeno presenta analogie con lo "stadio ad acqua limpida" caratteristico di laghi meso-eutrofici e corrispondente a un minimo di biomassa del fitoplancton a metà del periodo vegetativo più o meno coincidente con un picco di densità zooplanctonica;
- *Gastropus stylifer* ha presentato una forte proliferazione in una struttura e in un momento in cui era scarsa la competizione con altri zooplanctonti e alta la disponibilità di *Gs*.

I valori di efficienza fotosintetica sono molto più bassi (intorno a 0,4-0,5) dei tipici valori che troviamo durante le misure condotte in laboratorio (i valori di F_v/F_m sono infatti intorno a 0,7 in assenza di stress), ma sono paragonabili a studi condotti in natura (Häder *et al.* 2004).

L'andamento del carbonio organico disciolto nel Lago di Tovel segue un processo naturale senza apporti significativi dall'esterno. Facendo un confronto con altri valori di DOC misurati in ambienti d'acqua dolce e marini, si nota che quelli del Lago di Tovel sono molto vicini a quelli misurati nelle acque superficiali marine sia costiere che al largo (80-100 μM) (Vignudelli *et al.* 2004); inoltre i dati sono confrontabili con i valori di DOC riferiti ad acque dolci di ambienti oligotrofici (vedi Kwangsoon *et al.* 2001).

Gli andamenti nel tempo della fluorescenza di tipo umico, essendo in buona correlazione con i dati di DOC, confermano l'assenza di sorgenti esterne di DOC.

Gli esperimenti d'irraggiamento di alte concentrazioni di *Gs* "forma verde *sensu* Baldi", ispirati dalle condizioni necessarie alla clorofita unicellulare *Haematococcus pluvialis* per accumulare nelle cisti alte concentrazioni di astaxantina (per esempio Boussiba & Vonshak 1991), non hanno mai provocato variazioni di colore; tale risultato è in accordo con la recente scoperta che ha mostrato che le due forme *sensu* Baldi sono in realtà specie distinte (Flaim *et al.* 2004).

Allo scopo di verificare gli effetti del dilavamento delle rive (specialmente quella nei pressi della strada) sul popolamento fitoplanctonico del lago è stata effettuata una misura del profilo di estinzione della luce lungo un transetto orizzontale il giorno seguente un episodio di pioggia. Tale analisi ha mostrato che, nella zona più prossima alla strada, la torbidità dell'acqua è maggiore.

Le evidenze relative a movimenti orizzontali non sono conclusive, ma sembrano suggerire che il vento abbia la capacità di trasportare i *Gs* degli strati d'acqua superficiali verso la Baia Rossa; tale osservazione è in accordo con le misure idrodinamiche effettuate con *drifter* dai ricercatori di Ingegneria Ambientale dell'Università di Trento (SALTO-WP4) e non necessariamente in contrasto con le osservazioni dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige (SALTO-WP3) suggerenti che, nel periodo dell'arrossamento, la massiccia proliferazione di *Gs* sia concentrata all'interno della Baia Rossa.

RINGRAZIAMENTI

Il presente studio fa parte della ricerca SALTO (Studio sul mancato Arrossamento del Lago di TOvel) finanziata dalla Provincia Autonoma di Trento.

Si ringraziano vivamente tutti i collaboratori della Sezione di Limnologia e Algologia del Museo Tridentino di Scienze Naturali.

L'immissione e la rimozione dei cilindri e delle vasche nel periodo luglio-settembre delle tre annate sperimentali è avvenuto grazie alla preziosa collaborazione del Nucleo sommozzatori del Corpo permanente dei Vigili del Fuoco di Trento.

