

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA TERRA,
DELL'AMBIENTE E DELLA VITA (DISTAV)

Classe delle Lauree Magistrali in Biologia LM/6

Corso di Laurea Magistrale in Biologia ed Ecologia Marina

ANALISI TASSONOMICA DEI CORALLI BAMBU'
(FAM. KERATOISIDIDAE) DEL MEDITERRANEO

Laureanda:
Enola D'Aprile

Relatore:
Dott. Francesco Enrichetti
Prof.ssa Marzia Bo

Correlatore:
Prof.ssa Chiara Paoli

ANNO ACCADEMICO 2025-2026

RIASSUNTO/ABSTRACT

Italiano: La tassonomia della famiglia polifiletica di coralli bambù, Keratoisididae, è stata recentemente rivisitata con attenzione, grazie all'avvento di tecniche molecolari, con cui integrare le analisi morfologiche. I caratteri utilizzati tradizionalmente, quali la morfologia generale della colonia e il pattern di ramificazione, si dimostrano ormai inadeguati a causa della loro elevata variabilità e scarsa congruenza con le relazioni filogenetiche. Il quadro della situazione è stato ulteriormente aggravato da “materiale tipo” assente o in quantità e sigua, e collocazione geografica dei campioni incerta. Nel Mediterraneo il problema si sposta sull'identità di *Isidella elongata* (Esper 1788): storicamente è stata considerata l'unica specie di corallo bambù presente nel bacino. Recentemente anche la sua distinzione dal genere *Acanella* è stata messa in discussione. In questo studio sono state analizzate 23 colonie di keratoisididi, provenienti dalle regioni centrale ed occidentale del Mediterraneo, prelevate tra i 100 m e gli 800 m di profondità circa, al fine di caratterizzarne la variabilità morfologica, valutarne il significato tassonomico, e verificarne l'identità, attraverso l'utilizzo della tassonomia integrata. L'analisi morfologica classica ha considerato caratteri relativi alla struttura della colonia, al loro pattern di ramificazione, alla morfologia e distribuzione dei polipi, e alla forma, dimensione e disposizione degli scleriti. La variabilità di questi caratteri è stata indagata tramite analisi statistiche univariate e multivariate. In parallelo sono state svolte le analisi filogenomiche, atte a ricostruire le relazioni tra esemplari, attraverso l'uso di Ultra Conserved Elements (UCEs) ed esoni, integrati con l'analisi dei geni mtMutS e 28SrDNA. L'analisi morfologica ha evidenziato un'elevata variabilità tra i campioni, e una strutturazione dei campioni nello spazio morfologico, dimostrando che alcuni esemplari sono distinguibili tra loro in base alla combinazione dei caratteri considerati. Ciò non è corrisposto nelle analisi molecolari: le analisi filogenomiche mostrano che tutti gli esemplari si collocano in un unico clade del genere *Acanella*, distinto dalle sue popolazioni atlantiche, e non mostrano suddivisioni corrispondenti ai diversi morfotipi individuati dalle analisi morfologiche o alle entità tassonomiche riconosciute in passato. Le analisi molecolari dei geni mtMutS e 28S non supportano l'ipotesi della presenza di più specie nel Mediterraneo, almeno nel materiale utilizzato. I risultati dimostrano quindi che l'elevata variabilità dei coralli bambù mediterranei non riflette una diversità tassonomica, quanto più una plasticità intraspecifica. Tali fatti supportano quindi l'attribuzione dei campioni mediterranei al genere *Acanella*, e non forniscono supporto alla distinzione di *Isidella elongata* come specie distinta nel materiale analizzato. Questi

risultati evidenziano l'importanza di un approccio di tassonomia integrata per la revisione e sistematica dei Keratoisididae mediterranei, infine forniscono una nuova evidenza per una rivalutazione dello stato tassonomico di *Isidella elongata*.

English: Taxonomy of the polyphyletic bamboo coral family Keratoisididae has recently undergone a critical re-evaluation, driven by the advent of molecular techniques used to complement morphological analyses. Traditional diagnostic characters such as general colony morphology and branching patterns have proven inadequate due to their high variability and poor congruence with phylogenetic relationships. The situation has been further complicated by the absence or scarcity of type material and uncertainty regarding the geographic origin of samples. In the Mediterranean, the issue centers on the identity of *Isidella elongata* (Esper, 1788), historically regarded as the only bamboo coral species in the basin; recently, its distinction from the genus *Acanella* has been called into question. This study analyzed 23 Keratoisididae colonies from the central and western Mediterranean collected at depths ranging from approximately 100 to 800 meters to characterize morphological variability, assess its taxonomic significance, and verify species identity using an integrative taxonomic approach. Classical morphological analysis examined traits related to colony structure, branching patterns, polyp morphology and distribution, and the shape, size, and arrangement of sclerites. The variability of these characteristics was investigated through univariate and multivariate statistical analyses. Concurrently, phylogenomic analyses were conducted to reconstruct relationships among specimens using Ultra-Conserved Elements (UCEs) and exons, integrated with analyses of the mtMutS gene and 28S rDNA. Morphological analysis revealed high variability among the samples and a distinct structuring within morphospace, demonstrating that certain specimens can be distinguished from one another based on the combination of traits examined. This pattern was not mirrored in the molecular analyses: phylogenomic results show that all specimens cluster within a single clade of the genus *Acanella* distinct from Atlantic populations and reveal no subdivisions corresponding to the morphotypes identified via morphological analysis or to taxonomic entities previously recognized. Molecular analyses of the mtMutS and 28S genes do not support the hypothesis of multiple species occurring in the Mediterranean, at least within the material examined. Consequently, the results demonstrate that the high variability observed in Mediterranean bamboo corals reflects intraspecific plasticity rather than taxonomic diversity. These findings support assigning the Mediterranean samples to the genus *Acanella* and provide no evidence to justify treating *Isidella elongata* as a distinct species within the analyzed material. Ultimately, these results underscore the importance of an integrative taxonomic approach to the revision and systematics of Mediterranean Keratoisididae and provide new evidence warranting a re-evaluation of the taxonomic status of *Isidella elongata*.

Parole chiave: Keratoisididi, Mediterraneo, tassonomia integrata, *Acanella*, confronto

Key words: Keratoisidids, Mediterranean, integrated taxonomy, *Acanella*, comparison

INDICE

1. INTRODUZIONE

- 1.1 I coralli bambù: ecologia e sistematica
- 1.2 Inquadramento sistematico della famiglia keratoisididae
- 1.3 I coralli bambù del Mar Mediterraneo

2. SCOPO DELLA TESI

3. MATERIALI E METODI

- 3.1 Raccolta dei campioni
- 3.2 Analisi morfologica
 - 3.2.1 *Analisi della colonia*
 - 3.2.2 *Analisi dei polipi*
 - 3.2.3 *Analisi degli scleriti*
- 3.3 Analisi statistica
- 3.4 Caratterizzazione molecolare

4. RISULTATI

- 4.1 Struttura della colonia
- 4.2 Morfologia dei polipi
- 4.3 Variabilità degli scleriti
- 4.4 Analisi filogenomiche

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

6. BIBLIOGRAFIA

7. RINGRAZIAMENTI

INTRODUZIONE

1.1. I coralli bambù: ecologia e sistematica

I coralli bambù sono un gruppo di antozoi ottocoralli, accomunati dalla presenza di un particolare scheletro rigido formato da segmenti in carbonato di calcio, gli internodi, alternati a strutture discoidali cornee, i nodi. Questa conformazione conferisce a questi organismi l'aspetto di una canna di bambù, da cui deriva il nome. All'esterno è presente il cenenchima, ossia il tessuto vivo dell'animale, nel quale sono immersi i polipi, i canali di comunicazione e gli scleriti (piccole formazioni calcaree di varie fogge e tipi).

Questi organismi si trovano in tutti i principali bacini oceanici (Heestand Saucier et al., 2021), da profondità molto esigue come 3 m (Rowley et al. 2015) fino a 4700m (Lapointe and Watling, 2015), ma la maggioranza di essi vive sotto i 200m (Heestand Saucier et al., 2021). La loro base gli consente di aggrapparsi a substrati rigidi, quali fondi rocciosi, canyons, affioramenti di roccia, sebbene alcuni si sono adattati a vivere su fondi incoerenti, come ad esempio *Acanella arbuscula* (Johnson, 1862). Come altri ottocoralli essi possono formare importanti aggregazioni assimilabili a foreste, che richiamano una ricca fauna associata e rappresentano importanti siti di foraggiamento, riparo e riproduzione (Neves et al., 2015; Li & Wang, 2019; Carbonara et al., 2020).

Negli ultimi anni, l'intero clade degli ottocoralli è andato incontro ad una completa riorganizzazione sistematica, basata su una ricostruzione filogenomica che utilizza marcatori molecolari come mtMutS (un gene mitocondriale esclusivo degli ottocoralli) e sequenze target arricchite di Elementi Ultraconservati (UCEs) ed esoni (McFadden et al., 2022). Questa ricostruzione ha elevato a livello di classe i precedenti ordini degli ottocoralli ed esacoralli, mentre la ex classe degli antozoi è stata elevata a subphylum. Inoltre, gli ottocoralli sono stati suddivisi in due ordini principali monofiletici, Malacalyonacea (ex Holaxonia-Alcyoniina) e Scleralcyonacea (ex Calcaxonia-Pennatulacea) (McFadden et al., 2006; 2022).

Anche la tassonomia dei coralli bambù è stata largamente discussa e rimane ancora non completamente risolta (Morrissey et al., 2023). Ciò è dovuto in gran parte all'elevata plasticità dei caratteri morfologici utilizzati per la loro classificazione, alla bassa accuratezza di alcune descrizioni tassonomiche, alla scarsità di illustrazioni e immagini dettagliate degli esemplari analizzati, e alla perdita, in alcuni casi dei materiali tipo conservati nelle collezioni museali. Inoltre, almeno fino a pochi anni fa, non erano disponibili marcatori molecolari affidabili a livello specifico (McFadden et

al., 2022; Watling et al., 2022). In particolare, la maggior parte dei coralli bambù veniva in precedenza inclusa all'interno della famiglia Isididae (Kükenthal, 1924). Questa classificazione, proposta da Kükenthal nella sua principale monografia del 1919, basata sulla German Deep-Sea Expedition, risultava ancora in uso con pochissime modifiche, fino a pochi anni fa. La famiglia Isididae era suddivisa nelle sottofamiglie Isidinae, Muricellisidinae, Keratoisidinae, e Mopseinae. L'utilizzo delle più recenti tecniche molecolari e una reinterpretazione dei caratteri morfologici, ha confermato che questa famiglia era polifiletica, non derivante da un singolo antenato comune (Heedstand Saucier et al., 2021). La presenza di un'asse scheletrico organizzato in nodi e internodi alternati tra loro, sarebbe comparsa per evoluzione convergente più volte in maniera indipendente in diverse linee evolutive separate, come già suggerito da Kükenthal nel 1919 (Fig. 1).

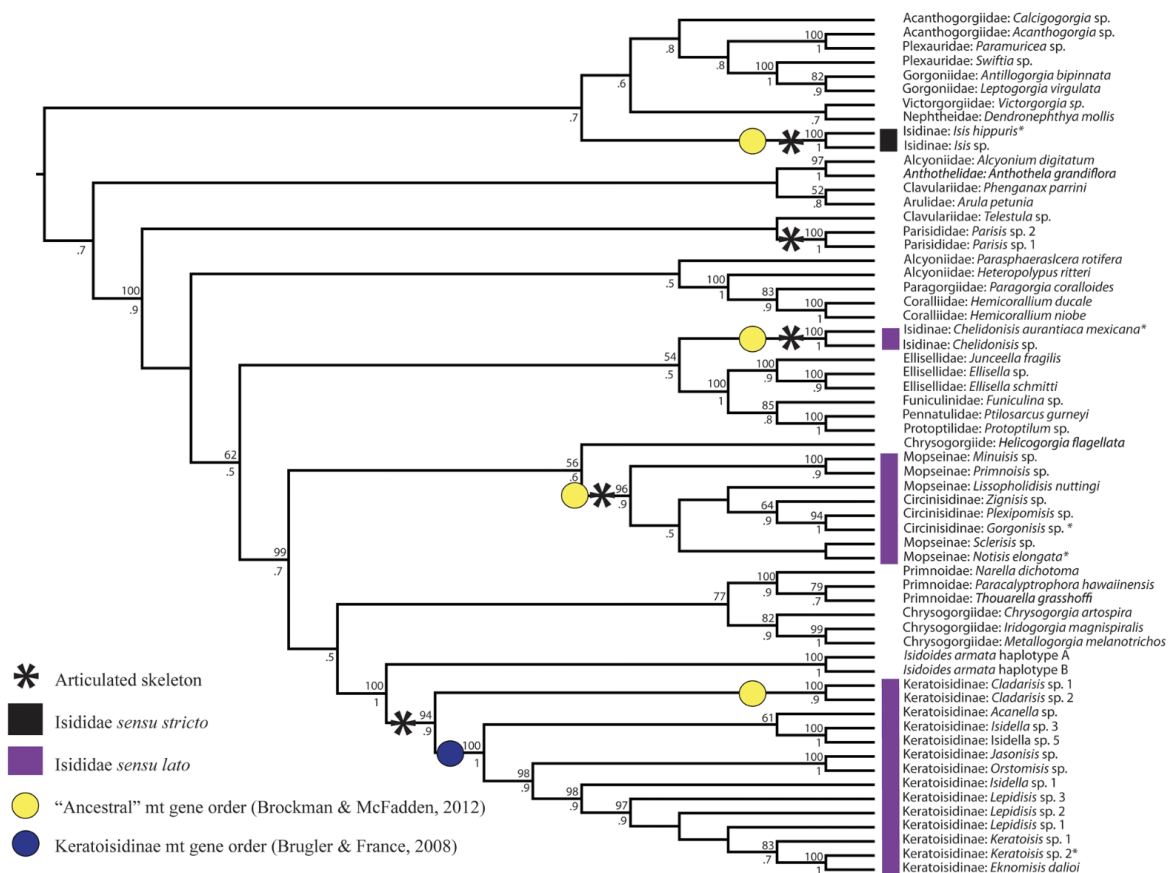


Figura 1. Albero filogenetico costruito sull'allineamento concatenato delle sequenze mtMutS-5', mtMutS-3' e 18S, che mostra le relazioni filogenetiche tra 61 taxa di ottocoralli, inclusi 28 taxa con scheletro articolato in nodi e internodi, evoluto indipendentemente in cinque linee evolutive differenti (contrassegnate da un grande asterisco). Isididae sensu stricto (in nero) rappresenta l'unico clade attualmente riconosciuto con questo nome, che contiene i generi *Hicksonella*, *Isis* e *Rumphella*. Isididae sensu lato (in viola) include tutti i gruppi identificati come "isididi" da Kükenthal (1924) e che oggi sono stati separati in famiglie distinte (*Chelidonisididae*, *Mopseidae* e *Keratoisididae*). I valori riportati sopra e sotto i nodi indicano quanto l'esistenza e correttezza di quei nodi siano supportate dall'analisi svolta. I pallini gialli indicano la presenza nei gruppi del genoma mitocondriale considerato "ancestrale" da Brockman & McFadden (2012), mentre i pallini blu indicano presenza del genoma mitocondriale considerato tipico dei Keratoisididi da Brugler & France (2008). Da Heedstand Saucier et al. (2021).

Heestand Saucier et al. (2021) hanno quindi smembrato la famiglia elevando le sottofamiglie Keratoisidinae e Mopseinae (quest'ultima include anche Circinisidinae) e i generi *Chelidonisis* e *Isidoides* al rango di famiglia negli scleralcionacei, e hanno ridimensionato la famiglia Isididae (*sensu stricto*) ad includere solo alcuni generi (*Hicksonella* Nutting, 1910, *Isis* Linnaeus, 1758, e *Rumphella* Bayer, 1955) nell'ordine dei malacalcyonacei. In precedenza, Watling (2020) aveva scoperto che le due specie del genere *Muricellisis*, che Kükenthal aveva incluso nella sottofamiglia Muricellisidinae, appartengono in realtà ad altre famiglie: una ai Melithaeidae e l'altra agli Alcyoniidae. Tutti i componenti della vecchia famiglia Isididae (*sensu lato*) sono stati quindi ridistribuiti in cinque famiglie separate tra loro: Isididae, Chelidonisididae, Mopseidae, Keratoisididae e Isidoidae (Fig. 1). La famiglia Isididae Lamouroux, 1812 è caratterizzata dalla presenza di ramificazioni internodali che si originano con un nodo alla base (Fig. 2A), polipi retrattili nel cenenchima carnoso (Fig. 2B), e dalla quasi totale assenza di scleriti nei polipi (con l'eccezione dei tentacoli); nel cenenchima sono presenti varie forme di scleriti, inclusi piccoli *clubs*, *radiates*, *warty rods*, *spindles* e *crosses* (Fig. 2C).

La famiglia Chelidonisididae Heestand Saucier, France & Watling, 2021 presenta colonie planari, cenenchima sottile, internodi solcati e polipi adagiati sul piano della colonia. Lo scleroma (l'insieme di scleriti dell'animale) include principalmente *6-radiates* e piccole *tuberculate plates* dei tentacoli.

La famiglia Mopseidae Gray, 1870 è caratterizzata da colonie non sempre ramificate, con ramificazioni che si originano dagli internodi o dai nodi e internodi che presentano solchi longitudinali talvolta ornati da spine (Fig. 2D, G). Polipi contrattili ma non retrattili, spesso ripiegati sul lato assiale oppure più o meno eretti e completamente ricoperti di scleriti (Fig. 2E, H). Gli scleriti della parete del polipo possono essere scales o plates lisce, tubercolate o spinose (Fig. 2F, I), con disposizione longitudinale, trasversale o più raramente, disordinata. Gli scleriti distali del polipo possono formare una copertura protettiva quando i tentacoli si contraggono.

La famiglia Isidoidae Heestand Saucier, France & Watling, 2021 presenta scheletro non articolato composto da strati carbonatici concentrici (che possono arrivare ad avere colore oro-bruno), ramificazioni pseudodicotomiche, polipi non retrattili organizzati in piccoli gruppi (di due o tre), e scleroma composto da *rods* lisci.

Infine, la famiglia Keratoisididae Gray, 1870 è caratterizzata da scheletro articolato con internodi carbonatici cavi o compatti alternati a nodi organici privi di scleriti (Fig. 2J). Le ramificazioni, quando presenti, possono originarsi dai nodi o dagli internodi e il cenenchima è generalmente sottile, ma in alcuni casi può essere spesso, con polipi variamente contrattili ma mai retrattili al suo interno. Lo scleroma include *needles*, *spindles*, *rods* oppure *scales*, che sono organizzati longitudinalmente, trasversalmente oppure obliquamente intorno alla parete del polipo e nel cenenchima (Fig. 2K, L). Possono essere presenti anche piccoli *rods* del faringe e *double stars*.

