

# **Report Finale della Borsa STM16** **Salvatore Mazzola**

## **Argentina**

### **Beneficiario**

Salvatore Mazzola, Ricercatore CNR;

### **Istituto di appartenenza**

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del CNR, Sede di Capo Granitola;

### **Istituzione ospitante**

Università di Mar del Plata (UMdP), Mar del Piata, Argentina;

### **Data e Durata della missione**

Dal 19 novembre 2016 al 10 dicembre 2016, 21 notti, 22 giorni, 499 ore

### **Premessa**

La borsa STM di cui all'oggetto della presente Nota è parte integrante ed è funzionale all'attuazione degli obbiettivi del MoU fra il CNR italiano ed il MINCyT argentino (siglato il 5 Maggio 2014 a Roma) che ha l'obbiettivo di "... istituire un Centro italo-argentino di Ricerca marittimo-oceanica (di seguito CAIMAR) in conformità delle leggi della Repubblica Argentina e della Repubblica italiana e del diritto internazionale applicabile in materia".

Il MoU nasce dal riconoscimento dell'importanza strategica della ricerca scientifica e tecnologica nell'area delle scienze marittimo-oceaniche e della necessità di perfezionamento e di integrazione delle risorse umane e scientifiche di entrambi i paesi impegnati in questo settore.

Lo sviluppo della conoscenza del mare, come definito dalla Direttiva quadro sulla "Strategia per l'ambiente marino" (DIR 2008/56/CE), è un pilastro della strategia europea per la ricerca, che trova una specifica declinazione nella direttiva Europa 2020, negli ambiti della ricerca (Horizon 2020) e dell'Innovazione (Innovation Union).

Nel settembre 2012 la Commissione ha adottato una *Comunicazione sulla crescita dell'economia del mare*<sup>1</sup>, con l'obiettivo di lanciare un'iniziativa congiunta con gli Stati membri, le Regioni e tutti i soggetti interessati per sbloccare il potenziale dell'economia del mare. Uno studio lanciato dalla Commissione nel 2010<sup>2</sup> ha analizzato la struttura dell'economia del mare ed i suoi colli di bottiglia comuni – la mancanza di competenze adeguate, l'accesso al capitale di rischio, i dati marini frammentati, le sfide ambientali e processi di pianificazione difficili –, e ha identificato cinque aree con potenziale grande di crescita – turismo marittimo e costiero, energia rinnovabile dell'oceano, risorse minerarie marine, acquacoltura, e la biotecnologia blu.

In questo quadro, il CAIMAR si propone di promuovere, sviluppare attività sia a livello nazionale e che internazionale, a partire dalla sua dimensione di aggregazione sistemica regionale tra Istituzioni della ricerca, Università e sistema delle Imprese, finalizzata a sollecitare la cooperazione e le sinergie in materia di Ricerca e Sviluppo, Innovazione e Accelerazione d'impresa, Diffusione della Cultura Scientifica e Formazione nelle Scienze e Tecnologie marine e marittime.

Il CAIMAR focalizzerà la sua azione sulle interrelazioni dinamiche tra risorse biologiche, apporti antropici, attività umane e richieste della società in relazione all'ambiente marino, con l'intento di contribuire allo sviluppo di una politica di gestione integrata delle zone costiere e dei mari, basata su una migliore conoscenza dei processi legati alla vita, ai rischi naturali e alle attività antropiche negli ambienti marini, acquisita attraverso lo sviluppo di nuovi saperi e tecnologie e la messa a punto di nuovi modelli sostenibili di intervento e sfruttamento sostenibile delle risorse.

L'obiettivo del Programma della visita proposta all'interno della iniziativa del CNR STM16 era duplice. Da una parte ci si prefiggeva di caratterizzare alcune componenti acustiche ambientali sottomarine focalizzando l'attenzione alle aree costiere e lagunari site nella provincia di Buenos Aires (WP1). Dall'altra parte ci si prefiggeva di dare un contributo alla creazione del Lab italo-argentino CAIMAR così come indicato nel MoU, sviluppando attività di collaborazione che possano accelerare la creazione del Lab italo- argentino CAIMAR (WP2).

## **Descrizione attività**

### **Work Package 1 - TASK 1**

Le attività in seno a questo WP sono state focalizzate sulla selezione di siti di studio nell'area costiera della provincia di Buenos Aires (in prossimità di Mar del Plata) in grado di ospitare una stazione che possa registrare, attraverso sistemi di acquisizione fissi e autonomi, le componenti acustiche ambientali. Nelle figure sottostanti sono mostrati i siti considerati per lo studio di fattibilità: Mundo Marino e Nagera. Entrambi questi siti sono posti in prossimità del mare, sono dotati di una infrastruttura in grado di assicurare alimentazione elettrica, un collegamento internet, e una postazione al riparo dagli agenti atmosferici.

---

<sup>1</sup> COM(2012) 494 final.

<sup>2</sup> *Blue Growth Study 'Scenarios and drivers for sustainable growth from the oceans, seas and coasts'*, ECORYS, 2012, <https://webgate.ec.europa.eu/maritimeforum/content/2946>.



Figura 1. I due siti di Nagera e Mundo Marino considerati per lo studio di fattibilità per la messa in opera di una stazione marina cablata per il monitoraggio acustico marino.

In particolare, la stazione marina di Nagera si trova a sud di Mar del Plata ed è un laboratorio marino dell'Università di Mar del Plata. Tale stazione marina si è individuata grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Biologia dell'Università di Mar del Plata. Per quanto riguarda invece la stazione a sud di Buenos Aires, si tratta di un complesso privato che ospita una serie di facilities per accogliere animali marini, tra cui differenti specie di delfinidi, foche e pinguini. Tale struttura collabora attivamente con l'Università di Mar del Plata e con il CONICET.

Questi siti potrebbero rappresentare dei punti di campionamento strategici dal punto di vista ecologico in quanto sono poco studiati e popolati da specie di notevole interesse che migrano nella direzione sud - nord (leoni marini, capodogli, balene, ecc., vedi il lavoro di Mandiola et al. 2015).

Il sistema di monitoraggio acustico cablato che abbiamo progettato consiste di tre parti principali (Figura 2): la sensoristica (idrofondi), il cavo di trasmissione dati e alimentazione, e la stazione a terra. Gli idrofondi potrebbero essere due, uno sensibile alle basse frequenze (da pochi Hz a circa 5 kHz) e l'altro alle alte frequenze (fino a 150 kHz). Gli idrofondi potrebbero essere digitali o connessi ad un box subacqueo dove il dato analogico viene digitalizzato e immagazzinato per un tempo limitato. Il box/idrofono digitale è quindi connesso tramite un cavo armato di 500 metri (o di 1500 metri) alla stazione di terra. Il cavo alimenta il box subacqueo e trasmette dati in due direzioni (verso terra i file acustici registrati, verso il box subacqueo per il controllo in remoto dell'acquisizione e dello storage).

Grazie a questo sistema di registrazione i dati verrebbero acquisiti in continuo e inviati alla stazione di terra. Un pc connesso alla rete internet è controllato in remoto (anche dall'Italia) e trasmette i dati ricevuti dal box subacqueo ai servers del laboratorio di Bioacustica a Capo Granitola, in Italia.

Questa infrastruttura permetterà il monitoraggio ad alta risoluzione e su una banda di frequenza ampia di tutte le attività sonore marine, sia di origine biologica (mammiferi marini,

pesci, crostacei) che di origine fisica (terremoti, onde e maree) e antropica (traffico marittimo).