BIBLIOGRAFIA

- Boussiba S. & Vonshak A., 1991 - Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Cell Physiol.*, 32: 1077-1082.
- Cantonati M., Tardio M., Tolotti M. & Boscaini A., 2002 - Caratteristiche di mesocosmi utilizzati per lo studio del fitoplancton. Atti XV Convegno Nazionale del Gruppo d'Ecologia di Base "G. Gadio". *Studi Trent. Sci. Nat., Acta Biol.*, 78/1 (2001): 167-172.
- Cantonati M., Tardio M., Tolotti M. & Corradini F., 2003 - Blooms of the dinoflagellate *Glenodinium sanguineum* obtained during enclosure experiments in Lake Tovel (N. Italy). *J. Limnol.*, 62/1: 79-87.
- Flaim G., Hansen G., Moestrup Ø., Corradini F. & Borghi B., 2004 - Reinterpretation of the dinoflagellate *Glenodinium sanguineum* in the reddening of Lake Tovel, Italian Alps. *Phycologia*, 43: 737-743.
- Grünewald K. & Hagen C., 2001 - β -carotene is the intermediate exported from the chloroplast during accumulation of secondary carotenoids in *Haematococcus pluvialis*. *J. Appl. Phycol.*, 13: 89-93.
- Häder D-P., Lebert M. & Helbling E.W., 2004 - Variable fluorescence parameters in the filamentous Patagonian rhodophytes, *Callithamnion gaudichaudii* and *Ceramium sp.* under solar radiation. *Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 73/1-2: 87-99.
- Hagen C., Grünewald K., Schmidt S. & Müller J., 2000 - Accumulation of secondary carotenoids in flagellates of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) is accompanied by an increase in per unit chlorophyll productivity of photosynthesis. *Eur. J. Phycol.*, 35: 75-82.
- Hellblom F. & Björk M., 1999 - Photosynthetic responses in *Zostera marina* to decreasing salinity, inorganic carbon content and osmolality. *Aquat. Bot.*, 65: 97-104.
- IRSA - CNR, 1994 - Metodi analitici per le acque. Istituto di Ricerca sulle Acque, Roma. Quaderni.
- Kamermans P., Hemminga M.A. & de Jong D.J., 1999 - Significance of salinity and silicon levels for growth of a formerly estuarine eelgrass (*Zostera marina*) populations (Lake Grevelingen, The Netherlands). *Mar. Biol.*, 133: 527-539.
- Karukstis K.K., 1991 - Chlorophyll fluorescence as a physiological probe of the photosynthetic apparatus. In: Sheer H. (ed.), *Chlorophylls*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kwangsoon C., Bomchul K. & Hee L.U., 2001 - Characteristics of Dissolved Organic Carbon in Three Layers of a Deep Reservoir, Lake Soyang, Korea. *International Review of Hydrobiology*, 86/1: 63-76.
- Lorenzen C.J., 1967 - Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 343-346.
- Lund J.W.G., Kipling G. & LeCren E.D., 1958 - The inverted microscope method for estimating algae number and statistical basis of estimating by counting. *Hydrobiologia*, 11: 143-170.

- Moestrup Ø., Hansen G., Daugbjerg N., Flaim G. & D'Andrea M., (2006) - Studies on woloszynskioid dinoflagellates II: On *Tovellia sanguinea* sp. nov., the dinoflagellate species responsible for the reddening of Lake Tovel, N. Italy. *Eur. J. Phycol.*, (in stampa).
- Olaizola M., 2000 - Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors. *J. Appl. Phycol.*, 12: 499-506.
- Ralph P.J., 1999 - Photosynthetic response of *Halophila ovalis* (R. Br.) Hook. f. to combined environmental stress. *Aquat. Bot.*, 65: 83-96.
- Ralph P.J. & Burchett M., 1995 - Photosynthetic responses of the seagrass *Halophila ovalis* (R. Br.) Hook f. to high irradiance stress using chlorophyll a fluorescence. *Aquat. Bot.*, 51: 55-66.
- Rott E., 1981 - Some results from phytoplankton counting intercalibrations. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 43: 34-62.
- Schreiber U., 1994 - New emitter-detector-cuvette assembly for measuring modulated chlorophyll fluorescence of highly diluted suspensions in conjunction with the standard PAM fluorometer. *Z. Naturforsch.*, 49c: 646-656.
- Schwarz A.M., Björk M., Buluda T., Mtolera M. & Beer S., 2000 - Photosynthetic utilization of carbon and light by two tropical seagrass species as measured in situ. *Mar. Biol.*, 137: 755-761.
- Seritti A., Morelli E., Nannicini L. & Del Vecchio R., 1994 - Production of hydrophobic organic matter by the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Chemosphere*, 28: 117-129.
- Spitale D., Cantonati M. & Tardio M., 2004 - Effetti sui popolamenti fitoplanctonici del Lago di Tovel (Trentino) di arricchimenti con macro- e micronutrienti in strutture confinate. *Studi Trent. Sci. Nat., Acta Biol.*, 80: 201-207.
- Spitale D., Tardio M. & Cantonati M., 2005 - Competition between a planktonic diatom and a dinoflagellate during enclosure experiments in a mountain lake. *Phycologia*, 44: 320-327.
- Tardio M., Tolotti M., Novarino G. & Cantonati M., 2003 - Ecological and taxonomic observations on the flagellate algae characterising four years of enclosure experiments in Lake Tovel (Southern Alps). *Hydrobiologia*, 502: 285-296.
- Tardio M., Spitale D. & Cantonati M., 2005 - Vertical migration of a dinoflagellate in a column-shaped enclosure in Lake Tovel (Adamello-Brenta Natural Park, Italian Alps). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 29: 143-146.
- Utermöhl H., 1958 - Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Internat. Verein. Limnol.*, 9: 1-39.
- Vignudelli S., Santinelli C., Murru E., Nannicini L. & Seritti A., 2004 - Distribution of dissolved organic carbon (DOC) and chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in coastal waters of the northern Tyrrhenian Sea (Italy) Estuarine. *Coast. Shelf Sci.*, 60: 133-149.