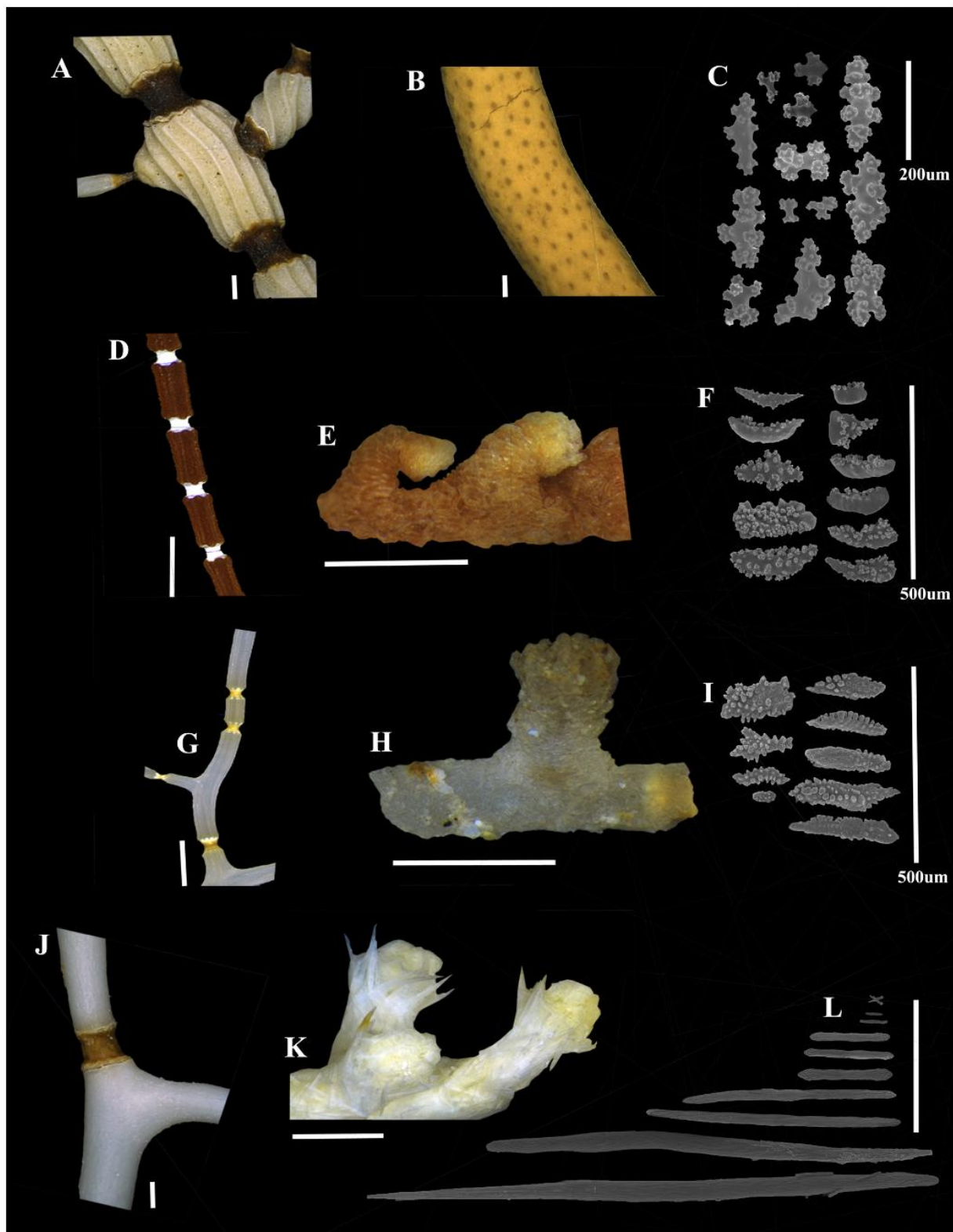


Figura 2. Dettagli anatomici esemplificativi delle principali famiglie di coralli bambù. A-C, Isididae, *Isis hippuris* Linnaeus, 1758: scheletro denudato (A), ramificazione con tessuto e polipi (B) e scleriti fotografati al SEM (C). D-F, Mopseidae (ex Circinisiidinae), *Zignisis* sp.: scheletro denudato (D), ramificazione con tessuto e polipi (E) e scleriti fotografati al SEM (F). G-I, Mopseidae (ex Mopseinae), *Minuisis* sp.: scheletro denudato (G), ramificazione con tessuto e polipi (H) e scleriti fotografati al SEM (I). J-L, Keratoisididae, *Keratoisis grayi* Wright, 1869: scheletro denudato (J), ramificazione con tessuto e polipi (K) e scleriti fotografati al SEM (L). La scala, quando non diversamente specificato, indica 1 mm. Tratto da Heedstand Saucier et al. (2021).

1.2. Inquadramento sistematico e variabilità morfologica dei Keratoisididae

La famiglia Keratoisididae Gray, 1870 si rinviene esclusivamente in ambienti profondi (200-4700 m; Lapointe & Watling, 2015), dove presenta una ampia distribuzione. Le varie specie si rinvencono associate principalmente alle emergenze rocciose di canyons, ridges e seamounts, ma altre presentano specifici adattamenti a fondi incoerenti. Come gli altri coralli bambù, è dotata di uno scheletro composto da una serie alternata di nodi cornei e internodi calcarei, ma si distingue dalle altre famiglie per il suo scleroma che comprende tipi specifici: *needles*, *spindles*, *rods*, e *scales*.

Le specie al suo interno sono caratterizzate da una spiccata variabilità morfologica e genetica, più alta rispetto a quella riscontrata nelle altre famiglie (Heestand Saucier et al., 2021). Questa notevole diversità si manifesta in colonie che variano da pochi centimetri a diversi metri di altezza, con forme che spaziano da sottili strutture a frusta a grandi colonie ramificate (Fig. 3). Anche i polipi mostrano un'ampia variabilità: possono essere fortemente retrattili o rimanere ben sviluppati, presentare abbondanti scleriti oppure esserne quasi privi, con l'involucro esterno che può andare da uno spesso tegumento a uno strato cellulare appena distinguibile (Fig. 4). Alcuni di questi caratteri sembrano essersi evoluti secondariamente; ad esempio, alcune piccole colonie cespugliose osservate sui monti sottomarini dell'Atlantico e del Pacifico presentano un asse non articolato che, sulla base delle analisi filogenetiche dei Keratoisididae, potrebbe rappresentare una perdita evolutiva di questa struttura (Heestand Saucier, 2016).

Questa elevata variabilità morfologica, specialmente nei secoli scorsi, ha portato a molti errori nei tentativi di classificazione, assieme a scelte improprie di caratteri morfologici da considerare. Precedentemente, le specie di questo gruppo venivano associate ad uno di quattro generi esclusivamente sulla base del tipo di ramificazione osservata (Kükenthal, 1924): la ramificazione nodale in un unico piano era considerata caratteristica di *Isidella*; *Acanella* veniva invece distinta dalla presenza di ramificazioni nodali su più piani (Fig. 3A1); *Keratoisis* era definita dal fatto che la ramificazione originava dagli internodi (Fig. 2J-L); infine, le colonie prive di ramificazioni venivano assegnate a *Lepidisis* (Fig. 3I1). Recentemente, numerosi studi si sono concentrati sulla diversità di questa famiglia utilizzando marcatori molecolari. Il gene mitocondriale mtMutS è la regione genetica più comunemente sequenziata negli ottocoralli grazie alla sua variabilità relativamente elevata rispetto ad altri marcatori. Questa proteina, specifica degli ottocoralli, è coinvolta nei meccanismi di riparazione degli errori di appaiamento del DNA ed è una delle cause del lento accumulo di mutazioni nel mitogenoma. Tale caratteristica ha ridotto l'utilità di marcatori barcoding più comuni, come il gene COI, negli ottocoralli. Tuttavia, se utilizzato singolarmente, mtMutS non consente di distinguere numerose specie congeneri e, anche quando impiegato in combinazione con altri marcatori genetici, può risultare insufficiente per discriminare alcune specie strettamente affini.

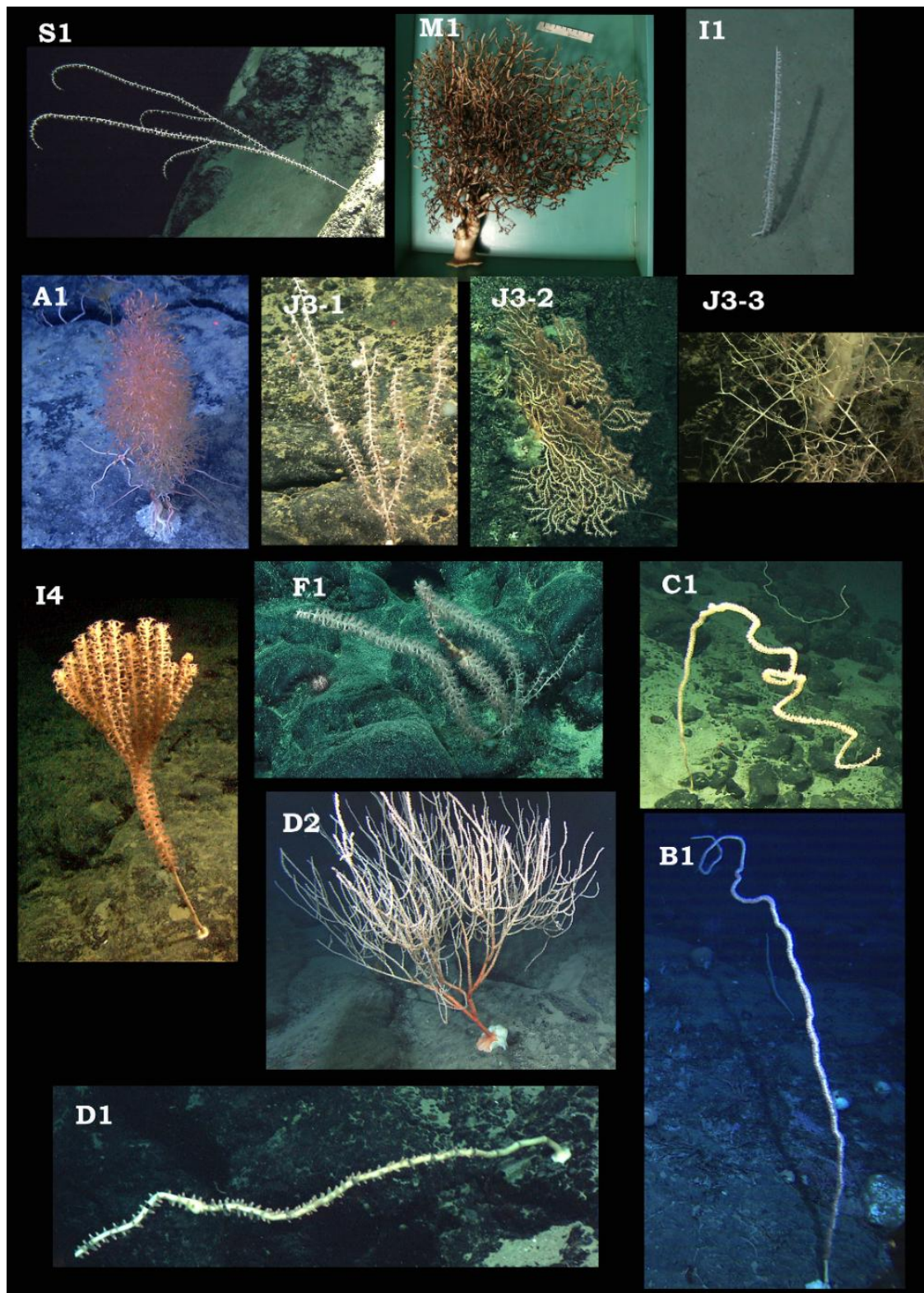


Figura 3. Selezione di immagini ROV relative a diverse morfologie delle colonie appartenenti alla famiglia Keratoisididae. I codici riportati sono riferiti alle analisi di Watling et al. (2022). S1, *Cladarisis novianae*, 30 cm, Bahamas; M1, *Orstomisis* sp., 45 cm, New Caledonia; I1, *Lepidisis caryophyllia*, 17 cm, NE USA; A1, *Acanella arbuscula*, 30 cm, New England Seamounts; J3-1, 30 cm, New England Seamounts; J3-2, approx. 75 cm, Corner Rise Seamounts; J3-3, approx. 50-75 cm, Nashville Seamount, New England Seamounts; I4, 50 cm, New England Seamounts; F1, approx. 40 cm, Emperor Seamounts; C1, approx. 2 m, Balanus Seamount; D1, approx. 1 m, Caloosahatchee Seamount; D2, *Eknomisis dalioi*, approx. 1 m, Kelvin Seamount; B1, approx. 2 to 3 m length, Kelvin Seamount. Da Watling et al. (2022).

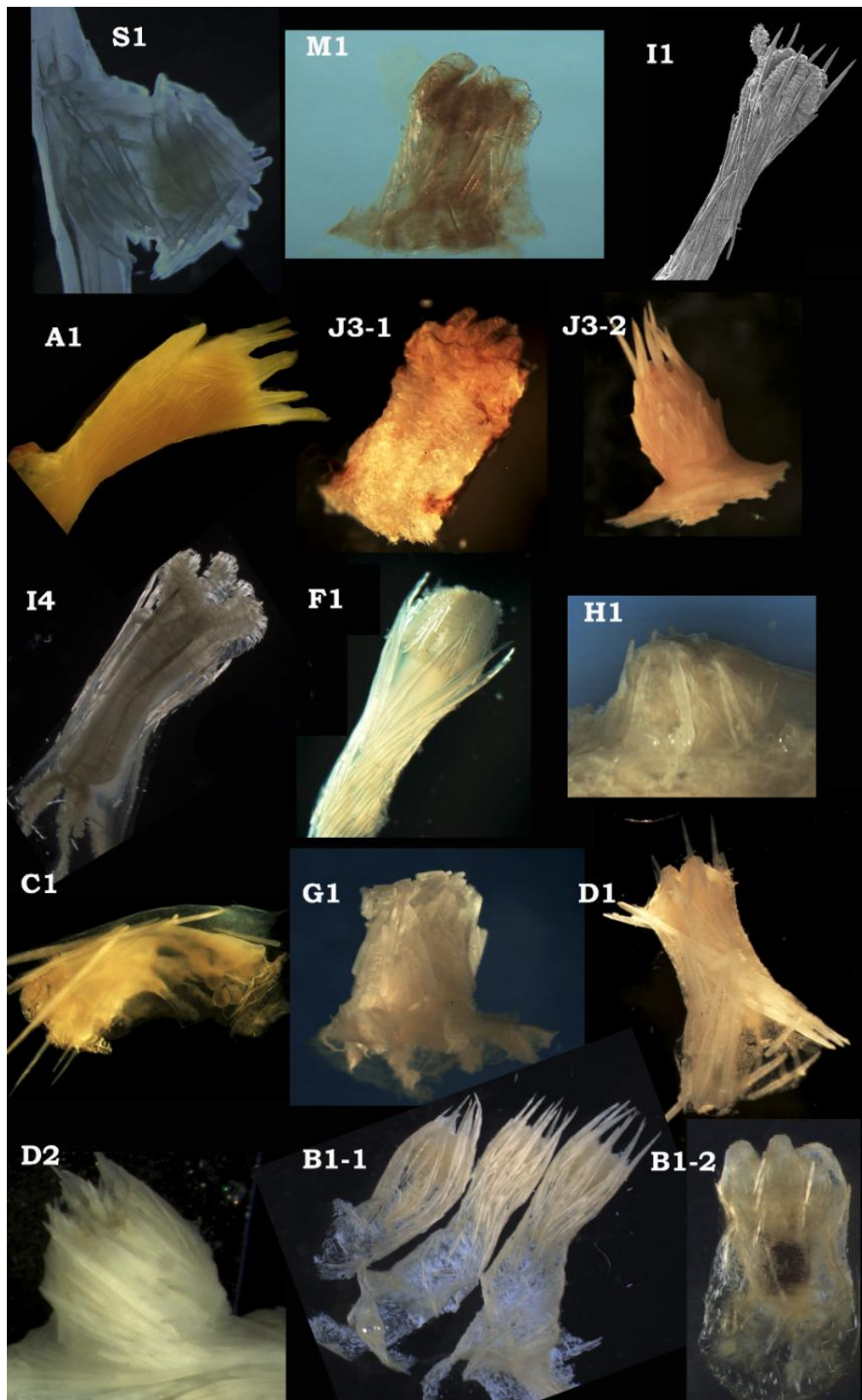


Figura 4. Selezione di polipi rappresentativi della famiglia Keratoisididae. I codici riportati sono riferiti alle analisi di Watling et al. (2022). S1, *Cladarisis nouvianae*, Bahamas; M1, *Orstomisis* sp., New Caledonia; I1, *Lepidisis caryophyllia*, NE USA; A1, *Acanella arbuscula*, Corner Rise Seamounts; J3-1, New England Seamounts; J3-2, Corner Rise Seamounts; I4, New England Seamounts; F1, Kelvin Seamounts; H1, *Keratoisis magnifica*, Tasmania Seamount; C1, Balanus Seamount; G1, Tasmanian Seamounts; D1, New England Seamounts; D2, *Eknomisis dalioi*, Kelvin Seamount; B1-1, New England Seamounts; B1-2, Aleutian Islands. Da Watling et al. (2022).

Queste analisi filogenetiche hanno comunque dimostrato che il modello di ramificazione non costituisce un carattere diagnostico affidabile per alcun genere e che molti dei generi tradizionalmente riconosciuti sono polifiletici (Watling et al., 2022). Per risolvere parte di questa incongruenza tassonomica sono stati istituiti numerosi nuovi generi, tra cui *Adinisis* (Lapointe and Watling, 2022), *Cladarisis* (Watling, 2015) (Fig. 3S1), *Dokidisis* (Lapointe and Watling, 2022), *Eknomisis* (Watling and France, 2011) (Fig. 3D2), *Jasonisis* (Alderslade and McFadden, 2012), *Onkoisis* (Lapointe and Watling, 2022), *Orstomisis* (Bayer, 1990), e *Tanyostea* (Lapointe and Watling, 2022). Anche il genere *Bathygorgia* è stato riesumato e incluso all'interno dei Keratoisididae (Lapointe and Watling, 2015). Una filogenesi basata su tre marcatori genetici (mtMutS-5', mtMutS-3' e una porzione del gene 18S) ha permesso di riconoscere 12 gruppi distinti all'interno della famiglia, molti dei quali comprendono almeno un genere caratteristico, come *Acanella*, *Adinisis*, *Tanyostea*, *Eknomisis*, *Keratoisis*, *Bathygorgia*, *Onkoisis*, *Lepidisis*, *Isidella*, *Dokidisis*, *Jasonisis*, *Orstomisis* e *Cladarisis* (Watling et al., 2022). Ciascun gruppo presenta combinazioni morfologiche peculiari, riguardanti ad esempio la forma dei polipi, la composizione degli scleriti e la distribuzione dei polipi lungo l'asse. Nonostante ciò, l'attuale risoluzione delle analisi filogenetiche non permette ancora di chiarire le relazioni tra i principali cladi e di individuare i caratteri diagnostici che definiscono i gruppi evolutivi di livello superiore.