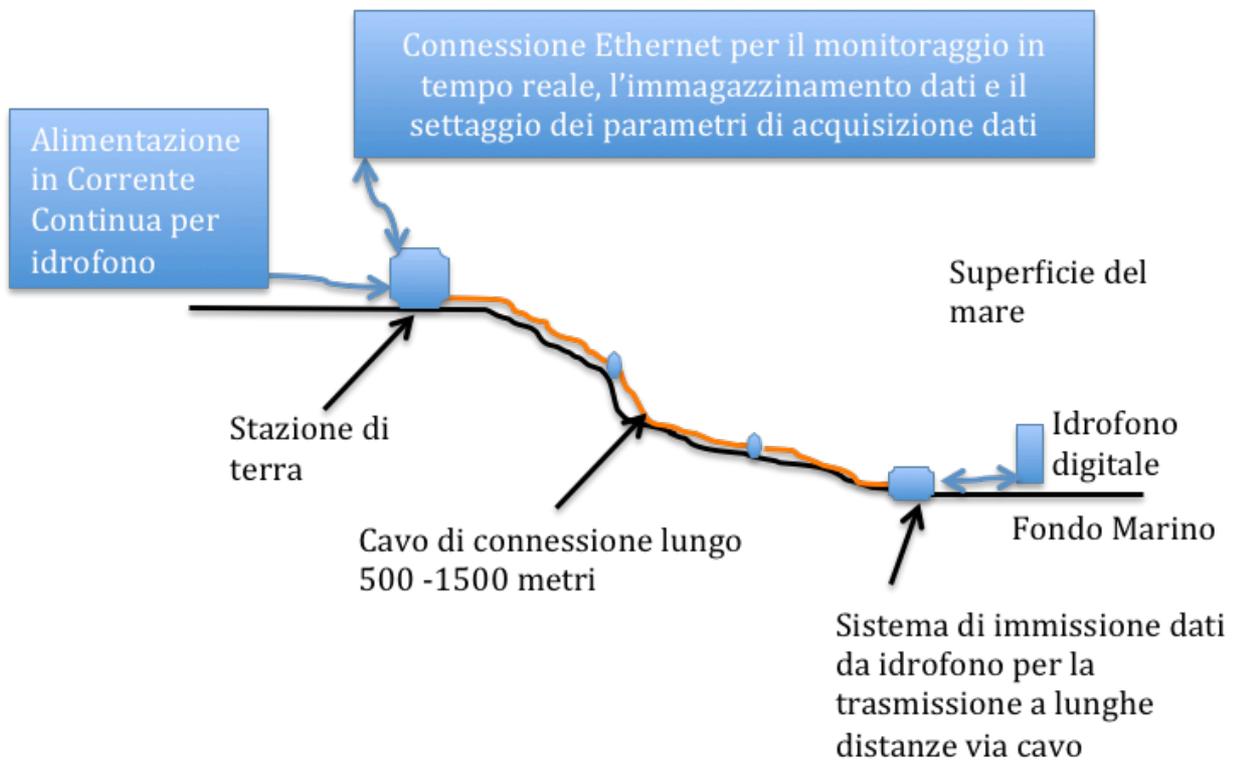


Figura 2. Schema di una stazione di monitoraggio marino acustico.

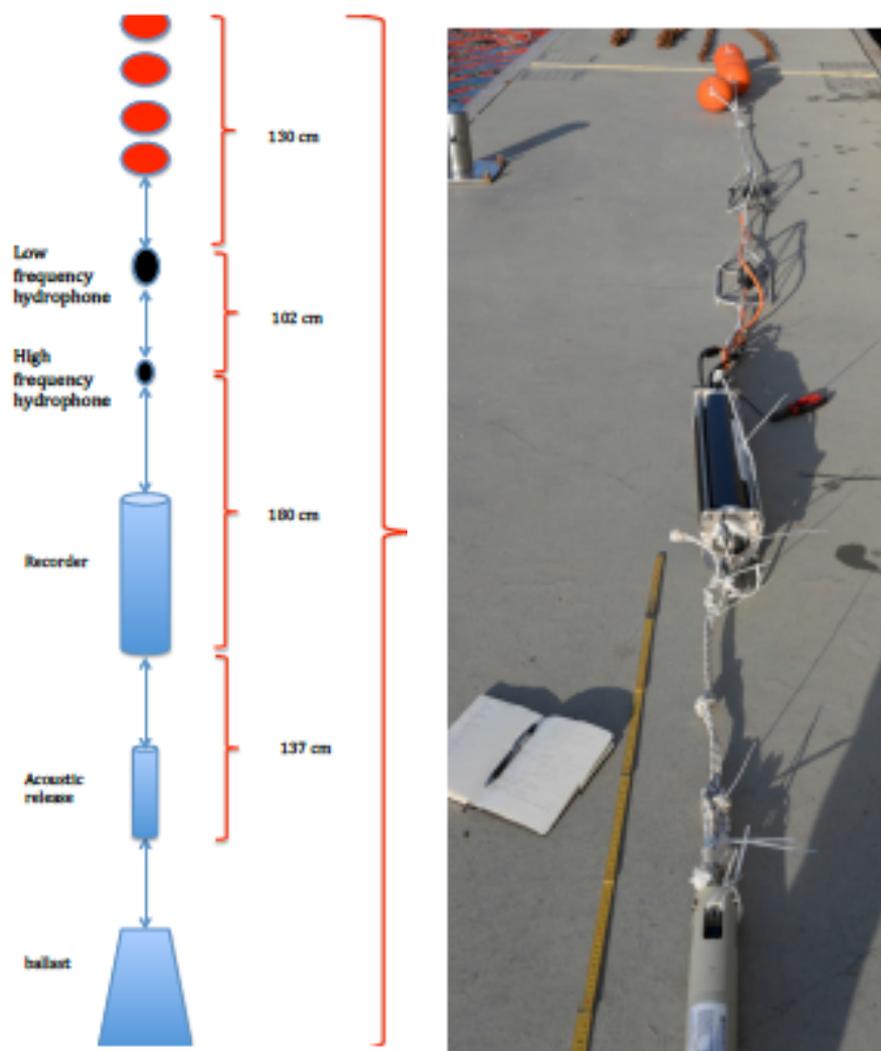


Figura 3. Esempio di una stazione marina di monitoraggio acustico nella sua parte finale (sensoristica e sganciatore acustico per il recupero senza l'ausilio di subacquei) (riferimento: Buscaino G. progetti EMSO-MedIt - PON R&C 2007-2013 - PAC Enhancement of public research infrastructuresprogetti KUAM - Arctic Field Grant SSF 2014, CALVINGSEIS Norwegian Research Council KLIMAFORSK program)

Analisi delle condizioni per l'istallazione nei due siti di interesse argentini:

la prima considerazione nella definizione delle caratteristiche che possono permettere l'istallazione di una stazione marina, oltre alla possibilità di avere una stazione di terra con alimentazione e connessione alla rete internet, è la possibilità di avere una profondità minima per cui l'influenza delle maree e delle onde rendono sicuro (anche per la navigazione) e non oltremodo rumoroso il sito. Tenendo conto delle maree (che possono arrivare fino a circa 2 metri in queste zone) e di una altezza del mooring che non dovrebbe superare i 10 metri (vedi figura 3) il limite di sicurezza è di circa 25 metri. Comunque, per evitare un rumore intenso causato dalle onde durante il mal tempo, si potrebbero considerare profondità maggiori (fino a 50 metri per il monitoraggio delle zone costiere).

Le Figure 4 e 5 mostrano un ipotesi di istallazione della stazione marina a circa 25 metri di profondità nel sito di Nagera e di Mundo Marino. Nel primo caso la stazione marina dovrebbe essere istallata ad una distanza di circa 6,5 km dalla costa, nel secondo caso la distanza è di oltre 95 km.