Ancora più recentemente, l'utilizzo di *target enrichment sequencing of Ultraconserved Elements and exons* ha permesso di esplorare con maggior dettaglio le relazioni filogenetiche all'interno di numerosi gruppi, inclusi gli ottocoralli (McFadden et al., 2022). Questi elementi ultra-conservati sono stati utilizzati da Morrissey et al. (2023), per risolvere i nodi più profondi dell'analisi effettuata da Watling et al. nel 2022 (Fig. 5). Il gruppo S1 (*Cladarisis*) risulta un clade ben supportato, esterno di tutti gli altri gruppi, con rappresentanti che non condividono la stessa organizzazione dei geni mitocondriali osservata negli altri membri della famiglia. Tutti gli altri coralli bambù risultano invece suddivisi in due principali cladi: il Clade I comprende i gruppi B1 (*Adinisis*), C1 (*Tanyostea*), D1–D2 (*Eknomisis* and *Keratoisis*), F1 (nd), H1 (*Onkoisis*), I4 (nd) e J3 (*Dokidisis* and *Jasonisis*), mentre il Clade II include i gruppi A1 (*Acanella*), I1 (*Lepidisis* and *Isidella*) e M1 (*Orstomisis*) (Fig. 5).

Molti di questi gruppi includono specie con diverse morfologie della colonia (a ventaglio, cespuglio o a frusta), dello scheletro (alternanza di nodi e internodi), pattern di ramificazione (origine dai nodi o dagli internodi) e spessore del cenenchima (sottile o spesso) (Fig. 6). La recente revisione degli ottocoralli (McFadden et al., 2022) conferma che i principali criteri di classificazione al di sotto del livello di famiglia non devono essere basati su questi tratti morfologici grossolani, ma su caratteristiche più sottili, come la microstruttura e l'ornamentazione degli scleriti (Morrissey et al., 2023). Questi tratti sembrano essere altamente condivisi all'interno di alcuni gruppi e rappresentano

promettenti caratteri tassonomici da approfondire. Attualmente la famiglia Keratoisididae comprende 18 generi e 65 specie accettate (McFadden et al., 2026), ma restano ancora da descrivere numerosi generi e specie (Watling et al., 2022; Morrissey et al. 2023).

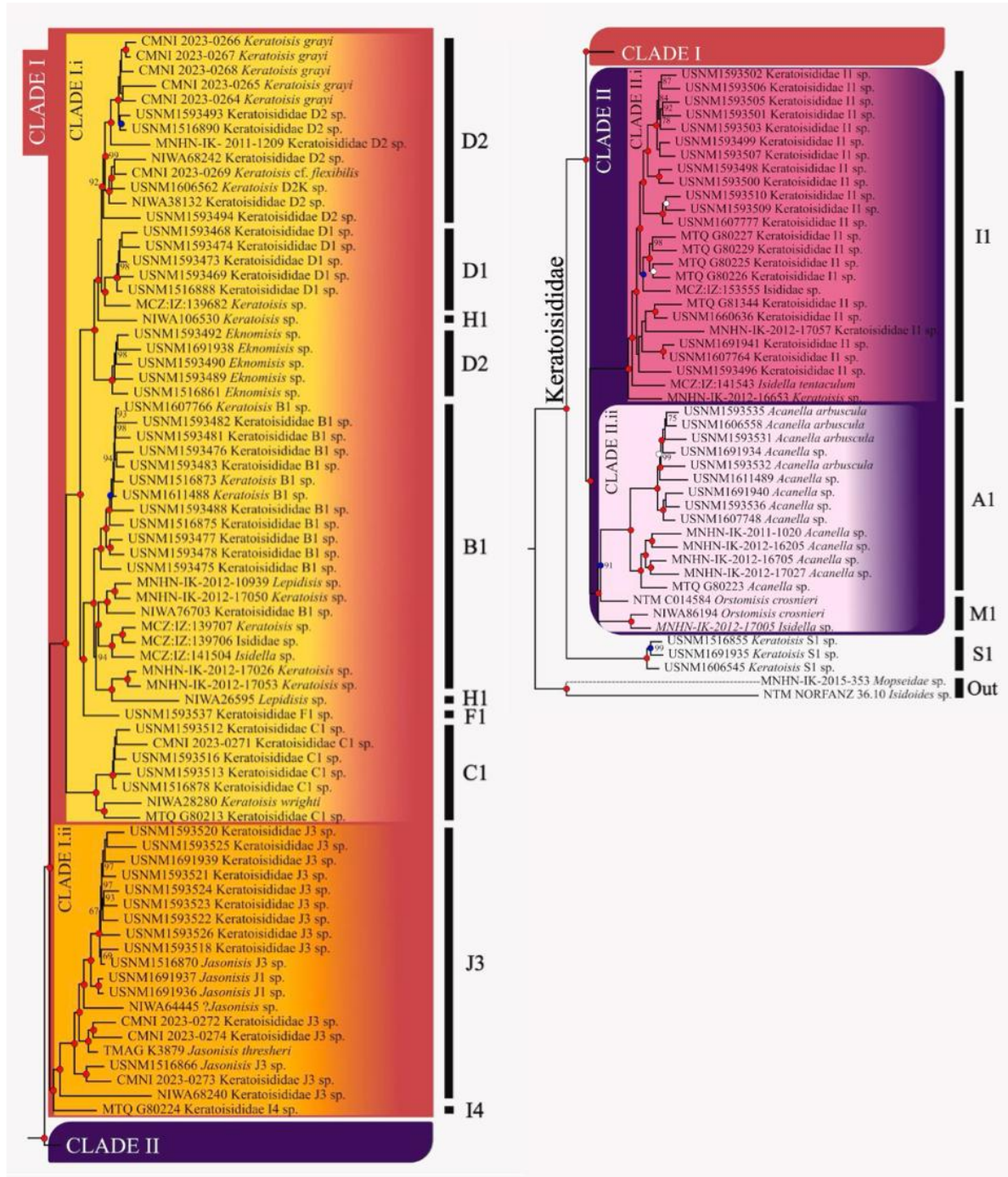


Figura 5. Albero filogenetico di massima verosimiglianza ottenuto a partire dalla matrice di elementi conservati con una copertura tassonomica del 50% (1729 loci). Tutti i nodi mostrano un supporto *ultrafast bootstrap* del 100%, salvo dove diversamente indicato. Il colore dei nodi rappresenta i valori di probabilità posteriore locale (LPP) ottenuti con ASTRAL: il rosso indica il supporto massimo (LPP = 1), il blu valori compresi tra 0,9 e 1, mentre il bianco indica valori tra 0,75 e 0,9. I nodi privi di cerchio colorato corrispondono a relazioni non recuperate dall'analisi ASTRAL. La linea tratteggiata rappresenta un ramo accorciato artificialmente a fini grafici. Le sigle A1, B1, C1, D1, D2, F1, H1, I1, I4, J3, M1 e S1 indicano i gruppi di Keratoisididae definiti da Watling et al. (2022). Modificato da Morrissey et al. (2023).

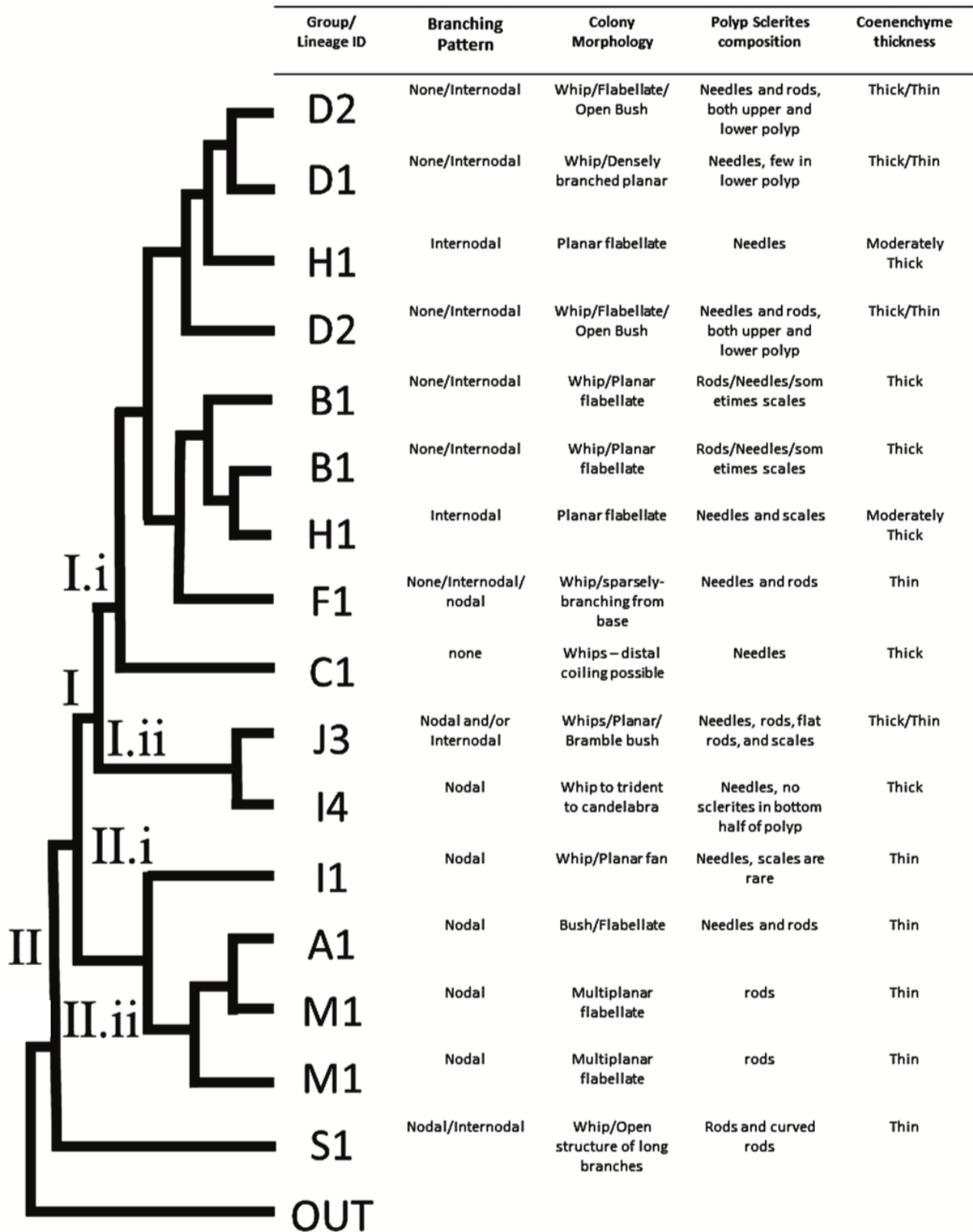


Figura 6. Caratteri morfologici distintivi dei diversi gruppi di keratoisididi identificati da Watling et al. (2022). Il cladogramma rappresenta le relazioni tra i gruppi così come ricostruite dalle analisi filogenetiche di massima verosimiglianza basate sulla matrice con il 50% di copertura tassonomica. I membri assegnati ai cladi D2, H1 e M1 non sono risultati monofiletici e, di conseguenza, compaiono più volte nel cladogramma. Da Morrissey et al. (2023).

1.3 I coralli bambù nel Mar Mediterraneo

Storicamente, numerose specie del genere *Acanella* sono state descritte in Mar Mediterraneo, tra cui *Acanella eburnea* (Pourtalès, 1868), *Acanella furcata* Thomson 1929, *Acanella gigliolii* Cecchini 1914, e *Acanella mediterranea* Cecchini 1914 (Cecchini 1914; Thomson 1929; Carpine 1963). Tuttavia, queste specie sono state in seguito sinonimizzate con *Isidella elongata* (Esper, 1788), che secondo il principale testo di riferimento sulle gorgonie del Mediterraneo (Carpine & Grasshoff, 1975), rappresenterebbe l'unica specie di corallo bambù presente nel bacino. Tuttavia, studi di tassonomia integrata più recenti hanno rivelato che la diversità di questo gruppo potrebbe non essere stata ancora caratterizzata in maniera adeguata. In una recente revisione del genere *Acanella*, Heestand Saucier et al. (2017) hanno analizzato sequenze di DNA mitocondriale (mtMutS) e nucleare (18S) provenienti da 145 colonie raccolte su un'ampia scala geografica, ripotando la presenza di due specie nel Mediterraneo: *Acanella arbuscula* (Johnson, 1862), presente in tutti gli oceani (350-2035 m) ma mai segnalata prima nel bacino, e *Acanella furcata* Thomson, 1929, originariamente descritta sulla base di materiale raccolto al largo di Monaco con palangaro (190 m), ma in seguito sinonimizzata con *I. elongata* da Carpine (1963) e Carpine & Grasshoff (1975).

Heestand Saucier et al. (2017) hanno anche dimostrato che le tre specie nominali *A. arbuscula*, *A. eburnea* e *I. elongata* risultano caratterizzate dallo stesso aplotipo e che i caratteri morfologici generalmente utilizzati per distinguerle ricadono in realtà all'interno di un continuum intraspecifico (Fig. 7). Sulla base di queste evidenze, *A. eburnea* è stata sinonimizzata con *A. arbuscula*. Lo studio ha inoltre evidenziato che alcune colonie mediterranee attribuibili a *A. arbuscula* occupano gli stessi habitat a fanghi batiali (300-800 m di profondità) tipicamente associati a *I. elongata*. Tra queste, una colonia raccolta tramite ROV a 546 m di profondità nel Canale di Mallorca (Isole Baleari), mostrava la stessa morfologia planare con ramificazione dicotomica tradizionalmente attribuita a *I. elongata*, ma presentava grandi scleriti disposti obliquamente lungo la parete del polipo e sporgenti oltre le basi dei tentacoli, carattere ritenuto diagnostico del genere *Acanella* (Fig. 8). Sulla base di queste osservazioni, gli autori hanno ipotizzato che almeno parte dei record mediterranei attribuiti a *I. elongata* fossero stati identificati principalmente sulla base della distribuzione geografica, piuttosto che dall'analisi dei caratteri anatomici.

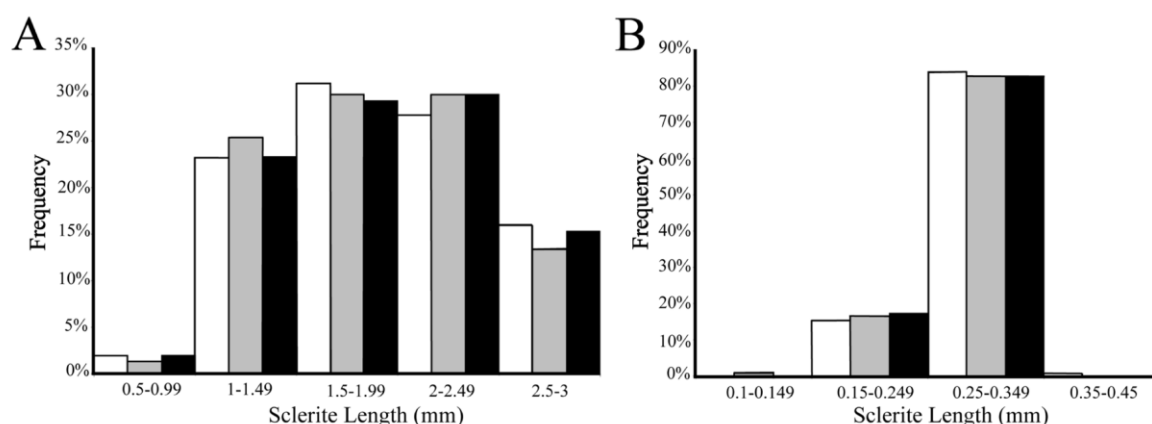


Figura 7. Confronto tra la lunghezza degli scleriti (mm) nelle tre specie *Acanella arbuscula* (bianco), *A. eburnea* (grigio), e *Isidella elongata* (nero). A) Scleriti della parete del polipo. B) Scleriti del cenenchima. Si noti la forte sovrapposizione. Tratto da Heestand Saucier et al. (2017).

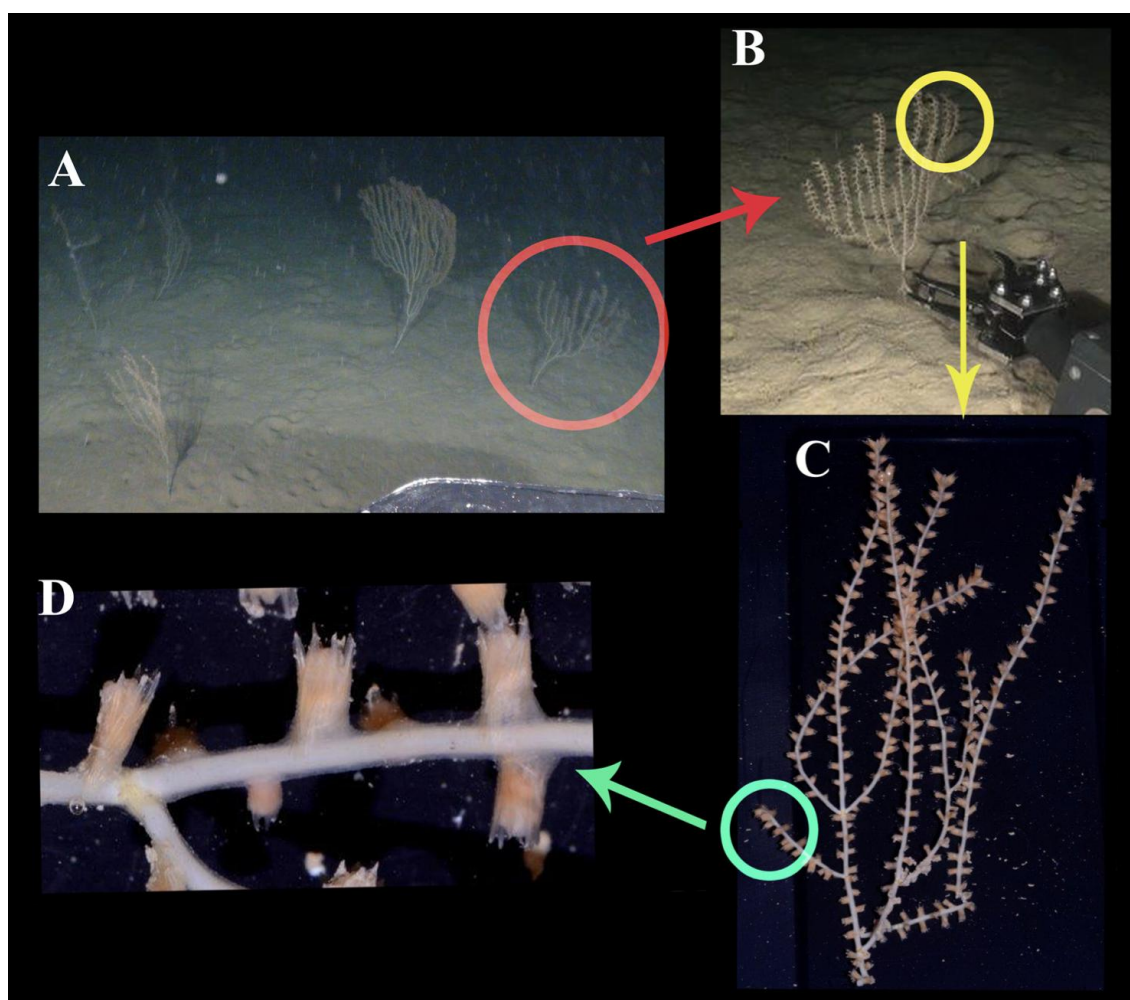


Figura 8. Immagini del campione di *Acanella arbuscula* (M007) raccolto sul seamount Ausias March (Canale di Mallorca) e analizzato da Heestand Saucier et al. (2017). A) Foto ROV della popolazione sul fondale fangoso a 546 m di profondità. Il cerchio rosso indica il campione raccolto. B) Immagine in situ della colonia campionata. Il cerchio giallo indica la porzione prelevata. C) Il campione raccolto mostra una ramificazione dicotomica e tricotomica sui nodi. Il cerchio verde indica il *close up* dei polipi sul rametto. D) Il dettaglio dei polipi mostra gli scleriti della parete del polipo che si ergono oltre le basi dei tentacoli. Tratto da Heestand Saucier et al. (2017).