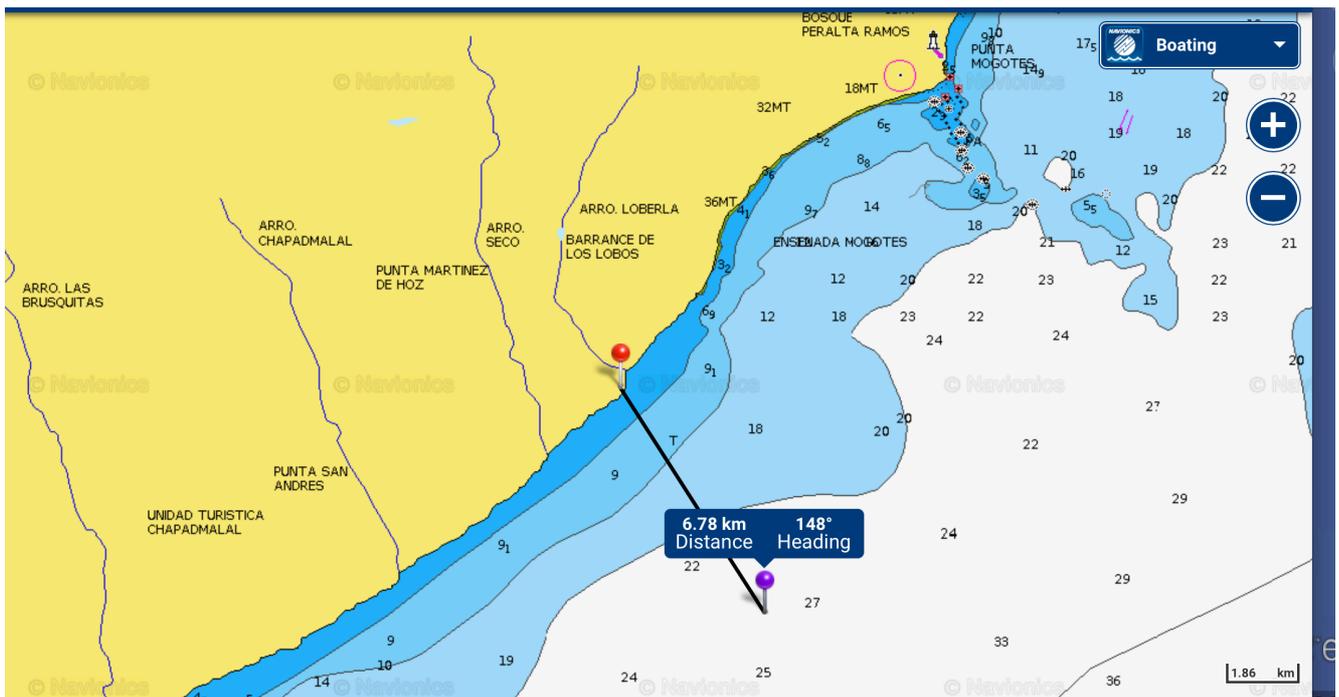


Figura 4. Ipotesi di installazione di una stazione marina cablata presso il laboratorio di Nagera con la distanza minima dalla linea di costa per permettere il posizionamento del sensore ad una profondità minima di circa 25 metri (vedi batimetrie).

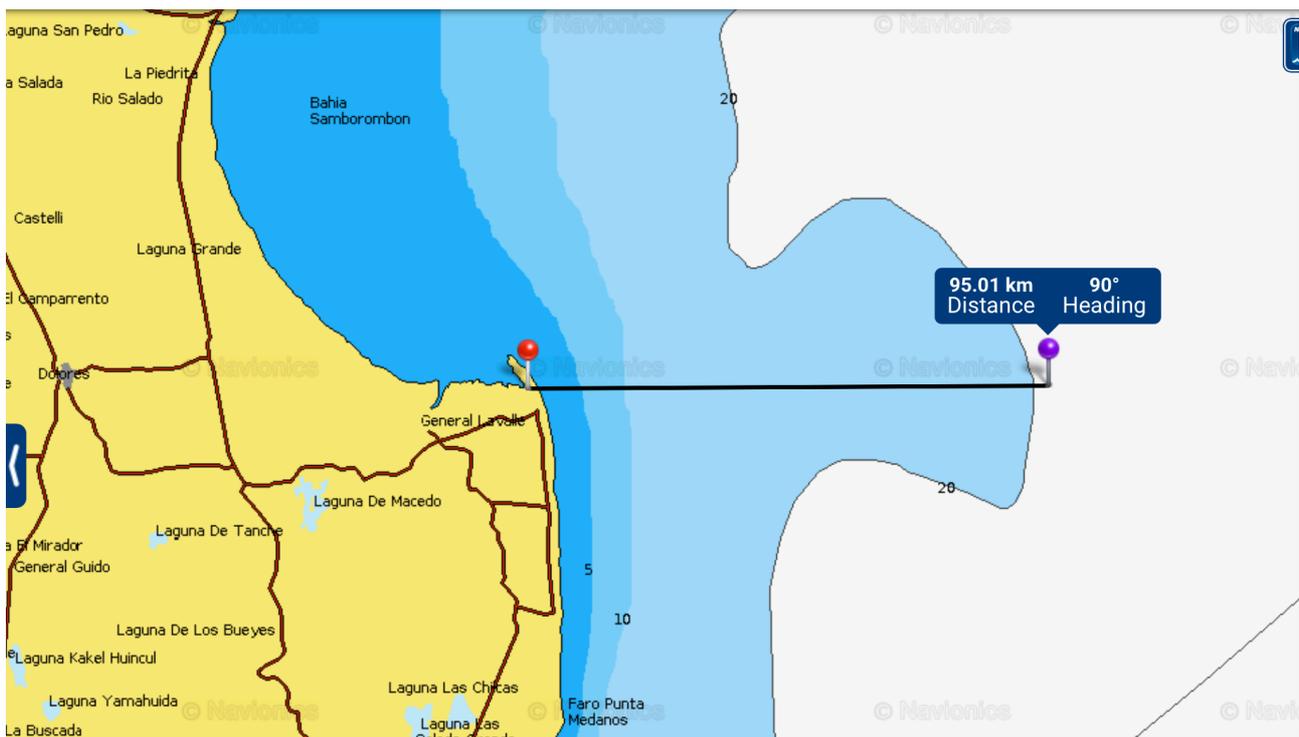
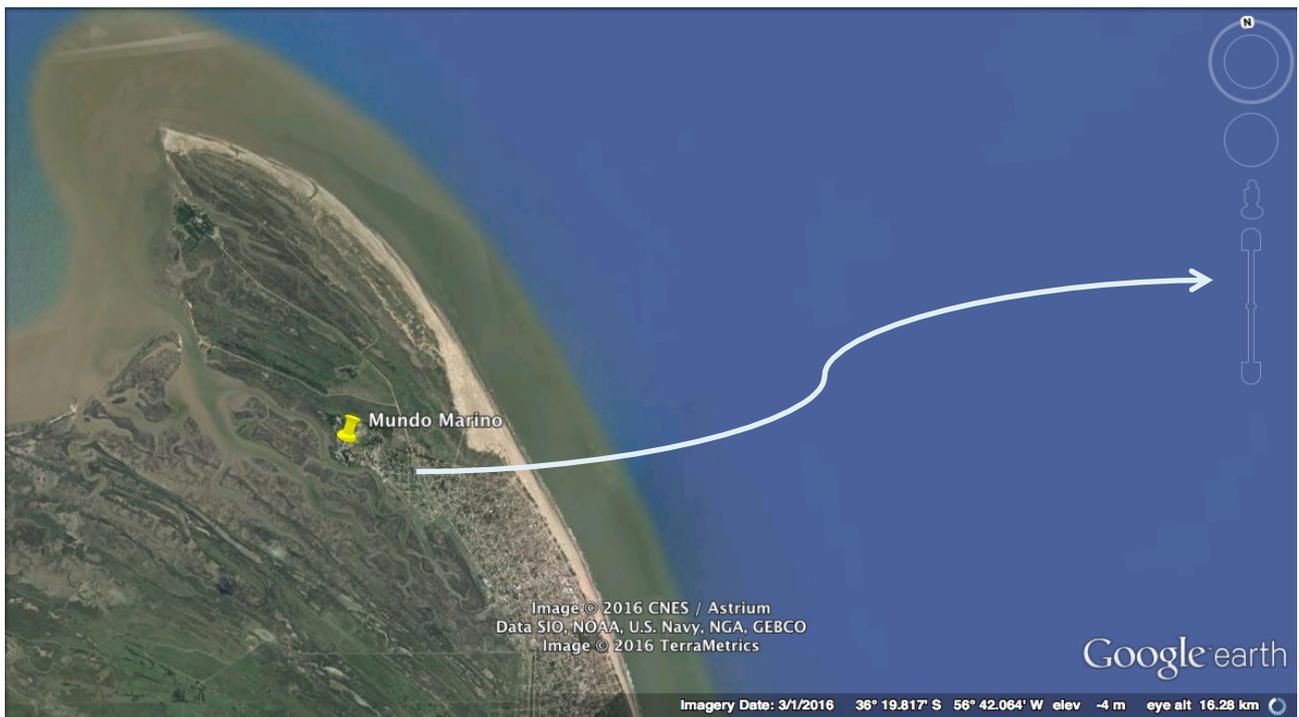


Figura 5. Ipotesi di installazione di una stazione marina cablata presso il Mundo Marino con la distanza minima dalla linea di costa per permettere il posizionamento del sensore ad una profondità minima di circa 25 metri (vedi batimetrie).

Se un'installazione a 6,5 km dalla costa può essere realizzata su con fondi relativamente modesti (circa 15 mila Euro), un'installazione con 100 km di cavo richiede una logistica e uno sforzo economico notevoli (dell'ordine di qualche milione di Euro).

Considerando i risultati di questo primo studio di fattibilità sarebbe auspicabile effettuare uno studio acustico preliminare dei due siti attraverso registratori autonomi marini. Questi registratori permetterebbero l'ottenimento di dati acustici in un periodo di tempo breve (giorni o pochi mesi in funzione della tipologia di registratore e dei protocolli di campionamento) e quindi uno studio preliminare del soundscape con tutte le sue componenti dei siti.

## **Work Package 1 - TASK 2**

All'interno di questo Task si sono sviluppate delle elaborazioni statistiche su dati provenienti da esperimenti in vasca (realizzati presso il Laboratorio di Biologia marina dell'UMdP) che hanno l'obiettivo di studiare il comportamento acustico di esemplari di *Neohelice granulata* (granchio che popola le aree costiere e lagunari a nord di Mar del Plata), vedi Annex 1. I risultati di questo lavoro hanno permesso la definizione del seguente articolo scientifico (e di un'avanzata bozza di esso):

*Characterization of the behaviour and acoustic signals emitted by the crab Neohelice granulata (Brachyura, Varunidae) in different social layout;*

Francesco Filiciotto<sup>1</sup>, María Paz Sal Moyano<sup>2</sup>, Valentina Corrias<sup>1</sup>, Fernando Hidalgo<sup>2</sup>, María Cielo Bazterrica<sup>2</sup>, Giuseppa Buscaino<sup>1</sup>, María Andrea Gavio<sup>2</sup>, Salvatore Mazzola<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>National Research Council – Institute for Coastal Marine Environment – Bioacoustics lab, Capo Granitola, Via del Mare 3, 91021 Torretta Granitola, Campobello di Mazara, TP, Italy;

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMdP-CONICET), Estación Costera J.J. Nágera, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional Mar del Plata, Funes 3350, 7600 Mar del Plata, Argentina;

da sottomettere a: "Journal of Experimental Biology and Ecology".

Un'altra attività all'interno del Task ha riguardato le analisi statistiche su dati provenienti da esperimenti in vasca realizzati presso il Laboratorio di Biologia dell'UMdP che hanno l'obiettivo di studiare gli effetti di segnali acustici antropogenici sul comportamento di esemplari di *Neohelice granulata* con la possibilità di valutare possibili marcatori di stress ambientali, vedi Annex 2. I risultati di questo lavoro hanno permesso la definizione del seguente articolo scientifico (e di un'avanzata bozza di esso):

*Effects of a lab-generated acoustic sweep on the mating behaviour and haemolymphatic parameters of the crab Neohelice granulata (Brachyura, Varunidae);*

Francesco Filiciotto<sup>1</sup>, María Paz Sal Moyano<sup>2</sup>, Fernando Hidalgo<sup>2</sup>, María Cielo Bazterrica<sup>2</sup>, Giuseppa Buscaino<sup>1</sup>, María Andrea Gavio<sup>2</sup>, Salvatore mazzola<sup>1</sup>;

<sup>1</sup>National Research Council – Institute for Coastal Marine Environment – Bioacoustics lab, Capo Granitola, Via del Mare 3, 91021 Torretta Granitola, Campobello di Mazara, TP, Italy;

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC, UNMdP-CONICET), Estación Costera J.J. Nágera, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional Mar del Plata, Funes 3350, 7600 Mar del Plata, Argentina;

da sottomettere a "Crustacean Journal".

## **Indici**

La realizzazione degli esperimenti e l'analisi dei dati relativi in vasca ha permesso di attivare una discussione sul futuro dell'acustica passiva all'interno della collaborazione italo-argentina sul mare, nel contesto CAIMAR.

Nello studio della comunicazione delle specie marine e degli effetti che su questa ha il rumore di origine antropica il passo successivo alla sperimentazione in ambiente controllato, è necessariamente quella nel loro ambiente naturale. Solo in condizioni naturali infatti le diverse specie riescono a mostrare i loro reali pattern comportamentali, reazioni ed adattamenti alla presenza dell'uomo.

Negli ultimi anni, grazie a sempre maggiori sviluppi tecnologici in termini di data storage e autonomia dei sistemi di acquisizione, si riescono a raccogliere quantità di dati acustici notevoli, che, se da un lato possono fornire moltissime informazioni, dall'altro necessitano di strategie diverse per l'elaborazione e l'analisi. Ad un approccio prettamente bioacustico per l'analisi dei dati, si è accostato quindi anche un approccio eco-acustico, che ha come obiettivo e scala di analisi lo studio delle comunità acustiche che caratterizzano un certo paesaggio acustico (o soundscape).

L'eco-acustica nasce negli studi in ambiente terrestre, il cui target primario, ma non solo, è lo studio delle comunità ornitiche. In quest'ottica sono stati adottati e adattati dall'ecologia classica indici sintetici per lo studio della biodiversità acustica e dei suoi trend temporali e spaziali. Sueur et al. (2008) ha ad esempio adattato l'indice di equi-ripartizione di Shannon, in un indice di entropia acustica (H), che cresce, al crescere della componente biofonica registrata. Altro indice largamente utilizzato è l'indice di complessità acustica (ACI) elaborato da Pieretti et al. (2010). In questo caso, l'algoritmo matematico alla base della computazione quantifica le variazioni di energia, e questo fa sì che l'indice abbia valori bassi in presenza di rumori continui (come quelli generati dall'uomo o da agenti fisici) e cresca in presenza di suoni modulati, come sono quelli biologici.

Negli ultimi anni questi indici sono stati adottati anche per l'analisi dei paesaggi acustici marini. Il loro utilizzo in ambienti acustici diversi ha portato a risultati contrastanti che necessitano di un adattamento degli indici in relazione ai tipi di segnali da voler individuare (Buscaino et al. 2016). In ambiente marino infatti i tipi di segnali presenti sono molteplici e con caratteristiche temporali e di distribuzione dell'energia nelle frequenze diverse. Inoltre in particolar modo in ambiente costiero, agenti fisici come onde, risacca e pioggia rendono lo studio della comunicazione animale estremamente complesso in quanto determinano un rumore di fondo estremamente variabile nel tempo e nello spazio.

In questo senso si programma di definire un nuovo indice che tenga conto della variabilità acustica in ambiente marino in grado di superare le difficoltà che sono emerse dall'applicazione di altri indici, così come discusso precedentemente.

## **Progetti di riferimento**

## Progetti già esistenti

Le attività svolte all'interno della Borsa STM16 sono strettamente collegate con il Progetto di Laboratorio congiunto italo-argentino: "CAIMAR Joint Laboratory (CJL)", Progetto recentemente approvato dal CNR.

Il Progetto CJL e le attività di questa Borsa possono essere considerate continuazione, come ricaduta del Progetto RECOMPRA (Reef ECOlogy and design of Marine PRotected Areas), completato l'anno scorso, finanziato dalla comunità europea all'interno del Programma Marie Curie Actions – International Fellowships, in particolare all'interno del "Deliverable D3.4: Specific studies on selected functional species/groups in the South Western Atlantic".

Progetto PICT di acustica marina passiva dell'UnMdP, finanziato dal MINCyT argentino all'Università di Mar del Plata nella primavera dell'anno scorso dove il Gruppo IAMC di Bioacustica, proponente del Progetto CAIMAR Joint Laboratory (CJL) è partner.

## Progetti già sottomessi e in preparazione

La missione in Argentina ha permesso di stimolare, promuovere e preparare due progetti congiunti fra istituzioni argentine ed italiane che poi sono state sottomesso nel contesto del Bando MAE "Progetti di grande rilevanza". Qui di seguito è dato lo schema generale dei due progetti:

Tematica: Scienze del Mare;

Titolo: Studi di bioacustica e applicazioni per lo sfruttamento sostenibile delle risorse marine (BOSS);

Titolo (in altra lingua): Estudios de Bioacústica y sus aplicaciones para la explotación sostenible de los recursos marinos (Studi di bioacustica e applicazioni per lo sfruttamento sostenibile delle risorse marine (BOSS)

Istituzioni coinvolte: Istituto per l'Ambiente marino Costiero (IAMC-CNR), per l'Italia e l'Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMC, del CONICET e dell'Università di mar del Plata).

Tematica: Scienze del Mare;

Titolo: Aspetti spaziali nelle reti trofiche marine. Combinazione di tecnologie finalizzate ad un approccio bio-energetico alla Conservazione (BioReTro);

Titolo (in altra lingua): Subsidio espacial en tramas tróficas marinas. Combinando tecnologías para lograr un enfoque bioenergético aplicado a la conservación (BioReTro);

Istituzioni coinvolte: Istituto per l'Ambiente marino Costiero (IAMC-CNR) per l'Italia e Cnetro del CONICET di Puerto Madryn.