Questi risultati hanno inoltre portato gli autori a riaprire una antica discussione sulla distinzione tra i generi *Acanella* e *Isidella* (Verril, 1883) fondata esclusivamente sul pattern di ramificazione. Secondo la visione corrente *Acanella* mostrerebbe un certo grado di tridimensionalità, mentre *Isidella* sarebbe sempre planare (Kükenthal, 1924; Bayer, 1990). Eppure, la presenza di colonie planari non rappresenta un carattere esclusivo di *Isidella*, essendo documentata anche in *Acanella furcata* Thomson, 1929, *A. dispar* Bayer, 1990, *A. gregori* (Gray, 1870) e, occasionalmente, in *A. arbuscula* e *A. microspiculata*. Sulla base di queste considerazioni, Heestand Saucier et al. (2017) hanno proposto di riesumare *Acanella furcata* Thomson, 1929, interpretando come erranea l'identificazione di *Isidella elongata* riportata da Carpine & Grasshoff (1975). Gli autori motivano questa interpretazione osservando che, a loro avviso, la diagnosi originale di *Isidella* descrive grandi scleriti della parete del polipo che non oltrepassano le basi dei tentacoli, mentre nella figura di *I. elongata* pubblicata da Carpine & Grasshoff (1975) sono chiaramente visibili otto lunghi scleriti che si estendono ben oltre tale limite (Fig. 9). Una rilettura delle opere originali di Gray (1857, 1870), tuttavia, non conferma questa interpretazione. Gray non descrive infatti questo carattere come diagnostico del genere *Isidella*, ma attribuisce la presenza di grandi scleriti fusiformi che si estendono oltre le basi dei tentacoli all'intera famiglia Acanelladae (Gray, 1870, p. 16). Inoltre, mentre le illustrazioni di Koch (1887) mostrano un polipo vivo ed espanso, nel quale i tessuti potrebbero mascherare parzialmente gli scleriti, Carpine & Grasshoff (1975) illustrano un campione essiccato, nel quale gli stessi elementi risultano fortemente esposti (Fig. 9). Di conseguenza, la differenza osservata potrebbe riflettere almeno in parte il diverso stato di conservazione del materiale, piuttosto che un carattere diagnostico utilizzabile per distinguere *Acanella furcata* da *Isidella elongata*.

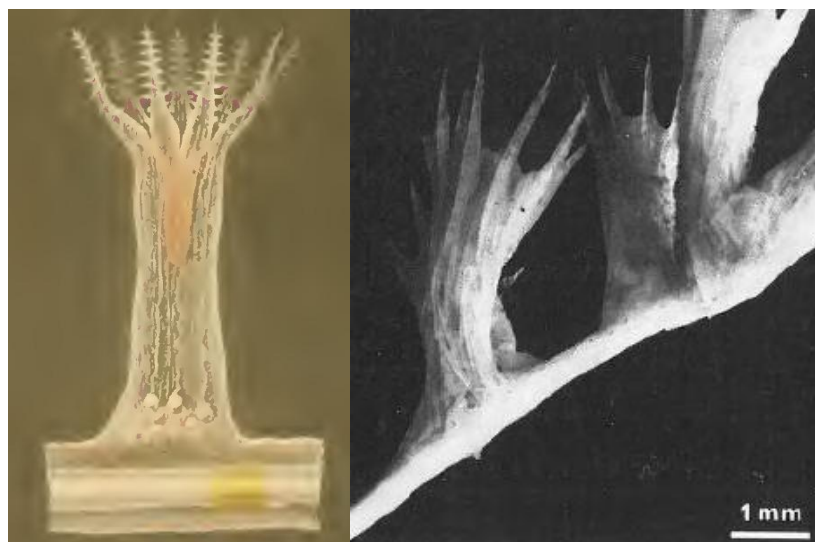


Figura 9. Immagini del polipo di *Isidella elongata* riportate da Koch (1887) (A) e Carpine & Grasshoff (1975) (B). Si noti la presenza di grandi scleriti che oltrepassano le basi dei tentacoli in (B) e la loro assenza in (A).

La storia tassonomica di *Isidella elongata* è caratterizzata fin dall'inizio da una notevole incertezza, dovuta principalmente all'inadeguatezza della descrizione originale di *Isis elongata* (Esper, 1791), basata su poche colonie incomplete, prive di polipi e cenenchima, successivamente andate perdute (Fig. 10). Inoltre, Esper non indicò la località di provenienza degli esemplari, che autori successivi attribuirono alternativamente all'Oceano Indiano o alle Indie Occidentali (Lamarck, 1815, 1816; Lamouroux, 1816; Philippi, 1842). La prima segnalazione certa di un corallo bambù mediterraneo è quella di Risso (1826), che descrisse *Mopsea mediterranea*, illustrando per la prima volta anche i polipi. Philippi (1842) riconobbe la sinonimia con *Isis elongata*, pur evidenziando l'incertezza circa il genere di appartenenza (*Isis* o *Mopsea*).

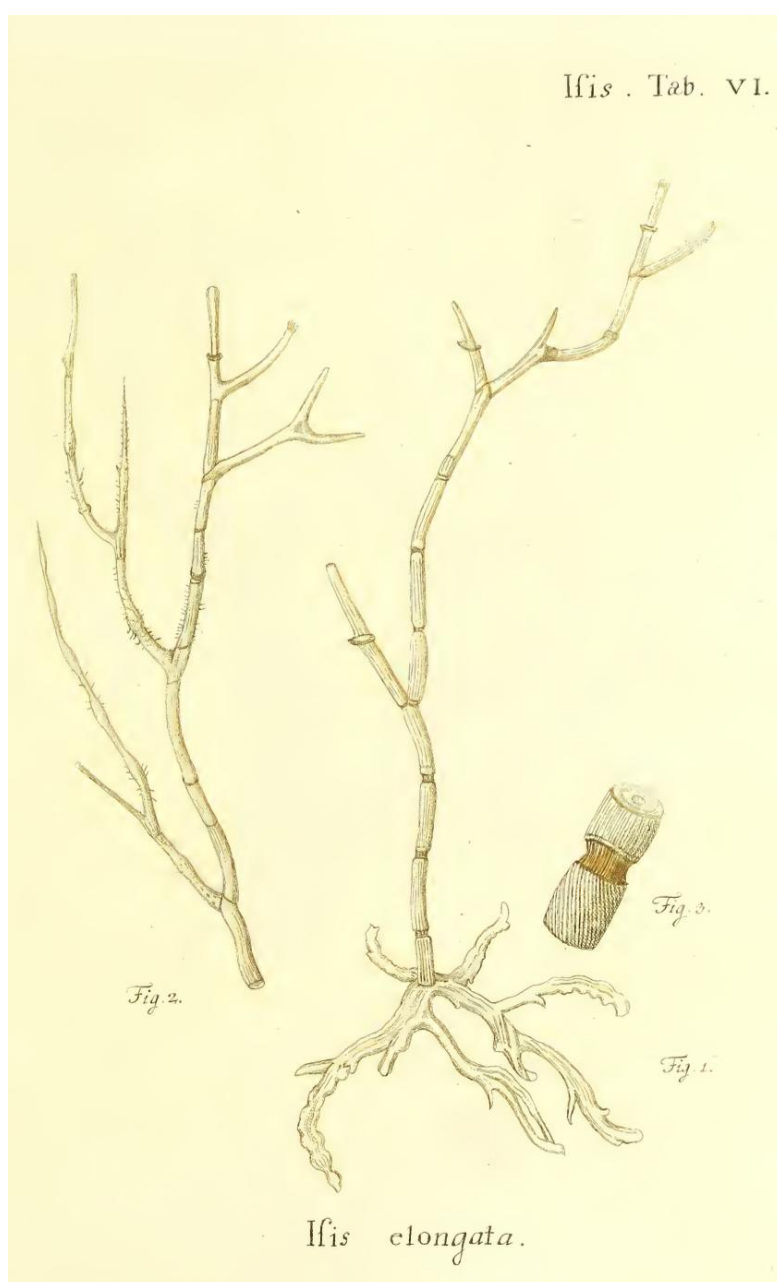


Figura 10. La tavola VI di Esper (1791) associata alla descrizione di *Isis elongata*.

Per risolvere questa ambiguità, Gray (1857) istituì il genere *Isidella*, separandolo da *Isis* principalmente sulla base della posizione delle ramificazioni (originanti dai nodi cornei anziché dagli internodi calcarei), della maggiore lunghezza degli internodi, della ramificazione prevalentemente dicotomica e della presenza di una base espansa e lobata. Inoltre, osservò che, a differenza di *Isis*, i polipi risultavano prominenti anziché immersi nel cenenchima.

Koch (1878; 1887), grazie allo studio di colonie complete provenienti dal Golfo di Napoli, fornì la prima descrizione dettagliata dell'anatomia di *Isis neapolitana* n. sp. e ne confermò la sinonimia con *Isis elongata* Esper, ma continuò inizialmente a utilizzare il genere *Isis*, ritenendo ancora poco chiara la sistematica del gruppo. Verrill (1883) espresse forti dubbi sulla validità del genere *Isidella*, osservando che il genere era stato fondato su una specie mal definita e che il principale carattere utilizzato da Gray, il tipo di ramificazione, aveva scarso valore diagnostico a livello generico. Egli suggerì inoltre una stretta affinità tra *Isidella* e *Acanella*, distinguibili soprattutto per il diverso sviluppo delle scleriti della parete del polipo. Nonostante le osservazioni di Verrill, gli autori successivi continuarono a riconoscere *Isidella*. In particolare, Studer (1887) e Kükenthal (1919) mantennero separati *Isidella*, *Acanella*, *Lepidisis* e *Ceratoisis*, distinguendoli principalmente in base al tipo di ramificazione e, secondariamente, alla morfologia delle scleriti dei polipi. Di conseguenza, il concetto tassonomico di *Isidella* rimase sostanzialmente invariato e privo di una diagnosi realmente solida, continuando a basarsi su caratteri la cui validità era già stata messa in discussione da Verrill. Questa ricostruzione storica evidenzia come il concetto di *Isidella* si sia progressivamente consolidato nonostante fosse fondato su una specie tipo priva di una diagnosi adeguata e su caratteri morfologici di dubbio valore tassonomico.

SCOPO DELLA TESI

Alla luce delle incertezze tassonomiche illustrate nel capitolo precedente, questa tesi si propone di chiarire la diversità e l'identità tassonomica dei coralli bambù del Mar Mediterraneo attraverso un approccio integrato basato sull'analisi di 23 esemplari di coralli bambù raccolti tra il 1970 e il 2025 nel Mar Ligure, Mar Tirreno, Mar di Sardegna e Canale di Sicilia, a profondità comprese tra circa 100 e 800 m. Nello specifico, gli obiettivi fondamentali sono:

- a. caratterizzare la variabilità dei principali caratteri morfologici tradizionalmente utilizzati nella sistematica della famiglia Keratoisididae, valutandone l'effettivo valore diagnostico;
- b. verificare la presenza di differenti entità tassonomiche nei popolamenti mediterranei e identificare gli eventuali caratteri morfologici utili alla loro discriminazione;
- c. integrare le evidenze morfologiche con dati molecolari, mediante analisi filogenomiche basate su *target enrichment sequencing* di *Ultraconserved Elements* (UCEs) ed esoni, che rappresentano attualmente gli strumenti più risolutivi per la sistematica degli ottocoralli;
- d. fornire nuove evidenze sull'identità tassonomica di *Isidella elongata*, analizzando nel dettaglio i caratteri storicamente utilizzati per il suo riconoscimento.

MATERIALI E METODI

3.1 Raccolta dei campioni

Nel corso del presente studio sono stati raccolte 23 colonie di coralli bambù provenienti da diversi settori del Mar Mediterraneo, comprendenti il Mar Ligure, il Mare di Sardegna, il Mar Tirreno e il Canale di Sicilia (Fig. 11). Questi campioni sono stati raccolti a partire dal 1971 fino al 2025 utilizzando vari metodi di raccolta. Alcuni derivano dal monitoraggio dello scarto della pesca a strascico, mentre altri sono stati prelevati tramite veicoli operati da remoto (ROV) durante campagne oceanografiche. A causa della fragilità dello scheletro di questi animali, della variabilità dei metodi di raccolta e del lungo arco temporale considerato, molte colonie risultano incomplete. Tutti i campioni sono conservati essiccati (semplicemente esposti all'aria) o in alcol assoluto presso la collezione museale del Laboratorio di Zoologia Marina del DISTAV (Università di Genova).

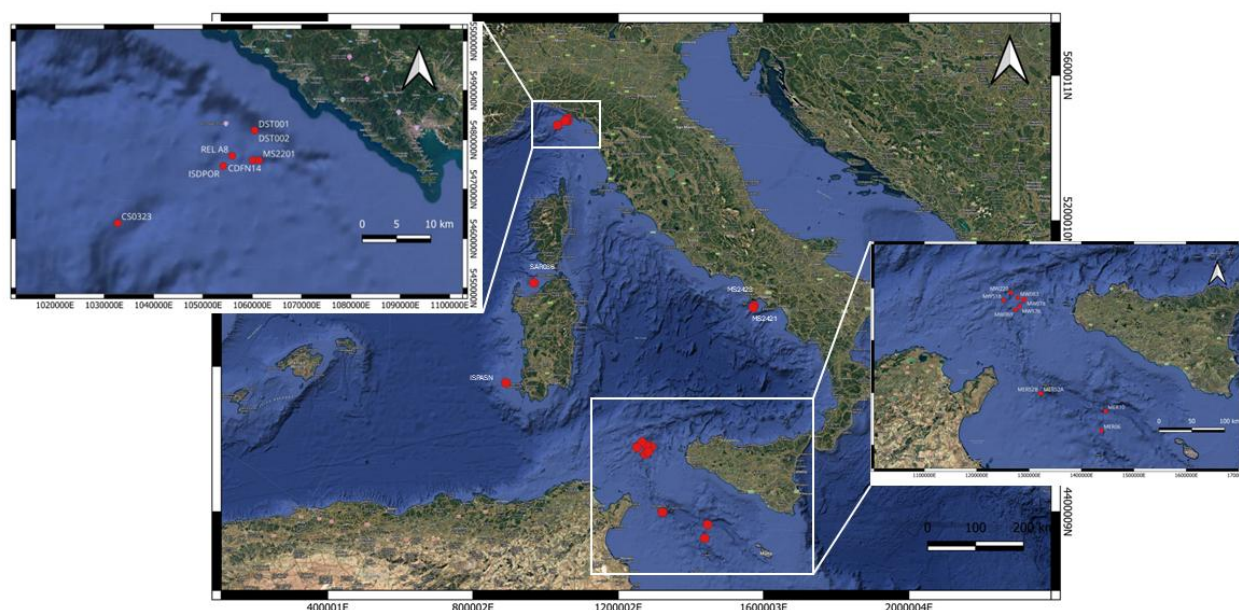


Figura 11. Mappa dell'area di studio. I cerchi rossi identificano i siti di provenienza dei campioni analizzati. Non visibili nei riquadri i campioni DST003 e MW071, poiché sono rispettivamente sovrapposti ad altri campioni o molto vicini

n	ID	Regione	Sito	x	y	Metodo raccolta	Prof. (m)	gg/mm/aaaa	Descrizione	Conservazione
1	DST001	Mar Ligure	Off Levante	9,52652	44,10632	strascico	450	11/05/2023	Colonia completa	Etanolo 100%
2	DST002	Mar Ligure	Off Levante	9,52652	44,10632	strascico	450	11/05/2023	Colonia completa	Secco
3	DST003	Mar Ligure	Off Levante	9,52652	44,10632	strascico	450	11 05 2023	Piastra basale mancante	Secco
4	CDFN14	Mar Ligure	Monterosso Canyon	9,5233	44,0673	ROV	549	10 09 2021	Piastra basale mancante	Etanolo 100%, secco
5	MS2201	Mar Ligure	Monterosso Canyon	9,534528	44,06722	ROV	500	18 09 2022	Piastra basale mancante	Etanolo 100%, secco
6	CS0323	Mar Ligure	Fuori le rame	9,27708	43,9851	strascico	650	22 03 2023	Vari frammenti, senza piastra b.	Etanolo 100%, secco
7	REL A8	Mar Ligure	Off Levante	9,485745	44,0731	strascico	500	24 07 1971	Vari frammenti, senza piastra b.	Etanolo 100%
8	SAR 36	Mar di Sardegna	Carloforte Shoal	8,0011	39,23	ROV	193	23 10 2011	Solo un framm. apicale	Etanolo 100%
9	ISDPOR	Mar Ligure	Off Levante	9,469435	44,05981	strascico	500	17 03 2017	Vari frammenti, senza piastra b.	Secco
10	MW069	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,44263	37,85262	ROV	528	23 09 2021	Solo un framm. apicale	Etanolo 100%
11	MW071	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,58552	37,97796	ROV	550	19 09 2021	Solo un framm. apicale	Secco
12	MW078	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,60163	37,99977	ROV	580	19 09 2021	Solo un framm. apicale	Etanolo 100%
13	MW083	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,4845	38,01233	ROV	568	20 09 2021	Piastra basale mancante	Etanolo 100%
14	MW220	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,36604	38,08491	ROV	428	29 09 2021	Colonia completa	Etanolo 100%
15	MW518	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,23935	37,98243	ROV	566	14 11 2021	Solo un framm. apicale	Etanolo 100%
16	MW576	Tirreno meridionale	Off Isole Egadi	11,51853	37,89527	ROV	557	15 11 2021	Solo un framm. apicale	Etanolo 100%
17	ISPASN	Mar di Sardegna	Isola Asinara	8,69451	41,11653	strascico	350	25 10 2022	Piastra basale mancante	Secco
18	MS2421	Gulfo di Napoli	Dohrn Canyon	14,14011	40,69223	ROV	417	17 11 2024	Colonia completa	Etanolo 100%, secco
19	MS2423	Gulfo di Napoli	Dohrn Canyon	14,114098	40,65439	ROV	400	18 11 2024	Piastra basale mancante	Etanolo 100%, secco
20	MER10	Canale di Sicilia	Bannock Bank	12,99029	36,46423	ROV	648	12 03 2025	Pochi framm. apicali	Etanolo 100%
21	MER06	Canale di Sicilia	Alfil Bank-Linosa	12,92062	36,19485	ROV	519	24 02 2025	Pochi framm. apicali	Etanolo 100%
22	MER52A	Canale di Sicilia	Pantelleria (Central Bank)	11,88411	36,70915	ROV	789	17 02 2025	Pochi framm. apicali	Etanolo 100%
23	MER52B	Canale di Sicilia	Pantelleria (Central Bank)	11,86985	36,7111	ROV	622	16 02 2025	Pochi framm. apicali	Etanolo 100%

Tabella 1. Elenco dei campioni analizzati con relative informazioni.