La missione ha inoltre permesso di permettere di progettare e stimolare la preparazione di un secondo Progetto **RECOMPRA** all'interno del contesto "Marie Curie Actions People, International Research Staff Exchange". Si è concordato il mantenimento della stessa

partnership ma con una probabile integrazione e cambiamento negli obiettivi (verranno rafforzati gli aspetti di acustica marina). Un'altra modifica concordata consiste nel fatto che le Istituzioni argentine debbano diventare partner ufficiali e non subcontractor. Si pianifica inoltre di mantenere lo stesso coordinamento dell'Istituto spagnolo (UMU).

Si sono buttate inoltre per basi per Progetto **ERASMUS Plus** che prevede il coinvolgimento da parte argentina dell'Università di Mar del Plata e dell'Università Tecnologica Nazionale, da parte italiana l'Università di Palermo, l'università di Torino e l'Università di Milano "La Bicocca", il Politecnico di Torino, l'università di Vigo (Spagna), l'Università del Sud Pacifico ed altre Università che sono in fase di individuazione. L'obiettivo del Progetto è di promuovere lo scambio di studenti (appartenenti a corsi di laurea e dottorati) e di Docenti/Ricercatori e di potenziamento del Capitale umano sui temi della acustica applicata sia attiva che passiva, Energia dal mare e più in generale di Ecologia marina.

### **Corso di "Post-Grado" presso l'UTN di Puerto Madryn**

La missione ha permesso di progettare un corso di "Post-Grado", richiesto dall'università Tecnologica Nazionale della sede di Puerto Madryn. Il corso ha il titolo: "Soundscape in marine environment: theory and practice" e si terrà durante il mese di Maggio 2017 presso i locali della UTN di Puerto Madryn e sarà indirizzata a tutti gli studenti di "Post-Grado" della stessa università ma anche di altre.

### **Work Package 2 - TASK 1**

Le riunioni effettuate presso le sedi del MINCyT, CONICET, dell'UTN e dell'UMdP hanno avuto i seguenti esiti:

- 1) si è ritenuto importante l'approvazione da parte CNR del "CAIMAR Joint Laboratory" come primo passo operativo per il raggiungimento degli obiettivi del MoU siglato in forma congiunta dal CNR e dal MINCyT a Maggio 2014;
- 2) a seguito di questo da parte argentina viene deciso di espletare presto tutte le formalità che permetterebbero il completamento della proposta CJL per programmare così le attività per un triennio. In particolare si programma la firma congiunta di una convenzione specifica e la messa a disposizione di un analogo finanziamento da parte argentina che dovrebbe provenire dal Programma nazionale argentino "Pampa Azul";
- 3) si programmerà, sotto il coordinamento del CONICET e del MINCyT, la definizione, costituzione e Istituzionalizzazione del Lab Congiunto CAIMAR per rendere continui ed istituzionali le collaborazioni italo-argentine sulle Scienze e Tecnologie del Mare;
- 4) entreranno a fare parte del CJL alla fine del primo anno per la parte argentina l'UMdP e l'UTN. Per la parte italiana l'INFN e si sta valutando l'opportunità che anche altri Enti che hanno sviluppato attività in Argentina. Per l'ingresso di Enti privati operanti all'interno dei due paesi si prenderà una decisione durante un meeting apposito all'interno del kickoff meeting del Progetto CJL;
- 5) I ricercatori argentini coinvolti hanno ribadito, e comunicato ai vertici del MINCyT e del CONICET che per quanto riguarda le attività da sviluppare nel CJL, e più in generale

nelle iniziative inquadrabili per il raggiungimento degli obiettivi del MoU, che considerano le attività di Acustica applicata (sia attiva che passiva) strategiche per il paese e che va potenziato il capitale umano con esperienze e competenze in questo settore;

## **Work Package 2 - TASK 2**

Gli incontri e le riunioni avvenute fra i Gruppi di lavoro e i membri del CTS del MoU sopra menzionato hanno permesso di raggiungere i seguenti risultati:

- 1) si intende completare il lavoro iniziato fra tutti gli interessati alle attività della iniziativa CAIMAR, presso tutte le istituzioni coinvolte, per arrivare al Piano triennale previsto nel MoU in coincidenza del primo convegno CJL, previsto a Maggio 2017;
- 2) è necessario un coordinamento operativo per l'attuazione del MoU per la parte argentina. E' naturale e coerente che questo incarico sia svolto dal CONICET;
- 3) si concorda di definire una sede, una in Italia ed una in argentina. Per l'Italia si propone la sede di Capo Granitola dell'IAMC. Per l'Argentina viene proposta la sede di Mar del Plata del costituendo Istituto argentino inter-istituzionale sul Mare;
- 4) si è avuto modo di censire, fra i Gruppi di lavoro dei due paesi, due visioni da dare alla cooperazione argentina-italiana. Nella prima, tutte le attività sono finalizzate alla produzione di nuova conoscenza di base degli oceani e di nuove tecnologie per l'esplorazione di essi. Queste sono tipiche attività in cui i protagonisti delle attività sono le istituzioni scientifiche pubbliche, le Università e i Ricercatori dei due paesi; Nella seconda le Istituzioni ed i Ricercatori mettono a disposizione le proprie competenze e le proprie esperienze per lo sviluppo (non soltanto economico) di un Territorio, del proprio Paese. Questo obiettivo necessita di Gruppi di lavoro composti da Ricercatori, Rappresentanti delle amministrazioni, Imprenditori, ecc. Si è concordato che la qualità e la quantità di competenze necessarie, che sono presenti oggi nei due Paesi possano permettere di lavorare per entrambe le due visioni;
- 5) si concorda che la suddivisione dei ruoli fra le varie Istituzioni argentine interessate possa essere il seguente: Coordinamento di tutte le attività: CONICET; Scienze del Mare e Ricerca Marina: CONICET e Università di Mar del Plata; Tecnologie del mare e Ricerca Marittima: UTN ed altre in via di definizione;
- 6) si concorda che la suddivisione dei ruoli fra le varie Istituzioni italiane interessate possa essere il seguente: Coordinamento di tutte le attività: CNR; Scienze del Mare e Ricerca Marina: CNR, CUIA, CRUI; Tecnologie del mare e Ricerca Marittima: INFN, CLUSTER Mare, CNR ed altre in via di definizione;

## **Bibliografia essenziale**

Buscaino, G., Ceraulo, M., Pieretti, N., Corrias, V., Farina, A., Filiciotto, F., ... & Mazzola, S. (2016) Temporal patterns in the soundscape of the shallow waters of a Mediterranean marine protected area. *Scientific Reports* 6.

Mandiola, M. A., Giardino, G. V., Bastida, J., Rodríguez, D. H., & Bastida, R. O. (2015). Marine mammal occurrence in deep waters of the Brazil-Malvinas Confluence off Argentina during summer. *Mastozoología neotropical*, 22(2), 397-402. ISO 690

Pieretti N, Farina A, Morri D (2011) A new methodology to infer the singing activity of an avian community: The Acoustic Complexity Index (ACI). *Ecol Indic* 11:868–873.

Sueur J, Pavoine S, Hamerlynck O, Duvail S (2008) Rapid acoustic survey for biodiversity appraisal. *PloS One* 3:e4065.

### **Accordi di riferimento per la cooperazione argentina-italiana nelle Scienze e Tecnologie Marine e Marittime relativa alla proposta CAIMAR**

- L' Accordo di Cooperazione Scientifica tra il CNR (Consiglio Nazionale delle Ricerche e l'Università di Chilecito (UNDEC) a la La Rioja, firmato il 29 aprile 2013 tra il Presidente del CNR, Prof. Luigi Nicolais, e il Rettore dell'UNDEC, Prof. Norberto Caminoa, per la costituzione del Laboratorio di Altura a Famatina, 5200 metri sl/m, simile a quello che il CNR ha sull'Himalaia, La Piramide;
- "L'Accordo per la costituzione di un Centro di Sviluppo Regionale per le Risorse del Mare", siglato tra l'Istituto Ambiente Marino Costiero (IAMC) del CNR e la UTN (Università tecnologica Nazionale) il 10 luglio 2013, che sorgerà in Mar del Plata. L'obiettivo è realizzare ricerche in Oceanografia, sfruttare l'energia del Mare, migliorare la tecnologia delle imbarcazioni per la pesca focalizzandola sulla pesca del tonno e del pesce spada;
- L'Accordo di Cooperazione Scientifica e Tecnologica fra il Governo della Repubblica italiana e il Governo della Repubblica argentina firmato a Bologna il 3 Dicembre 1997 ed entrato in vigore il 13 Aprile 2001;
- L'Acuerdo Interinstitucional para la creacion de un centro de investigacion maritima y oceanica (CAIMAR), firmado el 5 del mes de mayo de 2014 por el Minisitro de Ciencia, Tecnologia y Innovacion, Lino Baranao e por el Presidente de el Consiglio Nazionale delle Ricerche, Luigi Nicolais;

### **Conclusioni**

Il soggiorno di studio ha permesso di rafforzare la cooperazione scientifica fra le comunità scientifiche di riferimento fra i due paesi a supporto del costituendo Lab congiunto itali-argentino CAIMAR che è sua volta innestato nel Programma Nazionale argentino sul Mare "Pampa Azu!" che è ritenuto prioritario per la nostra Ambasciata a Buenos Aires. Il rafforzamento è avvenuto sia sul piano tecnico-scientifico che sul piano politico.