3.2 Analisi morfologica

Delle colonie sono state prese misurazioni dalle loro parti principali: asse, polipi e scleriti. Tutte le misure illustrate, sono state acquisite da foto scattate allo stereomicroscopio o al microscopio elettronico a scansione (SEM), grazie al software LeicaAcquire e il software del computer collegato al microscopio elettronico, sulle quali le misurazioni sono state eseguite tramite il software ImageJ.

3.2.1 Analisi della colonia

Dell'asse sono state analizzate le ramificazioni (numero di rami prodotti ad ogni diramazione della colonia, e misura in gradi, considerando il verso dell'apice della colonia come 0°, dal quale poi l'angolo si apre. Nel caso la ramificazione sia tricotomica, il ramo centrale è stato considerato come 0°, dal quale misurare gli angoli delle ramificazioni che da esso si originano), i nodi (misurandone la lunghezza e osservando l'aspetto, dividendoli in "concavo", "dritto" o "convesso"), e gli internodi (misurandone lunghezza, diametro centrale, eventuale diametro del canale vuoto al loro interno, e annotando la presenza di solchi longitudinali). Tutte queste misure sono state rilevate da fotografie realizzate allo stereomicroscopio, successivamente analizzate con l'uso del software ImageJ.

3.2.2 Analisi dei polipi

Dei polipi sono state misurate l'altezza totale (dalla base all'apice degli scleriti della corona), 3 diametri (basale, centrale e apicale), lunghezza della corona (dalla base dei tentacoli all'apice degli scleriti della corona), angolazione (considerando il verso dell'apice della colonia come 0°, dal quale misurare l'angolo che forma col polipo) e densità (misurata in numero di polipi per cm lungo l'asse). Le misure sono state acquisite con gli stessi strumenti sopra citati

3.2.3 Analisi degli scleriti

Gli scleriti sono stati dissociati tramite uso di ipoclorito di sodio caldo, nel quale sono state immerse le porzioni di colonia d'interesse, fino a completa dissoluzione del tessuto organico; successivamente esse sono state risciacquate con acqua, e disidratate con etanolo puro, assieme al quale sono state adagiate su vetrino e fatte aderire ad esso tramite combustione dell'etanolo. Successivamente il vetrino è stato chiuso con colla apposita e vetrino coprioggetto. Le misurazioni degli scleriti sono state fatte tramite microscopio ottico, acquisendo le immagini dei vetrini usando LeicaAcquire, ed effettuando le misurazioni utilizzando ImageJ, registrandone la lunghezza. Gli scleriti inoltre sono stati suddivisi in diversi tipi: *Needles* della corona e del corpo del polipo, *rods*, *rods* del faringe del polipo, scleriti del cenenchima (quelli accertati), e scleriti ramificati (con riportata la morfologia, se a foggia di Y o X). Alcune misurazioni (di scleriti) e osservazioni sono state eseguite con l'uso del

microscopio elettronico a scansione (SEM), poiché la risoluzione e l'ingrandimento sono di gran lunga superiori rispetto ai microscopi ottici. Questi fattori hanno permesso di notare importanti dettagli riguardo questi animali, come le ornamentazioni degli scleriti, la loro disposizione sull'animale, l'accertamento degli scleriti del cenenchima osservandoli direttamente nel cenenchima attaccato all'asse (e la loro successiva misurazione); inoltre, queste immagini sono state usate anche per integrare le misurazioni acquisite da foto al microscopio ottico (non degli scleriti del cenenchima, in quanto in quel caso il SEM è stato l'unico strumento che ha permesso di distinguerli, quindi sono state prese in considerazione solo misurazioni eseguite al SEM). Per l'osservazione del materiale esso è stato trattato al fine di essere disidratato il più possibile, ed è stato ricoperto con un sottile strato d'oro per poter essere utilizzato nella microscopia elettronica

3.3 Analisi statistica

Per ogni parametro morfologico dei polipi e degli scleriti considerato, sono state misurate: i) media; ii) massimo; iii) minimo; iv) deviazione standard; v) errore standard. Sono stati quindi creati dei boxplot per i caratteri analizzati nei campioni, al fine di evidenziare eventuali differenze, sia tra colonie, che tra porzioni diverse della stessa colonia. Per testare la significatività statistica delle differenze osservate, è stato applicato il test ANOVA (analisi della varianza), il quale permette di confrontare le medie dei vari gruppi, evidenziando il grado di variabilità tra i gruppi e quella all'interno dei singoli gruppi. Prima dell'analisi della varianza, è stata verificata la distribuzione normale dei dati. Per quanto riguarda la struttura della colonia e i polipi, le relazioni tra campioni sono state ulteriormente investigate mediante analisi di clustering gerarchico utilizzando la distanza euclidea e il metodo di aggregazione di Ward (Ward.D2), e i risultati sono stati rappresentati su un dendrogramma. Per l'analisi dei polipi è stato anche eseguito un test di Tukey post-hoc, al fine di osservare la distribuzione delle differenze tra campioni; sui polipi è stato anche eseguito il test di Shapiro-Wilk, che verifica la normalità dei residui per poter eseguire l'ANOVA. Infine, è stata eseguita una PCA (principal component analysis), per osservare, considerando vari caratteri presi assieme, la differenza tra i campioni, sia per i polipi che per gli scleriti. Essa grafica queste differenze in uno spazio bidimensionale definito da due assi, PC1 e PC2, i quali rappresentano le due principali percentuali che contribuiscono alla varianza tra campioni. I gruppi identificati sono stati successivamente proiettati sul piano definito dalle prime due componenti principali. Il contributo delle singole variabili alle componenti principali è stato valutato mediante i coefficienti di carico (loadings), rappresentati come vettori nel diagramma di ordinamento.

3.4 Caratterizzazione molecolare

Le analisi molecolari sono state condotte presso il National Museum of Natural History, Smithsonian Institution (Washington DC, USA) nell'ambito di una collaborazione con il Dr. Declan Morrissey. Le procedure di estrazione del DNA, preparazione delle librerie genomiche, sequenziamento e analisi bioinformatiche sono state eseguite seguendo il protocollo descritto da Morrissey et al. (2022). Le analisi hanno riguardato i 23 esemplari di coralli bambù precedentemente descritti (Tab. 1), successivamente confrontati con materiale atlantico e con esemplari tipo o di riferimento appartenenti al genere *Acanella* disponibili nelle collezioni dello Smithsonian Institution e del Natural History Museum di Londra.

Sebbene storicamente il marcatore mitocondriale mtMutS rappresenti il principale target di riferimento per gli ottocoralli, la sua ridotta variabilità rende spesso difficile discriminare specie strettamente affini. Per questo motivo, l'approccio molecolare è stato principalmente basato sull'utilizzo di *target enrichment sequencing* di *Ultraconserved Elements* (UCEs) ed esoni, una metodologia filogenomica che consente di ottenere centinaia-migliaia di loci nucleari omologhi e rappresenta attualmente uno degli strumenti più risolutivi per la sistematica degli ottocoralli (McFadden et al., 2022; Morrissey et al., 2022). Parallelamente sono stati ricostruiti i mitogenomi completi dei campioni sequenziati ed estratte le sequenze del gene mitocondriale mtMutS e del gene nucleare 28S rDNA, al fine di confrontare i risultati filogenomici con i marcatori tradizionalmente utilizzati nella tassonomia degli ottocoralli.

Le relazioni filogenetiche sono state ricostruite a partire dal dataset UCE, mentre la struttura genetica dei campioni mediterranei è stata valutata mediante analisi di clustering (STRUCTURE) e Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC). Le sequenze di mtMutS sono state inoltre confrontate con quelle disponibili in GenBank per costruire una rete aplo-tipica comprendente i principali taxa del genere *Acanella*.

RISULTATI

4.1 Struttura della colonia

La maggior parte dei campioni recuperati è rappresentata da colonie incomplete, costituite da una ramificazione (39%), vari frammenti (22%) o da colonie prive della porzione basale dell'asse (22%). Soltanto in quattro casi sono state recuperate colonie intere, complete di porzione basale dell'asse e dell'ancoraggio. Tuttavia, grazie alla disponibilità di immagini raccolte da ROV o di foto scattate al momento del campionamento, è stato possibile espandere l'analisi di alcuni parametri della struttura della colonia ad un maggior numero di campioni (74%) (Fig. 12 a, b).

L'altezza delle colonie complete varia da 13 a 48 cm, con una media che si aggira intorno ai 32 cm. Il colore in vivo può assumere varie tonalità dell'arancio, con colonie molto accese o rossastre (DST001, DST002, DST003, MW083), altre più rosa e delicate (SAR36, MW069, MW518) e le altre con un gradazioni intermedie (Fig. 12b). L'intensità della colorazione appare strettamente legata alla densità dei polipi, che sono gli elementi effettivamente colorati, mentre l'asse e il cenenchima risultano tipicamente bianchi o rosati. Nelle immagini ROV in situ, la colorazione appare ancora più variabile, con alcune colonie quasi completamente bianche (e.g. SAR36, MW078, MS2423). Tuttavia tale colorazione è dovuta probabilmente a fattori fisici come i) l'assorbimento selettivo della luce in acqua, ii) la sovrapposizione causata dalle luci del ROV molto forti e frontali sulle strutture chiare e riflettenti della colonia, iii) il bilanciamento del bianco automatico della camera, che cerca di correggere il colore dominante verdastro/blu dell'acqua verso tinte più gialle o bianche, e iv) la presenza di particolato in sospensione che aumenta la diffusione della luce diminuendo la saturazione. Interessante notare anche come le colonie appena raccolte si ossidano rapidamente virando la colorazione sul marrone scuro (e.g. ISPASN, MER10, MER25A).

Tutte le colonie hanno un aspetto pseudoplanare, ovvero con tutte le ramificazioni disposte approssimativamente sullo stesso piano (Fig. 13). Le ramificazioni si originano sempre dai nodi; soltanto nel campione MW518 è presente un unico internodo ramificato (Fig. 14). La ramificazione è sempre dicotomica, ma si osservano casi di ramificazione tripla in alcune colonie, sia a livello della prima ramificazione basale (CDFN14, REL A8, MW069, MW071, MW576) che nelle zone centrali (MW576) e apicali (REL A8, MW083, MER06) (Fig. 15). L'ampiezza dell'angolo che si forma tra le ramificazioni varia da 16° a 90°, con un valore medio di $56 \pm 16^\circ$ (deviazione standard); tale angolo è generalmente compreso tra 46° (Q1) e 57° (Q3)

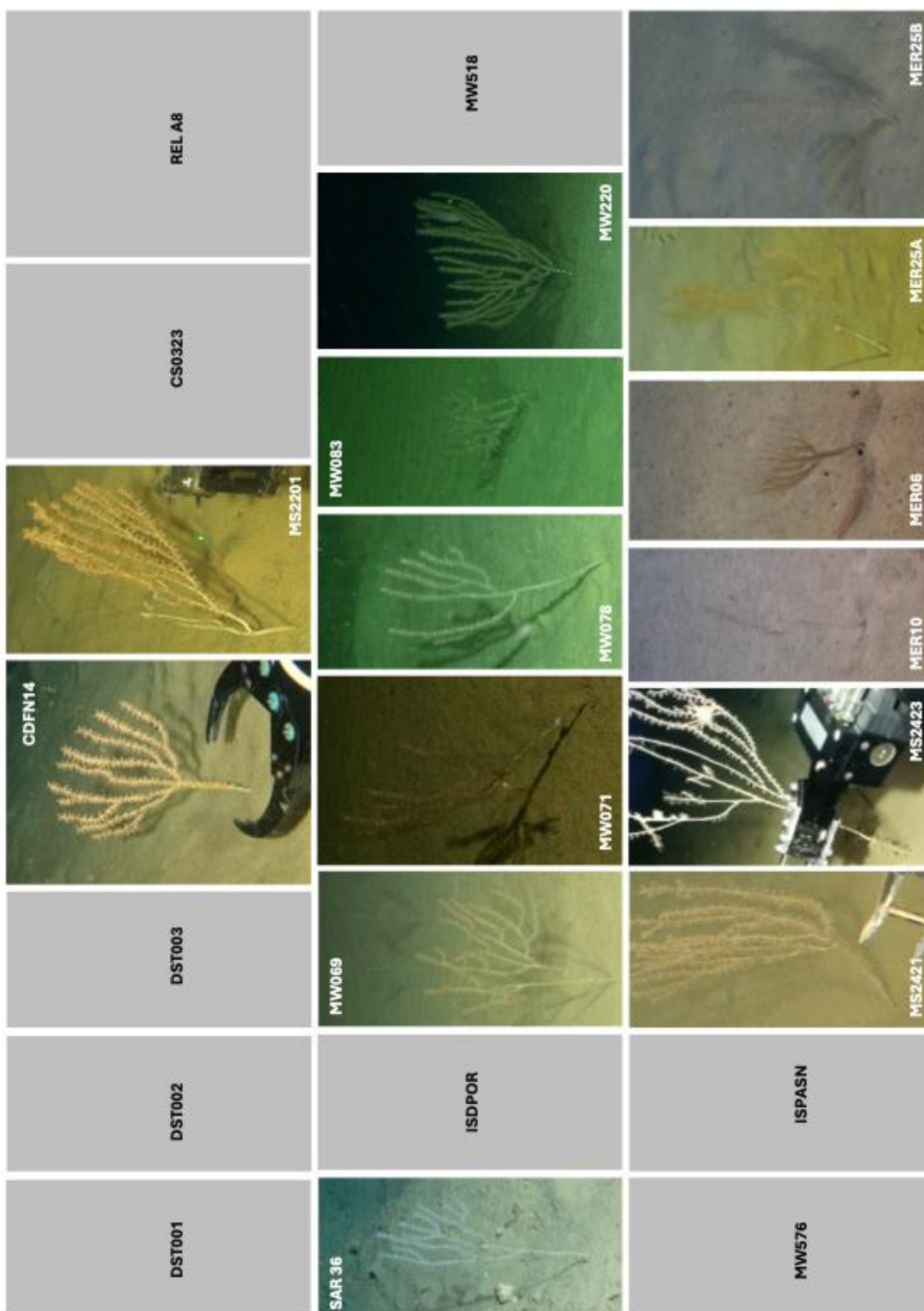


Figura 12 (a). Immagini ROV delle colonie esaminate nel presente studio.

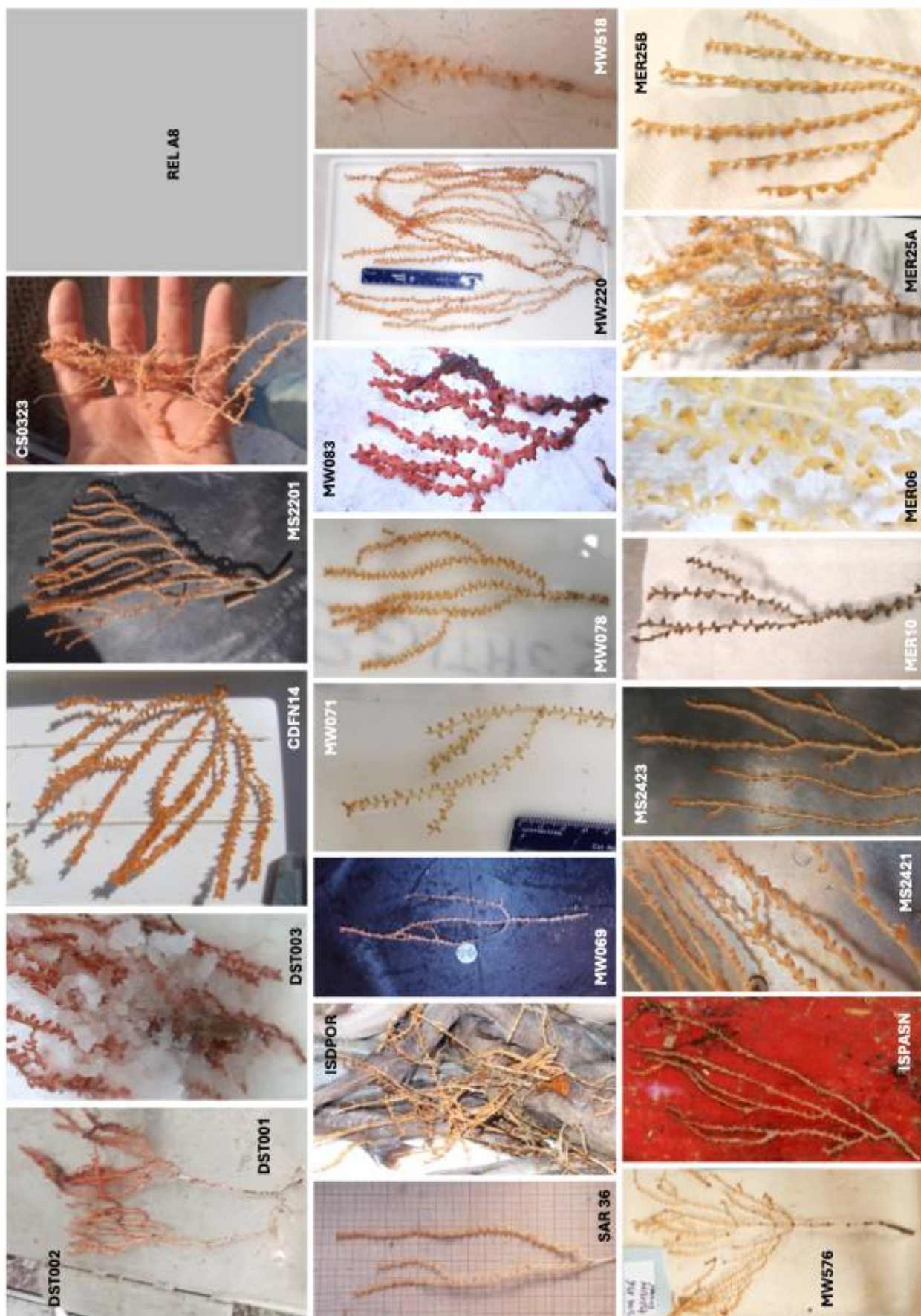


Figura 12 (b). Immagini delle colonie esaminate nel presente studio al momento della raccolta.