## **Ringraziamenti**

Si ringrazia l'Ufficio Relazioni Europee ed Internazionali, e cioè il Direttore ed i colleghi operanti in questo Ufficio per la disponibilità e le cui esperienze, competenze, per la parte organizzativa ed amministrativa, hanno permesso la realizzazione della visita di Studio e il raggiungimento dei obiettivi. Se si sono raggiunti in questo lavoro risultati positivi lo si deve anche a loro e in questo senso i colleghi dell'Ufficio sono da considerare co-autori di qualsiasi tipo di risultato ottenuto con l'importante opportunità che mi è stata offerta attraverso la STM16.

Si ringrazia Alejandro Ceccatto, Presidente del CONICET, Alejandro Mentaberry Coordinatore del Programma "Pampa Azul" e Jose Kenny, Addetto scientifico presso l'Ambasciata italiana a Buenos Aires.

Si ringrazia inoltre Andrea Gavio e Diego Rodriguez dell'UMdP, Ana Parma e Silvia Blanc del CONICET, Francisco Galia dell'UTN ed Oscar Iribarne dell'UMdP.

Credo sia doveroso inoltre ringraziare Giuseppa Buscaino, Francesco Filiciotto del CNR e Maria Ceraulo dell'Università di Urbino.

In un mondo ormai popolato in maggioranza da "iene" credo che sia opportuno ricordare che da queste "uomini" non ho ricevuto soltanto un contributo ma anche un "sorriso".

## ANNEX 1

### Characterization of the behaviour and acoustic signals emitted by the crab *Neohelice granulata* (Brachyura, Varunidae) in different social layout

#### **Objectives of the study**

The objective of this study is to characterize the acoustic emissions of *Neohelice granulata*, characterize the behavioral bases of this specie and assess the role of the acoustic conspecific signals in reproductive contexts. In particular the behavioral events/states were evaluated because are fundamental in the reproduction dynamics and they are a reinforcing component to the sensory and/or chemical factors.

About the goal of the study, it was evaluated whether the conspecifics signals can influence behavioral parameters in coupling behaviors and pair formation. The valuations were estimated on singled or grouped specimens.

#### **Experimental procedure**

##### Collection and housing of the animals

This study was carried out at the Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. Specimens of burrowing crab (*Neohelice granulata*) were used. The crabs were captured along the coast of Argentina. After capture, the crabs were transferred to a PVC tank for an acclimation period.

##### **Experimental site**

The experimental trials took place in a tank. Both the holding and experimental tanks were equipped with an independent flow-through seawater system from a common source and salinity and temperature were monitored over the entire study period using a multiparametric probe.

The crabs were deprived of food for two days before the start of the trials. All the animals were kept under natural photoperiods. Prior to starting the trials, the specimens were gently moved from the housing tank to the test tank using a net.

A total of 7 experimental trials (3 with single specimens and 4 with grouped specimens) were

realized involving a total of 39 specimens.

Specifically, the tests were carried out by dividing the specimens as follows:

#### *Single Test*

- 1 male specimen (3 experimental replicates)
- 1 not receptive female specimen (3 experimental replicates)
- 1 receptive female specimen (3 experimental replicates)

#### *Group Test*

- 2 grouped specimens (male/receptive female) (3 experimental replicates)
- 2 grouped specimens (male/not receptive female) (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/receptive female) (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/not receptive female) (3 experimental replicates)

Over the period of acclimation of 30 min, the specimens were subjected to audio and video monitoring for a total of 1 hour with the aim to analyze the coupling and acoustic behavior.

### **Audio and video monitoring system and analysis**

The acoustic stimuli were acquired at 300 kilo-samples s<sup>-1</sup> at 16 bits and were analyzed by the Rx 5 software (iZotope, Massachusetts). It was used a calibrated hydrophone with a sensitivity of  $-205.6 \text{ dB re } 1 \text{ V}/\mu\text{Pa} \pm 4.0 \text{ dB}$  in the 0.1-Hz to 80-kHz frequency band. The hydrophone was used with a preamplifier with a 1-MHz bandwidth single-ended voltage that had a high-pass filter set at 10 Hz and a 32-dB gain. The equipment was connected to a digital acquisition card managed by the Avisoft Recorder USGH software (Avisoft Bioacoustics).

The video system was used to monitor the crabs' behavior and was synchronized with the system used to record the acoustic signals. Videos for behavioral monitoring were recorded with a dedicated camera with housing placed on top of the experimental tank. The camera was linked to a Personal Computer and the files were managed by Etho-Vision XT 9.0 software (Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands).

### **Preliminary Results**

#### *Signals Characterization*

The acoustics data observation permitted to characterize two principals acoustic emissions of this Varunidae crab family that is impulsive signals (Fig. 1) and signals resembling a Rasp (typical lobster's emission) (Fig. 2). Specifically, the first are characterized by a pulse train with a variable number of pulses (2-9) and very large bandwidth (2.5 – 140 kHz). The second one are emitted individually and are characterized by a minor bandwidth (2.5 – 30 kHz).

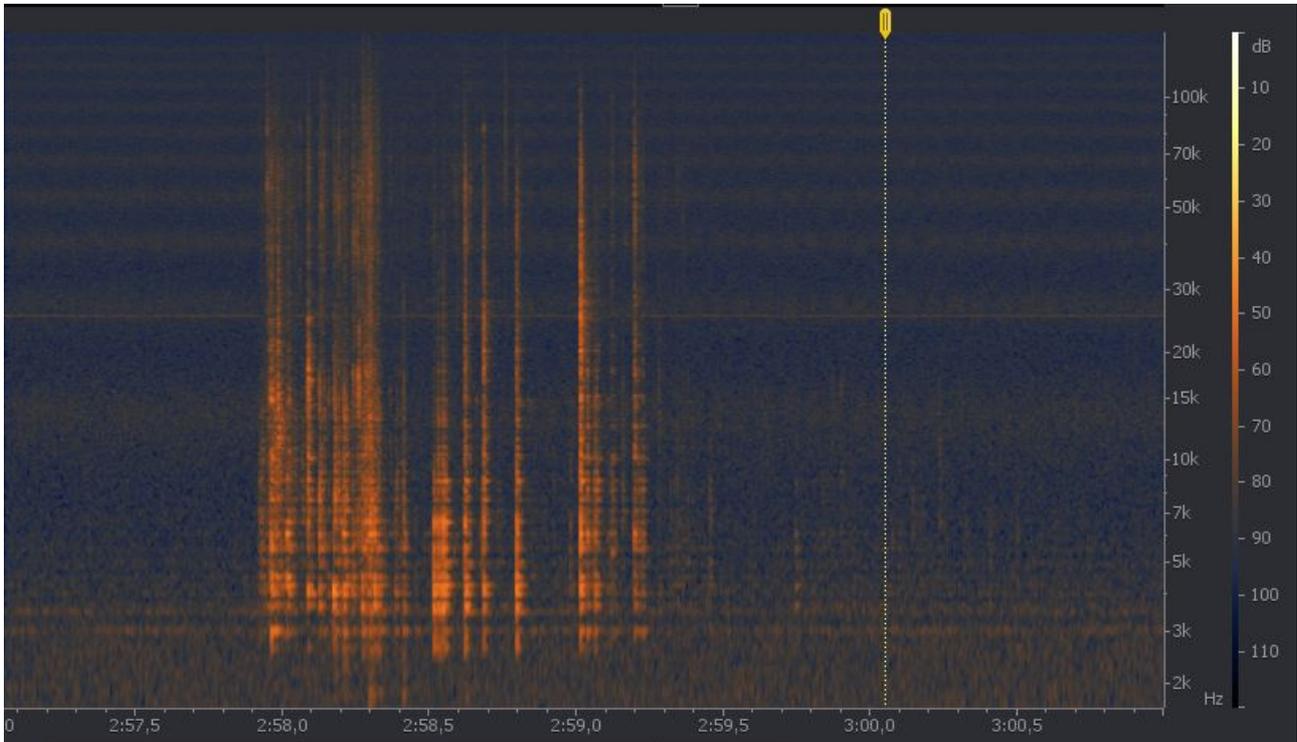


Figure 2. Characteristic train impulse emitted by *Neohelice granulata*

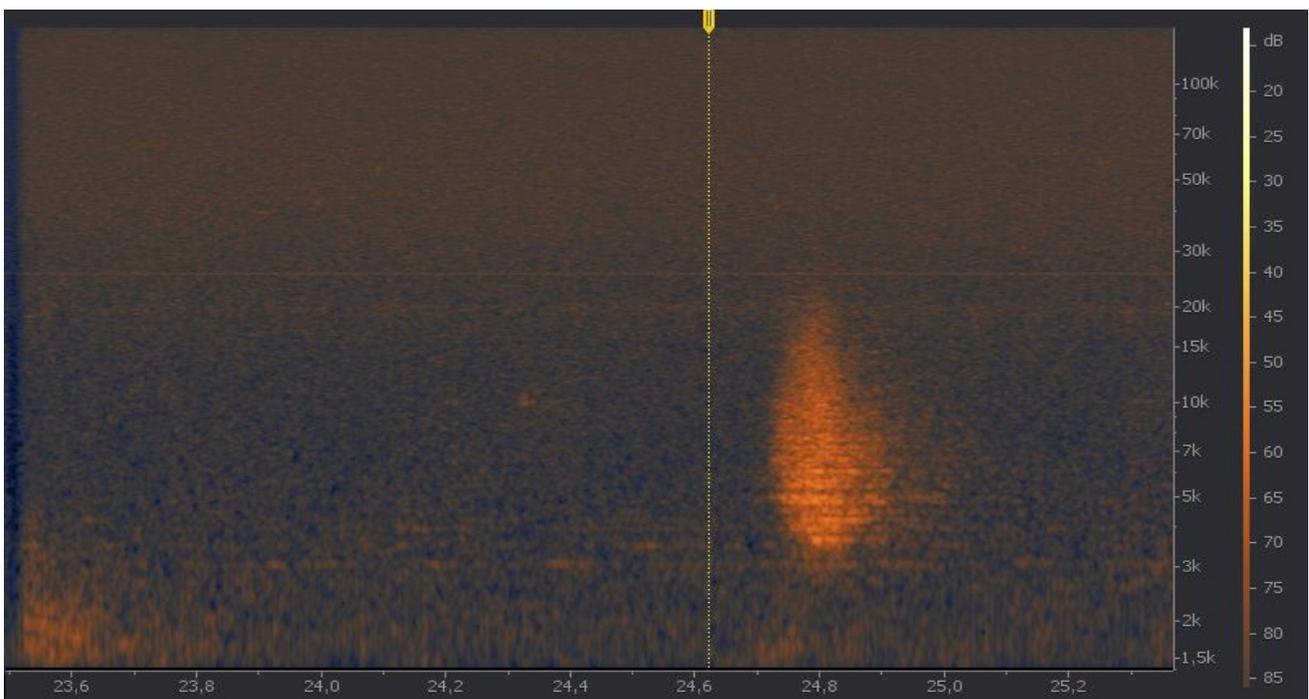


Figure 1. Characteristic rasp emitted by *Neohelice granulata*

### *Signals use in grouped trials*

The preliminary investigation led on the signals utilization among different grouped trials (male/male/receptive female; male/male/not receptive female; male/ receptive female; male/not receptive female) highlighted a significant increase in emissions within the trials characterized by the presence of 2 males and a receptive female.

### *Specimen's behaviour in individual trials*

The preliminary investigation led on behavioural parameters among individual trials (male; receptive female; not receptive female) highlighted heterogenic values among animals. Specifically, the values of distance moved (cm), mobility (s) and velocity (cm/s) resulted significantly greater in not receptive females with respect to receptive females and, likewise, the receptive female showed significant greater values with respect to males.

## ANNEX 2

### Effect of a lab-generated acoustic sweep on the mating behaviour and haemolymphatic parameters of the crab *Neohelice granulata* (Brachyura, Varunidae)

#### **Objectives of the study**

The objective of this study is to investigate the manner in which the sound of non-biological origin covering a wide frequency range (including that of the biological signals but also the principal anthropogenic noise sources) can influence the behavioral dynamics related to the processes of coupling, and whether it can be identified as a stress factor in the crab *Neohelice granulata*, by analysis of behaviour and hemolymphatic parameters. The valuations was investigated on singled or grouped specimens.

#### **Experimental procedure**

##### *Collection and housing of the animals*

This study was carried out at the Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. Specimens of burrowing crab (*Neohelice granulata*) were used. The crabs were captured along the coast of Argentina. After capture, the crabs were transferred to a PVC tank for an acclimation period.

##### *Experimental site*

The experimental trials took place in a tank. Both the holding and experimental tanks were equipped with an independent flow-through seawater system from a common source and salinity and temperature were monitored over the entire study period using a multiparametric probe.

The crabs were deprived of food for two days before the start of the trials. All the animals were kept under natural photo-periods. Prior to starting the trials, the specimens were gently moved from the housing tank to the test tank using a net.

After a 30 min habituation period, the trials were consisted of 30 min of sound exposure (Acoustic treatment) for the animals treated with the 'sweep tone'. Specifically, the sweep exposure consisted on the projection of lab generated linear impulse at a frequency range of

(0.1 – 5 kHz).

Moreover, trials without the exposition of any sound were carried out to represent the Control condition.

A total of 14 experimental trials (3 with single specimens and 4 with grouped specimens for acoustic treatment, and 3 with single specimens and 4 with grouped specimens for Control condition) were realized involving a total of 78 specimens.

Specifically, the tests were carried out by dividing the specimens as follows:

Acoustic treatment:

*Single Test*

- 1 male specimen 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)
- 1 not receptive female specimen 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)
- 1 receptive female specimen 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)

*Grouped Test*

- 2 grouped specimens (male/receptive female) 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)
- 2 grouped specimens (male/not receptive female) 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/not receptive female) 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/receptive female) 'Sweep Tone condition' (3 experimental replicates)

Control condition:

*Single Test*

- 1 male specimen 'Control condition' (3 experimental replicates)
- 1 not receptive female specimen 'Control condition' (3 experimental replicates)
- 1 receptive female specimen 'Control condition' (3 experimental replicates)

*Grouped Test*

- 2 grouped specimens (male/receptive female) 'Control condition' (3 experimental replicates)

- 2 grouped specimens (male/not receptive female) ‘Control condition’ (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/not receptive female) ‘Control condition’ (3 experimental replicates)
- 3 grouped specimens (male/male/receptive female) ‘Control condition’ (3 experimental replicates)

Over the period of acclimation, the specimens were subjected to audio and video monitoring for a total of 1 hour with the aim to analyze the coupling and acoustic behaviour.

Moreover, at the end of trials, the animals exposed to the ‘Sweep Tone condition’ and “Control condition” suffered the hemolymph sampling from the dorsal blood vessel that will allow the determination of stress-sensitive biomarkers levels selected.

#### *Projection of the acoustic stimuli, audio and video monitoring system and analysis*

A signal generator connected to underwater loudspeakers was used to project the linear sweep.

The acoustic stimuli were acquired at 300 kilo-samples s<sup>-1</sup> at 16 bits and were analyzed by the Rx 5 software (iZotope, Massachusetts). It was used a calibrated hydrophone with a sensitivity of -205.6 dB re 1 V/μPa ± 4.0 dB in the 0.1-Hz to 80-kHz frequency band. The hydrophone was used with a preamplifier with a 1-MHz bandwidth single-ended voltage that had a high-pass filter set at 10 Hz and a 32-dB gain. The equipment was connected to a digital acquisition card managed by the Avisoft Recorder USGH software (Avisoft Bioacoustics).

The video system was used to monitor the crabs’ behavior and was synchronized with the system used to record the acoustic signals. Videos for behavioral monitoring were recorded with a dedicated camera with housing placed on top of the experimental tank. The camera was linked to a Personal Computer and the files were managed by Etho-Vision XT 9.0 software (Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands).

#### *Animal haemolymph sampling*

Haemolymph was collected from each animal. The specimens were anaesthetized by placing them at -20°C for 10 minutes before the haemolymph was withdrawn from the dorsal blood vessel with a sterile glass Pasteur pipette. About 50μl of haemolymph from each animal was

collected in a sterile Eppendorf tube in the presence (v/v) of an anticoagulant solution. The haemolymph was centrifuged at 1000 g for 10 min at 4° C, and the plasma was obtained.