Figura 13. Alcuni frammenti del campione CS0323 mostrano la struttura in nodi e internodi alternati. Le ramificazioni, quasi sempre dicotomiche, si originano dai nodi. Si noti anche la forma pseudoplanare della colonia, in cui le ramificazioni giacciono approssimativamente, ma non esattamente, sullo stesso piano.



Figura 14. L'internodo ramificato della colonia MW518. Barra = 1 mm



Figura 15. Un esempio di ramificazione tripla nella colonia MER06. Barra = 1 mm

La lunghezza degli internodi varia da 1,2 a 32,4 mm, con una media di $15,4 \pm 5,3$ (deviazione standard) mm ($n = 597$). Si osserva una elevata eterogeneità tra le colonie, con mediane che risultano diverse (Fig. 16) e valori medi che vanno da 10,2 mm (CS0323, MER52A) a 21,7 mm (DST002). È evidente anche una variabilità intra-colonia, con alcuni box plot molto alti (grande dispersione interna) e altri stretti (più omogenei), mentre i numerosi outliers indicano la presenza ricorrente di internodi eccezionalmente lunghi o corti. L'analisi separata della lunghezza degli internodi nelle tre diverse porzioni della colonia, apice (ap), centro (ce), base (ba), indica che parte della variabilità osservata è associata alla porzione basale della colonia (Fig. 17a). Essa è andata interamente o parzialmente perduta in dieci campioni e quindi non risulta analizzabile; inoltre, quando presente, mostra sempre internodi prossimali molto corti e internodi distali molto allungati, indicando una reale elevata variabilità intrinseca (Fig. 18). Tale variabilità si evince anche dalla distribuzione di taglia frequenza delle lunghezze degli internodi, che risulta unimodale nelle porzioni apicale e centrale (con picchi a 15 e 18 mm, rispettivamente) e bimodale in quella basale, con un picco a 6 mm e l'altro a 21 mm (Fig. 17b). L'ANOVA ad una via mostra che esiste una eterogeneità morfologica significativa nella lunghezza degli internodi tra i campioni analizzati ($F = 6,73$, $p < 0.001$). Il test post-hoc di Tukey ha evidenziato un gradiente significativo nella lunghezza media degli internodi tra le colonie analizzate. Alcune colonie (DST002, DST001 e DST003) presentano valori medi più elevati, mentre altre (MER52A e CS0323) mostrano internodi significativamente più corti. Un'analisi di clustering delle medie internodali condotta con il metodo ward.D2, ha permesso di distinguere tre gruppi morfologici principali: colonie con internodi lunghi ($n=6$), intermedi ($n=14$) e corti ($n=2$) (Fig. 16).

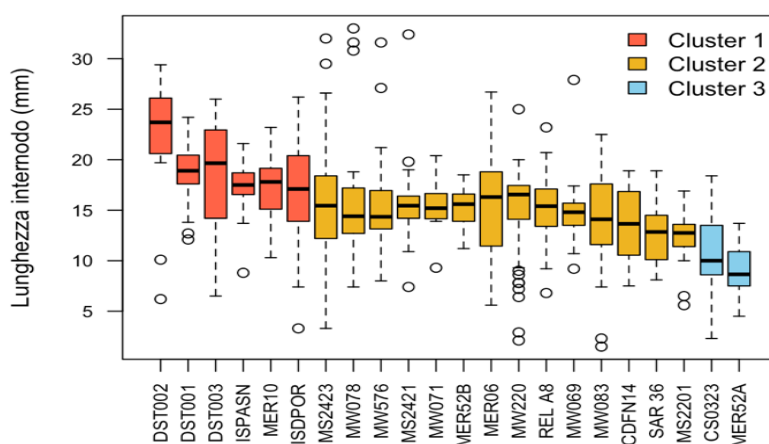


Figura 16. Box plot della lunghezza degli internodi (mm) nelle 23 colonie analizzate ordinate in senso decrescente secondo il valore medio. Le colonie sono state raggruppate mediante analisi di clustering in tre gruppi morfologici: Cluster 1 (rosso), colonie con internodi mediamente più lunghi; Cluster 2 (giallo), colonie con valori intermedi; Cluster 3 (azzurro), colonie con internodi mediamente più corti. Per ciascun boxplot, la linea centrale indica la mediana, il box rappresenta l'ampiezza interquartile (IQR), cioè la differenza tra il terzo quartile (75° percentile) e il primo quartile (25° percentile) e rappresenta la dispersione della metà centrale dei dati. I baffi estendono la distribuzione fino a $1.5 \times \text{IQR}$ dal bordo della scatola e i punti al di fuori di questo intervallo indicano valori anomali (outlier).

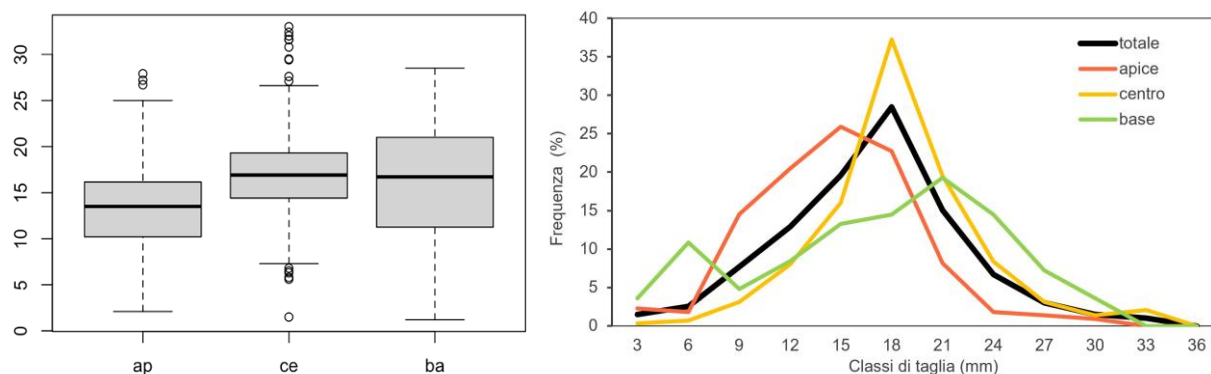


Figura 17. a) A sinistra. Box plot della lunghezza degli internodi (mm) nelle tre diverse porzioni (ap, apice; ce, centro; ba, base) delle 23 colonie analizzate. Per ciascun boxplot, la linea centrale indica la mediana, il box rappresenta l'intervallo interquartile (25°–75° percentile), i baffi estendono la distribuzione fino a $1.5 \times \text{IQR}$ e i punti indicano valori anomali. b) A destra. Distribuzione di taglia-frequenza della lunghezza degli internodi totale (in nero) e nelle tre diverse porzioni delle colonie (ap, arancio; ce, giallo; ba, verde).



Figura 18. Variabilità della lunghezza degli internodi nella porzione basale dell'asse (MS2421). Si notino gli internodi prossimali molto corti (< 1 cm) e quelli distali più lunghi (> 1 cm).

La larghezza degli internodi varia da 0,3 a 4,2 mm, con una media di $1,1 \pm 0,6$ (deviazione standard) mm ($n = 608$) e la maggior parte dei valori compresa tra 0,6 mm (Q1) e 1,3 mm (Q3). Questo parametro varia tra le diverse porzioni della colonia, con internodi via via più spessi spostandosi dagli apici verso la base (Fig. 19a). La maggiore variabilità della porzione basale è probabilmente legata a colonie giovani (es. SAR 36). Non si osserva correlazione tra lunghezza e larghezza degli internodi ($R^2 = 0,0637$; Fig. 19b).

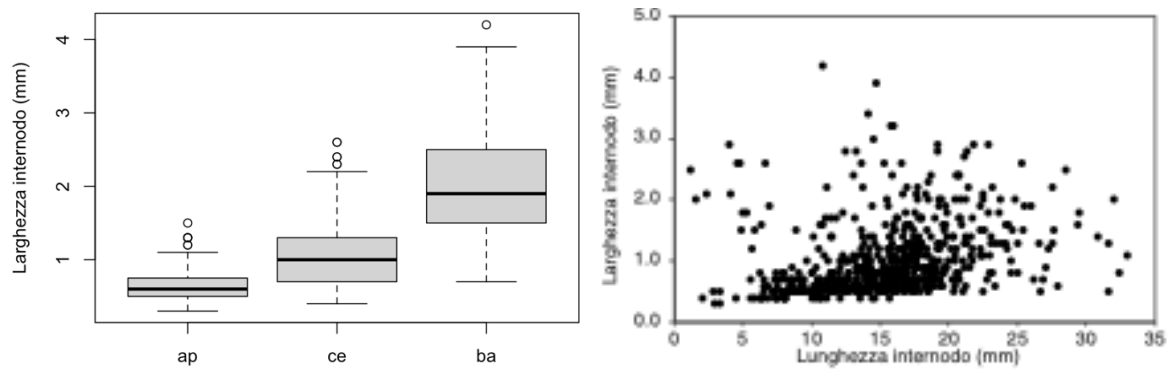


Figura 19. a) A sinistra. Box plot della larghezza degli internodi (mm) nelle tre diverse porzioni (ap, apice; ce, centro; ba, base) delle 22 colonie analizzate. b) A destra. Relazione tra lunghezza e larghezza degli internodi: l'elevata dispersione dei dati e la presenza di valori anomali indicano una relazione non lineare tra le due variabili.

Gli internodi presentano un lume interno circolare, che non si apre alle estremità degli internodi e non attraversa i nodi (Fig. 20). Il diametro di questa cavità varia tra 0,01 e 0,60 mm, con una media di $0,24 \pm 0,10$ (SD) mm ($n = 407$); nel 96% degli internodi analizzati, il lume ha un diametro inferiore a 0,40 mm. Il rapporto tra l'ampiezza del lume e quella dell'internodo, misurate in sezione, non varia significativamente tra le colonie analizzate, ma cambia nelle diverse porzioni della colonia: occupa uno spazio in proporzione maggiore nella sezione apicale rispetto a quella centrale e basale (Fig. 20, 21a). Tuttavia, l'ampiezza del lume non risulta direttamente correlata alla larghezza degli internodi ($R^2 = 0,0514$; Fig. 21b).

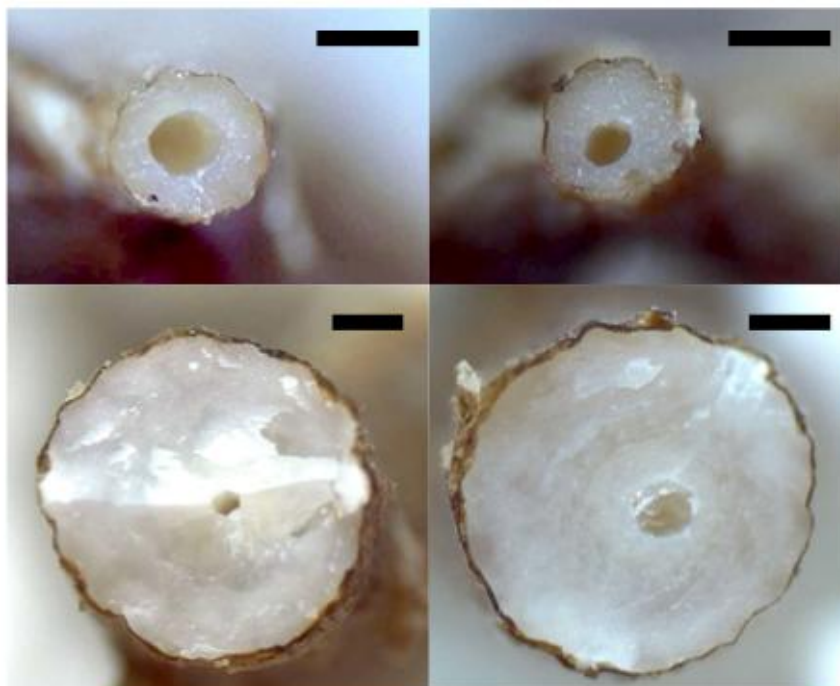


Figura 20. Sezioni di internodi apicali (in alto; DST003) e basali (in basso; DST002). Si noti la variabilità nell'ampiezza del lume interno. Ciascuna barra misura 0,5 mm.

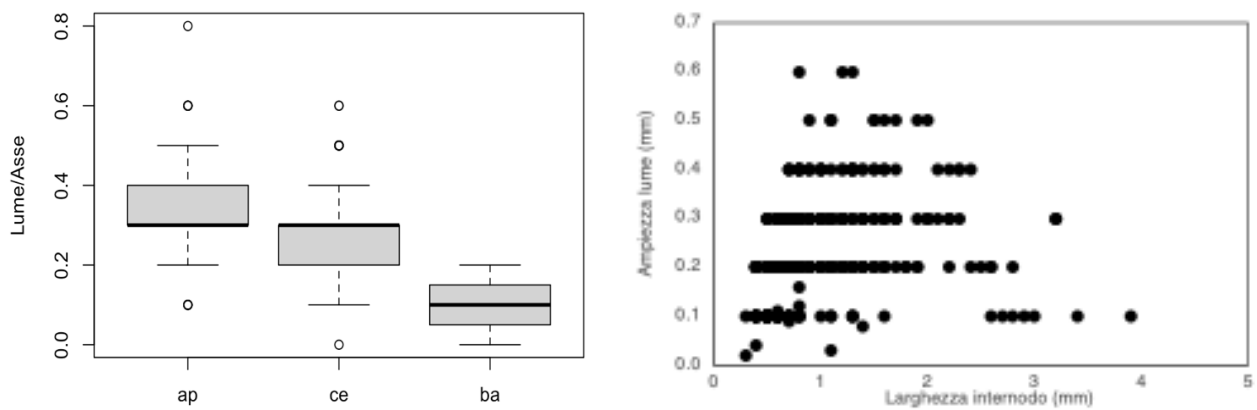


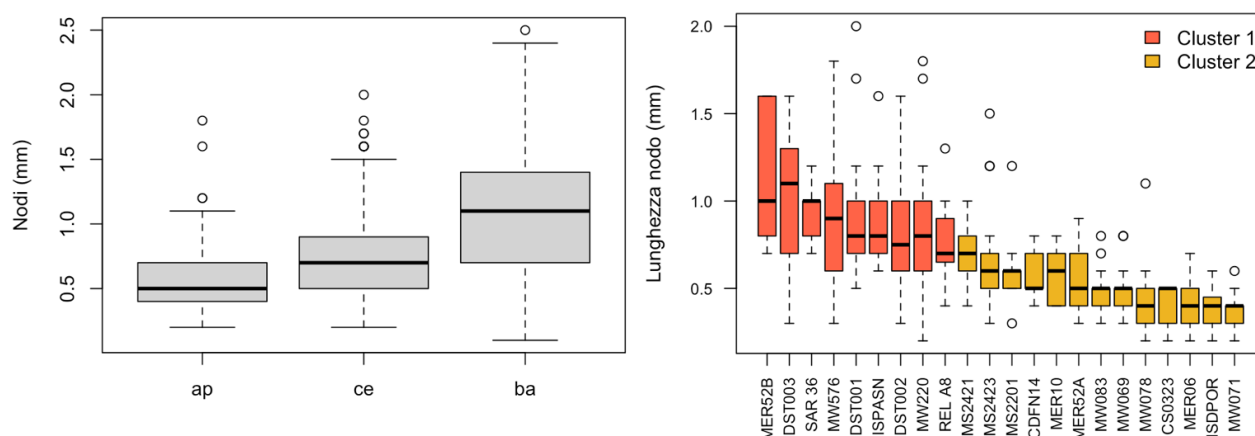
Figura 21. a) A sinistra. Box plot del rapporto tra l'ampiezza del lume e la larghezza degli internodi (mm) nelle tre diverse porzioni (ap, apice; ce, centro; ba, base). b) A destra. Relazione tra larghezza degli internodi e ampiezza del lume.

I nodi organici hanno una lunghezza media di $0,7 \pm 0,4$ (SD) mm ($n = 528$); anche se si osservano nodi eccezionalmente lunghi (2,5 mm) o corti (0,1 mm), la maggior parte delle osservazioni è compresa tra 0,5 (Q1) e 0,9 (Q3) mm. Nel complesso, i nodi hanno quasi sempre un aspetto leggermente concavo e solo occasionalmente dritto o convesso (Fig. 22). Sono evidenti delle variazioni nella dimensione dei nodi all'interno della colonia, con porzioni apicali generalmente con nodi più piccoli e porzioni basali caratterizzate da nodi mediamente più grandi e una maggiore variabilità, legata probabilmente all'età della colonia (Fig. 23a). L'ANOVA ad una via indica che esiste una eterogeneità morfologica significativa nella lunghezza dei nodi tra i campioni analizzati ($F = 17,13$, $p < 0.001$). Il test post-hoc di Tukey ha evidenziato un gradiente significativo nella lunghezza media degli internodi tra le colonie analizzate. Alcune colonie (DST002, DST001 e DST003) presentano valori medi più elevati, mentre altre (MER52A e CS0323) mostrano nodi significativamente più corti. Un'analisi di clustering delle medie della lunghezza dei nodi condotta con il metodo ward.D2, ha permesso di distinguere due gruppi morfologici, uno con nodi più lunghi ($n=9$) e l'altro con nodi più corti ($n=13$) (Fig. 23b).





Figura 22. Struttura dei nodi organici nello scheletro assile apicale (sopra, MW083) e basale (sotto, DST001).



Infine, l'analisi dei quattro ancoraggi disponibili conferma la struttura lobata tipica del gruppo tassonomico, con un numero di estroflessioni che varia da quattro a due e un diametro che può raggiungere i 8,5 cm (Fig. 24). In tutti i campioni in cui è stato possibile studiare l'ancoraggio, questa struttura risulta immersa nel substrato fangoso, come suggerisce la presenza di sedimento fine coagulato sotto le strutture stesse, e come confermato dai video acquisiti con il ROV.

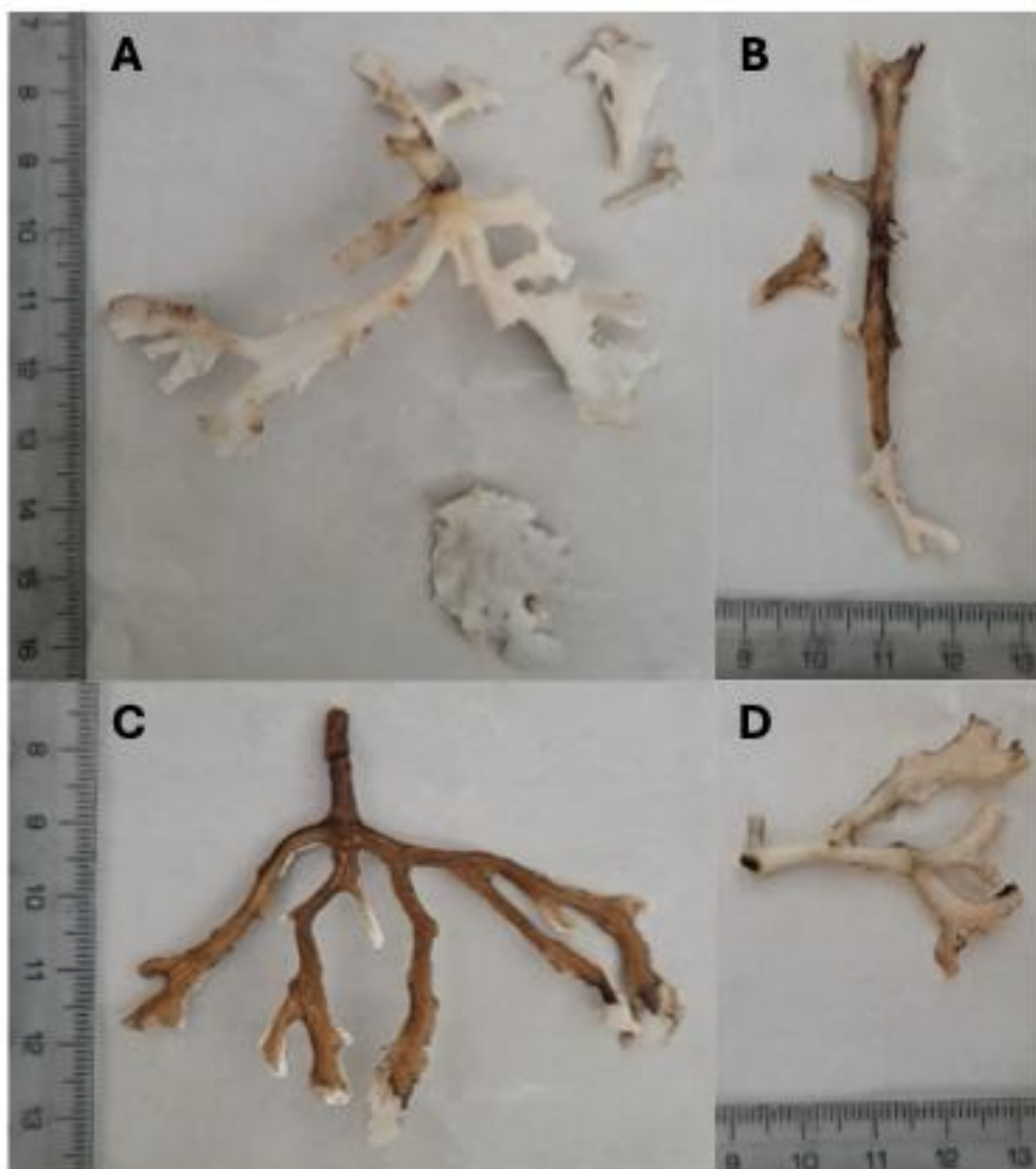


Figura 24. Morfologia degli ancoraggi. A) MW220 B) DST002 C) MS2421 D) DST001. Si noti la tipica morfologia lobata descritta dagli studiosi in passato. Queste strutture possiedono dalle 2 alle 5 ramificazioni principali, che poi si dividono ulteriormente in vari lobi allargati alle estremità., e la superficie superiore della struttura presenta gli stessi solchi fini riscontrati sugli internodi dello scheletro. I diametri sono vari: A) ha un diametro di 8,5 cm, B) ha diametro di 7,3 cm, C) ha diametro di 7,3 cm, infine, D) ha diametro di 4 cm (tuttavia metà di questo ancoraggio risulta assente).

4.2 Morfologia dei polipi

I polipi delle colonie esaminate sono sempre non retrattili e protetti da una rigida armatura di scleriti. Generalmente sono allineati in due file ai lati delle ramificazioni, sullo stesso piano in cui si sviluppa la colonia, con una distribuzione generalmente irregolare, che a tratti diventa opposta o alternata (Fig. 25); nelle immagini ROV, tutti i polipi sono rivolti verso lo stesso lato della colonia. In alcune colonie i polipi si distribuiscono in modo irregolare su tutti i lati delle ramificazioni, in particolar modo nella porzione più distale della colonia. Gli apici terminano generalmente con due o tre polipi. La densità media dei polipi lungo le ramificazioni è di $5,8 \pm 2,2$ (SD) polipi/cm ($n = 567$), ma esiste una ampia variabilità sia interna che tra i campioni, con valori massimi e minimi che vanno da 1,0 a 13,8 polipi/cm (Fig. 26a). L'ANOVA ad una via mostra che esistono differenze altamente significative tra le densità dei polipi nei campioni analizzati ($F = 27,19$, $p < 0.001$). Il test post-hoc di Tukey ha mostrato che queste differenze non sono uniformi tra tutti i campioni, ma si organizzano lungo un gradiente: alcuni campioni, come CDFN14, presentano valori significativamente più elevati, mentre altri, come MS2421, MW576 e MS2423, mostrano densità significativamente più basse; i restanti campioni si distribuiscono in gruppi intermedi con parziale sovrapposizione. L'analisi di clustering delle medie, condotta con il metodo ward.D2, ha permesso di distinguere tre gruppi morfologici principali, caratterizzati da densità dei polipi alta ($n=1$), intermedia ($n=7$) e bassa ($n=15$) (Fig. 26a). Nei campioni analizzati i polipi emergono dalle ramificazioni con una angolazione media di $57,7 \pm 27,0$ (SD) ° ($n = 883$). Nelle colonie analizzate l'inclinazione media varia tra $34,0^\circ$ e $85,0^\circ$ (Fig. 27a), con alcuni polipi che risultano completamente adagiati sull'asse e rivolti verso l'apice (0°) ed altri rivolti nella direzione opposta (180°). In generale, i polipi della zona apicale risultano maggiormente inclinati verso le estremità, mentre nelle zone centrali e basali divengono via via più ortogonali rispetto all'asse (Fig. 27b). L'ANOVA ad una via mostra che esistono differenze altamente significative nell'angolazione dei polipi tra alcuni campioni ($F = 12,56$, $p < 0.001$). Il test post-hoc di Tukey ha mostrato che i campioni con valori medi più elevati (ad esempio MW518 e MW071) tendono a differire significativamente da quelli con angolazioni più basse, mentre molte coppie di campioni non mostrano differenze statisticamente significative. L'analisi di clustering dei valori medi (metodo ward.D2) identifica tre gruppi morfologici principali, caratterizzati da angolazioni ortogonali ($n=4$), intermedie ($n=12$), o più inclinate verso gli apici ($n=7$) (Fig. 27a).



Figura 25. Variazioni nella distribuzione e nell'abbondanza dei polipi lungo le ramificazioni centrali di tre colonie: a) in alto, CDFN14, b) al centro, MER52B, c) in basso, MS2421.

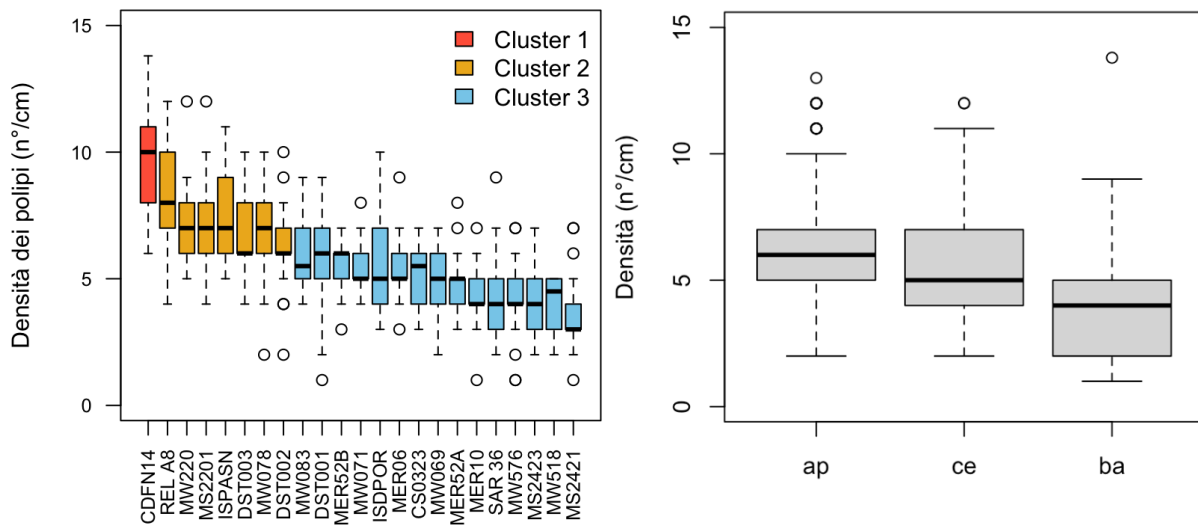


Figura 26. Analisi dell'abbondanza dei polipi lungo le ramificazioni. a) A sinistra, box plot della densità dei polipi (n°/cm) nelle 23 colonie analizzate. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da alta (Cluster 1), media (Cluster 2) e bassa (Cluster 3) densità. b) A destra, boxplot cumulativo della densità dei polipi nelle tre diverse porzioni (ap, apice; ce, centro; ba, base) delle colonie.

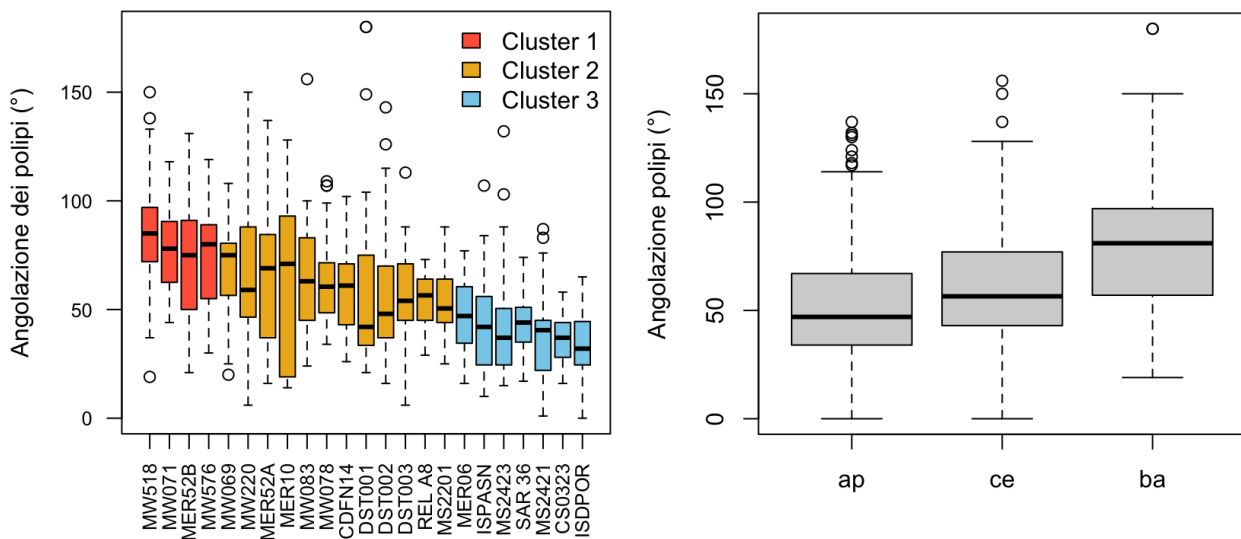


Figura 27. Analisi dell'orientamento dei polipi rispetto all'asse centrale. a) A sinistra, box plot dell'angolazione dei polipi (°) nelle 23 colonie analizzate. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da polipi prevalentemente ortogonali (Cluster 1), debolmente inclinati verso gli apici (Cluster 2) o a maggiore inclinazione (Cluster 3). b) A destra, boxplot cumulativo dell'angolazione dei polipi nelle tre diverse porzioni delle colonie (ap, apice; ce, centro; ba, base).

L'altezza media dei polipi dell'intero dataset ($n = 884$) è di $3,6 \pm 1,0$ (SD) mm, con valori minimi e massimi di 1,3 e 6,5 mm, rispettivamente. L'analisi della varianza (ANOVA) ha evidenziato differenze significative nell'altezza dei polipi tra alcune colonie analizzate ($F = 38.46$, $p < 0.001$). Il test di Shapiro-Wilk applicato ai residui non ha evidenziato deviazioni significative dalla normalità ($W = 0.997$, $p = 0.195$), confermando l'adeguatezza del modello. L'identità della colonia spiega circa il 50% della variabilità osservata nell'altezza dei polipi, indicando un effetto biologicamente rilevante. L'analisi di clustering dei valori medi (metodo ward.D2) identifica tre gruppi morfologici principali, caratterizzati da polipi mediamente grandi ($n=4$), di dimensioni intermedie ($n=12$), o di dimensioni più ridotte ($n=7$) (Fig. 28a). L'ANOVA mostra chiaramente che non ci sono differenze significative tra le tre porzioni della colonia ($F = 0.389$, $p = 0.678$) (Fig. 28b).

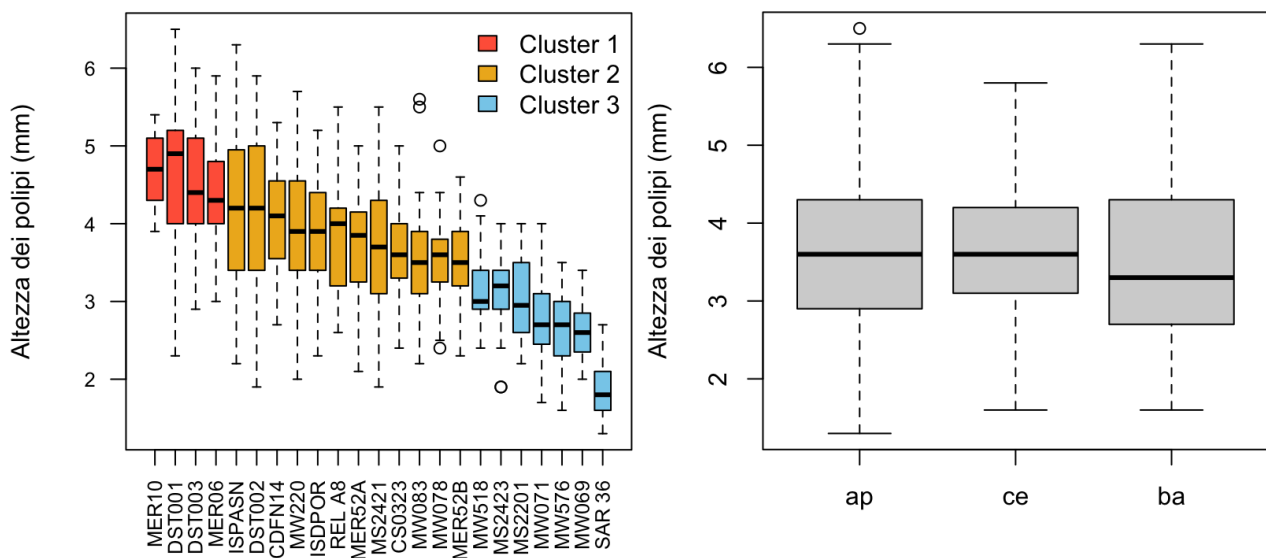


Figura 28. Analisi dell'orientamento dei polipi rispetto all'asse centrale. a) A sinistra, box plot dell'angolazione dei polipi ($^{\circ}$) nelle 23 colonie analizzate. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da polipi prevalentemente ortogonali (Cluster 1), debolmente inclinati verso gli apici (Cluster 2) o a maggiore inclinazione (Cluster 3). b) A destra, boxplot cumulativo dell'angolazione dei polipi nelle tre diverse porzioni delle colonie (ap, apice; ce, centro; ba, base).

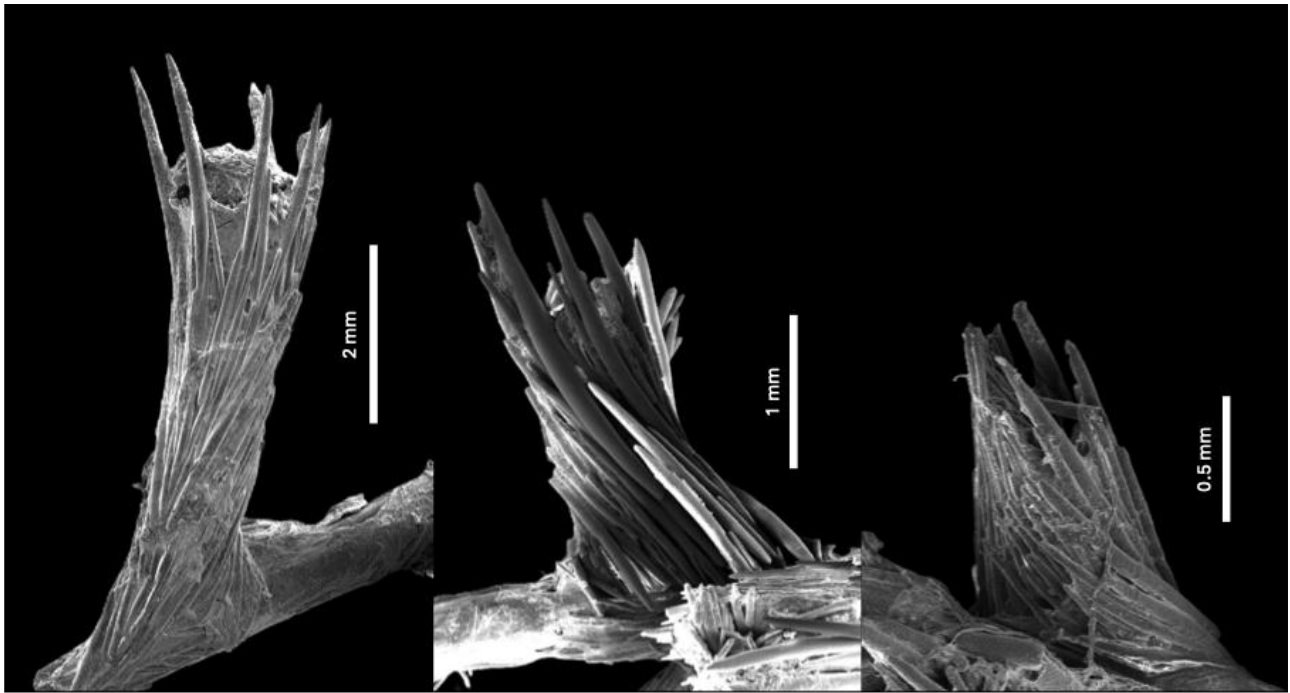


Figura 29. Polipi rappresentativi di diverse morfologie fotografati al microscopio elettronico a scansione. A sinistra (a) DST001, al centro (b) MW083, a destra (c) MW069.