#### *Characterisation of Neohelice granulata haemocytes*

The total haemocyte count (THC) was performed to determine the total number of haemocytes per millilitre of crab haemolymph using a Neubauer haemocytometer chamber. Haemocytes were classified according to Li and Shields (2007) using the presence or absence of cytoplasmic granules as simple criteria.

#### *Glucose and Lactate level in the haemolymph*

Haemolymph glucose and lactate were determined by using an assay kit (Sigma, St. Louis, MO). Before measuring glucose and lactate, the haemolymph was mixed with 300 µl of 95% ethanol and centrifuged at 12,000 g for 10 min at 4°C. A free sample of 100 µl of protein was used following the kit's protocol.

#### *Total protein analysis of haemolymph*

The total protein concentration (PC) of the burrowing crab haemolymph was estimated using a Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen) and the data quantified with standards.

#### *HSP protein expression*

Haemocytes pellets were crushed on ice for 1 h in 1 ml and lysed in 500 µl of lysis buffer, pH 7.5, supplemented with a cocktail of protease inhibitors using a glass dounce homogeniser. Lysates were centrifuged at 15000 g for 30 min at 4°C. The supernatants were collected and dialysed against 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), and the protein content was estimated with the Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen). Hsps expression was carried out using the immunoblotting assay.

### Preliminary Results

#### *Behaviour of grouped specimens in Control condition*

The preliminary results on grouped specimens behaviour showed an heterogeneity in the parameters considered among the different trials. Specifically, the values of: distance moved, encounters, mobility, moving and velocity were higher in the trials constituted by male + male + reproductive female.

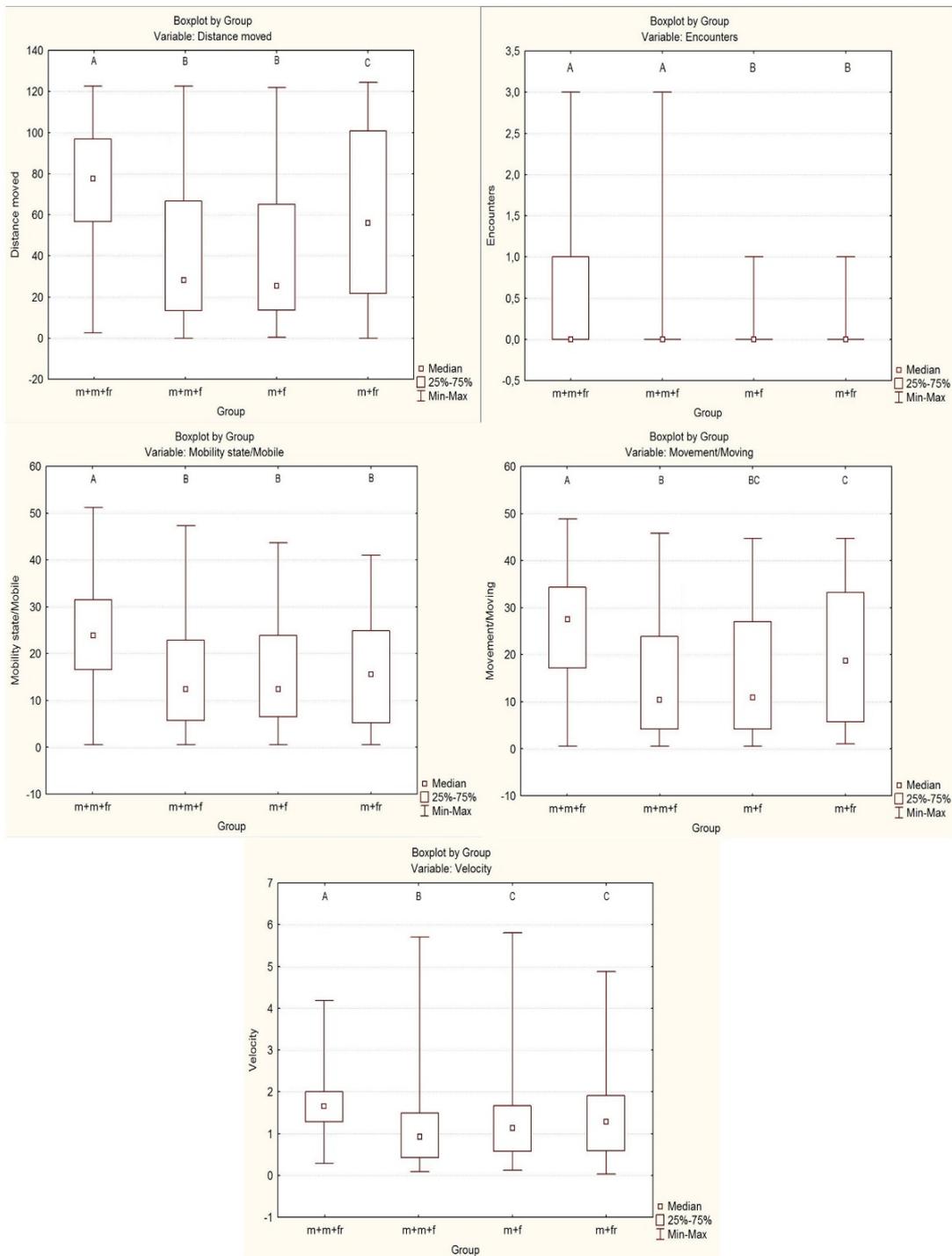


Figure 3. Values (median  $\pm$  25th to 75th percentiles; error bars 95% CI.) of distance moved, encounters, mobility, moving and velocity for group trials. m+m+fr: group with 2 males and a reproductive female; m+m+f: group with 2 males and a female; m+f: group with a male and a female; m+fr: group with a male and a reproductive female. The different letters indicate significant differences among the trials.

### Biochemical analysis

The preliminary results on biochemical variables showed that the physiological parameters change between the sweep tone and control conditions. Specifically, the concentrations of THC decrease significantly in the sweep tone condition, whereas the concentrations of Lactate did not showed a significant difference.

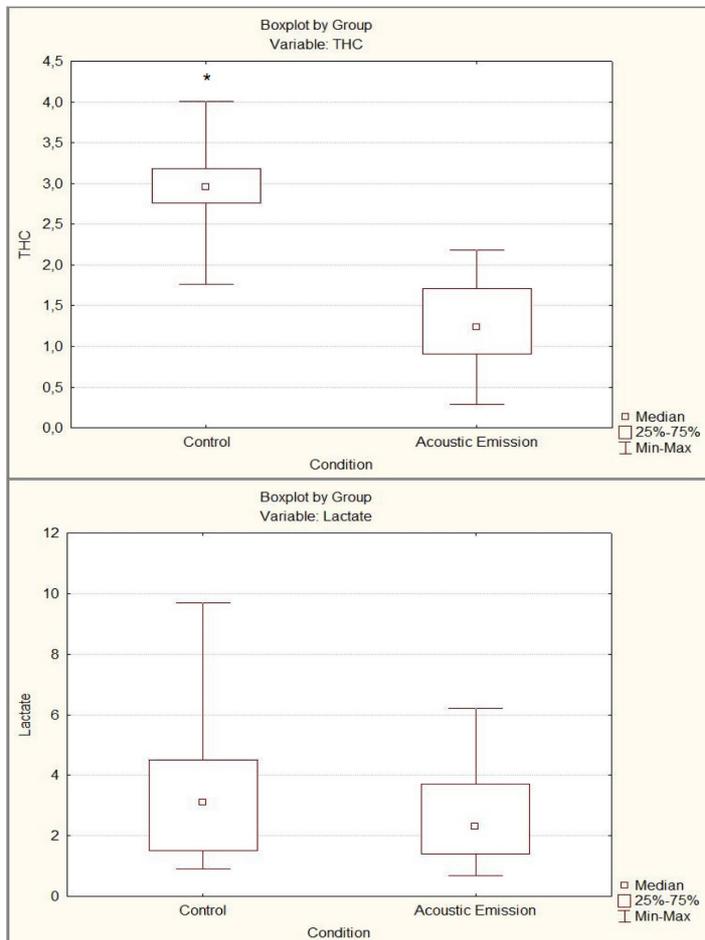


Figure 4. Values (median  $\pm$  25th to 75th percentiles; error bars 95% CI.) of THC and lactate recorded on *N. granulata*. Asterisks (\*) represent significant differences between control and sweep tone conditions.