Per studiare in maniera più approfondita la morfologia del polipo, è stato valutato il rapporto tra altezza e ampiezza della base nelle colonie 23 analizzate. In alcune colonie il valore medio di questo rapporto è particolarmente alto rispetto ad altre, suggerendo la presenza di polipi alti e slanciati (Fig. 29a). Ad esempio, in DST001 la media è di $4,1 \pm 1,5$ (SD), con valori minimi e massimi di 1,8 e 8,7. Al contrario, valori più bassi sono associati a polipi più corti e tozzi, come SAR036, che presenta una media di $1,4 \pm 0,3$ (SD), e valori minimi e massimi di 0,9 e 2,0. Una situazione analoga si osserva nei campioni MW069 (Fig. 29b, c) e MW576. I risultati dell'ANOVA indicano che esiste una differenza statisticamente significativa nella forma del polipo tra almeno alcuni dei campioni analizzati ($F = 22,8$, $p < 0,001$). La variabilità tra campioni (Mean Sq = 23,8) è circa 23 volte maggiore della variabilità residua (Mean Sq = 1,0), confermando che l'effetto è particolarmente consistente e non legato semplicemente all'elevato numero di osservazioni ($N = 884$). L'analisi post-hoc di Tukey ha evidenziato una struttura graduale delle differenze tra campioni, con DST001 e ISPASN che presentano i valori medi più elevati e SAR36 e MW576 che mostrano i valori più bassi. Diversi campioni occupano posizioni intermedie e condividono gruppi di omogeneità parzialmente sovrapposti, suggerendo una variazione continua della forma del polipo piuttosto che una netta separazione in categorie discrete. Il clustering gerarchico delle medie ha permesso di distinguere tre insiemi principali: colonie caratterizzate da polipi relativamente slanciati, colonie con morfologia intermedia e colonie con polipi più tozzi. Tuttavia, la distribuzione dei valori suggerisce l'esistenza

di un gradiente morfologico continuo piuttosto che una separazione netta in categorie distinte (Fig. 30).

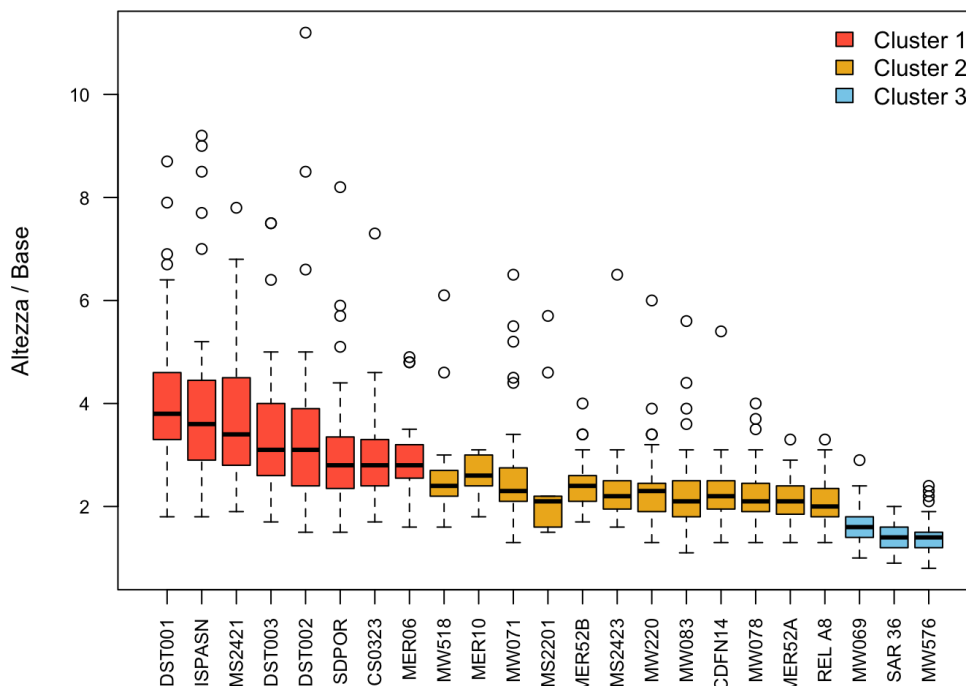


Figura 30. Analisi del rapporto tra altezza del polipo e larghezza misurata alla base nei 23 campioni analizzati. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da polipi alti e slanciati (Cluster 1), corti e tozzi (Cluster 3) o di forme intermedie (Cluster 2).

Mentre il rapporto tra l'altezza del polipo e la sua ampiezza basale fornisce una misura della sua architettura generale, il rapporto tra l'ampiezza misurata nella regione centrale e quella misurata alla base descrive il profilo della colonna. Valori prossimi a 1 indicano una forma pressoché cilindrica, mentre valori inferiori riflettono un progressivo restringimento della regione mediana, conferendo al polipo una morfologia più affusolata (*trumpet-shaped*) e un profilo concavo. Al contrario, valori superiori a 1 indicherebbero un allargamento della porzione centrale, associato a un profilo convesso. L'analisi di questo parametro ha evidenziato valori medi compresi tra $0,9 \pm 0,2$ (SD) nella colonia MW518 e $0,6 \pm 0,2$ (SD) nella colonia MW220. L'ANOVA ha mostrato differenze significative tra le colonie ($F = 7,12$; $p < 0,001$). Sebbene tali differenze siano meno marcate rispetto a quelle osservate per il rapporto altezza/base, l'identità della colonia spiega comunque una quota significativa della variabilità osservata. Le colonie MW518, MW078, MW071 e DST001 presentano i valori medi più elevati, indicativi di polipi dal profilo più uniforme o cilindrico, mentre ISDPOR e MW220 mostrano i valori più bassi, suggerendo un restringimento più accentuato della regione mediana. Anche in questo caso, il clustering gerarchico delle medie ha consentito di individuare tre insiemi principali; tuttavia, la distribuzione dei valori suggerisce l'esistenza di un gradiente morfologico continuo piuttosto che una separazione netta tra gruppi distinti (Fig. 31). È inoltre interessante notare come i

gruppi individuati sulla base di questo parametro non coincidano con quelli ottenuti utilizzando il rapporto altezza/base, indicando che i due indici descrivono aspetti differenti della morfologia del polipo.

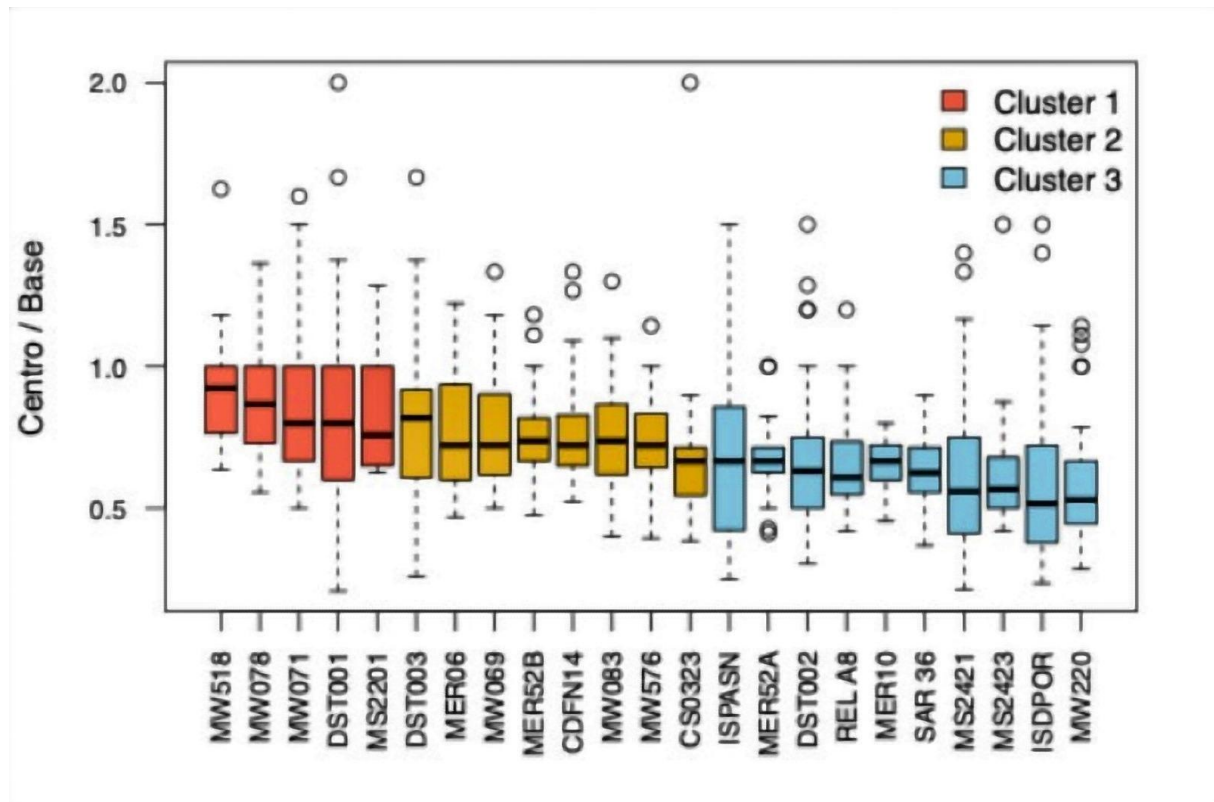


Figura 31. Analisi del rapporto tra larghezza del polipo misurata al centro e quella misurata alla base nei 23 campioni. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da polipi alti e slanciati (Cluster 1), corti e tozzi (Cluster 3) o di forme intermedie (Cluster 2).

L'altezza media della corona dei polipi dell'intero dataset ($n = 884$) è di $1,04 \pm 0,41$ (SD) mm, con valori minimi e massimi di 0,2 e 6,0 mm, rispettivamente. L'analisi della varianza (ANOVA) ha evidenziato differenze significative nell'altezza dei polipi tra alcune colonie analizzate ($F = 11,66$, $p < 0,001$). L'analisi di clustering dei valori medi (metodo ward.D2) identifica tre gruppi morfologici principali, caratterizzati da corone molto pronunciate (da 1,1 a 1,6 mm; $n=10$), di dimensioni intermedie (da 0,8 fino a circa 1,0 mm; $n=10$), oppure poco sviluppate (da 0,5 a 0,7 mm; $n=3$) (Fig. 32a). Le dimensioni dei caratteri dei polipi sono sostanzialmente omogenee lungo la colonia (Fig. 32b); l'ANOVA rileva una lieve differenza statistica, probabilmente favorita dall'elevato numero di osservazioni. ($F = 4.116$, $p = 0.017$).

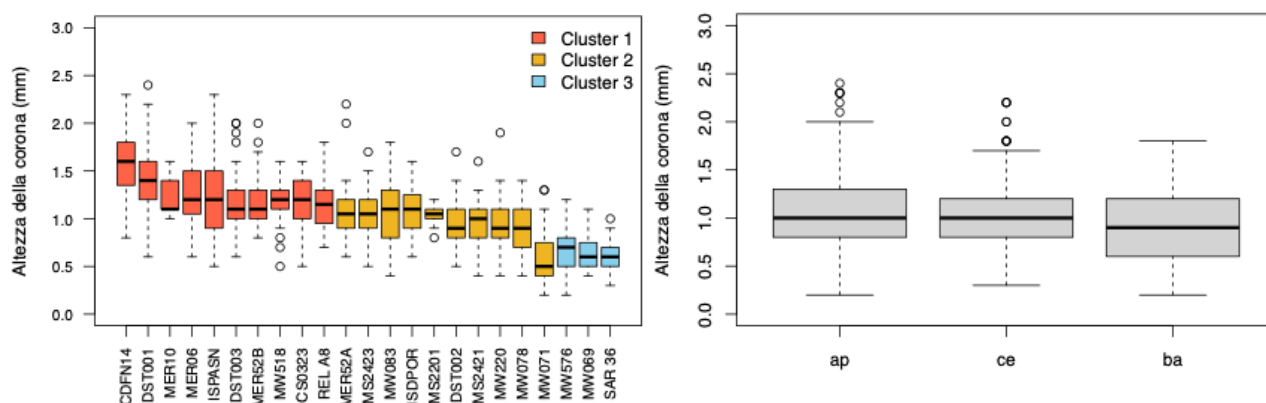


Figura 32. Analisi dell'altezza della corona. a) A sinistra, box plot dell'altezza della corona nelle 23 colonie analizzate. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da corone alte (Cluster 1), medie (Cluster 2) e basse (Cluster 3). b) A destra, boxplot cumulativo che illustra l'andamento di questo parametro nelle tre diverse porzioni delle colonie (ap, apice; ce, centro; ba, base).

L'analisi della PCA è stata effettuata considerando le seguenti variabili: altezza, altezza/diametro della base, diametro centro/diametro base, altezza della corona (Fig. 33).

Le prime due componenti principali spiegavano complessivamente l'83,6% della variabilità morfologica totale, con il 51,2% attribuito alla PC1 e il 32,4% alla PC2. La PC1 era principalmente associata all'altezza del polipo, al rapporto tra altezza e diametro basale e alla dimensione della corona, mentre la PC2 era soprattutto influenzata dal rapporto tra diametro centrale e basale. Il clustering gerarchico applicato alle coordinate medie delle colonie ha individuato tre principali gruppi morfologici.

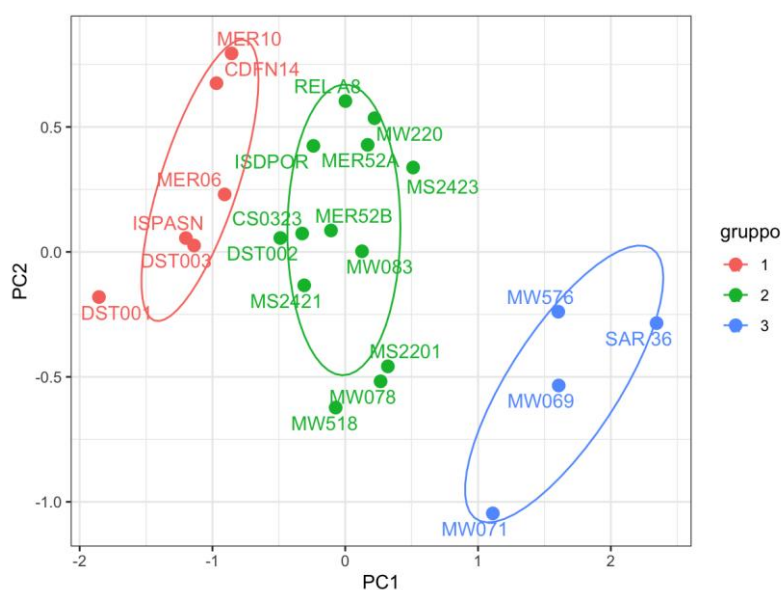


Figura 33. Analisi delle componenti principali (PCA) basata sui caratteri morfologici delle colonie analizzate. È evidente una chiara separazione dei tre gruppi morfologici, con il gruppo 1 (rosso) caratterizzato prevalentemente da valori negativi di PC1, il gruppo 2 (verde) in posizione intermedia e il gruppo 3 (blu) nettamente distinto lungo PC1.

n	ID	Densità (n/cm)	Angolo (°)	Altezza (mm)	Diam. base (mm)	Diam. centro (mm)	Diam. sup. (mm)	Altezza corona (mm)
1	DST001	5,8 ± 2,27	58,72 ± 8,24	4,68 ± 0,92	1,25 ± 0,43	1,22 ± 0,16	1,22 ± 0,2	1,37 ± 0,37
2	DST002	6,37 ± 1,59	57,39 ± 28,58	4,16 ± 0,97	1,36 ± 0,44	0,83 ± 0,20	1 ± 0,21	0,96 ± 0,22
3	DST003	6,72 ± 1,57	56,22 ± 21,33	4,47 ± 0,77	1,46 ± 0,54	1,03 ± 0,24	1,17 ± 0,25	1,2 ± 0,33
4	CDFN14	9,75 ± 1,73	60,53 ± 19,1	4,07 ± 0,67	1,83 ± 0,38	1,35 ± 0,21	1,29 ± 0,27	1,6 ± 0,35
5	MS2201	7,28 ± 1,81	53,9 ± 17,25	3,04 ± 0,55	1,41 ± 0,45	1,09 ± 0,21	1,07 ± 0,16	1,04 ± 0,13
6	CS0323	5,29 ± 1,33	35,88 ± 11,66	3,61 ± 0,64	1,26 ± 0,28	0,83 ± 0,17	0,89 ± 0,15	1,16 ± 0,25
7	REL A8	8,06 ± 2,07	53,98 ± 11,96	3,87 ± 0,73	1,93 ± 0,51	1,21 ± 0,17	1,19 ± 0,18	1,14 ± 0,26
8	SAR 36	4,38 ± 1,7	42,49 ± 12	1,87 ± 0,34	1,32 ± 0,22	0,83 ± 0,18	0,89 ± 0,18	0,58 ± 0,15
9	ISDPOR	5,37 ± 1,85	33,9 ± 14,72	3,89 ± 0,76	1,4 ± 0,44	0,74 ± 0,19	0,93 ± 0,23	1,05 ± 0,25
10	MW069	4,95 ± 1,46	67,87 ± 22,39	2,59 ± 0,36	1,67 ± 0,37	1,22 ± 0,15	1,19 ± 0,21	0,63 ± 0,18
11	MW071	5,39 ± 0,98	77,22 ± 18,82	2,77 ± 0,53	1,55 ± 0,42	1 ± 0,16	1,16 ± 0,2	0,85 ± 1,41
12	MW078	6,69 ± 1,91	62,85 ± 18,84	3,55 ± 0,52	1,68 ± 0,38	1,44 ± 0,23	1,42 ± 0,31	0,91 ± 0,26
13	MW083	5,83 ± 1,37	64,49 ± 25,63	3,56 ± 0,71	1,63 ± 0,35	1,2 ± 0,2	1,23 ± 0,22	1,05 ± 0,31
14	MW220	7,29 ± 1,68	66,81 ± 31,34	3,93 ± 0,8	1,79 ± 0,54	0,97 ± 0,22	1,04 ± 0,18	0,92 ± 0,28
15	MW518	4 ± 1,41	84,76 ± 32,31	3,17 ± 0,49	1,29 ± 0,28	1,17 ± 0,28	1,23 ± 0,28	1,17 ± 0,27
16	MW576	4,14 ± 1,41	74,11 ± 23,31	2,68 ± 0,47	1,96 ± 0,46	1,4 ± 0,24	1,34 ± 0,27	0,69 ± 0,25
17	ISPASN	8,24 ± 5,76	43,73 ± 23,15	4,24 ± 1	1,16 ± 0,37	0,7 ± 0,17	0,86 ± 0,2	1,21 ± 0,43
18	MS2421	3,52 ± 1,33	38,09 ± 18,51	3,7 ± 0,86	1,07 ± 0,36	0,59 ± 0,13	0,86 ± 0,19	0,93 ± 0,25
19	MS2423	4,11 ± 1,17	42,55 ± 24,74	3,12 ± 0,46	1,4 ± 0,34	0,82 ± 0,17	0,88 ± 0,15	1,06 ± 0,26
20	MER10	4,45 ± 1,18	65 ± 48,75	4,68 ± 0,6	1,86 ± 0,26	1,18 ± 0,11	1,14 ± 0,17	1,24 ± 0,25
21	MER06	5,35 ± 1,17	47,95 ± 17,17	4,38 ± 0,7	1,61 ± 0,49	1,18 ± 0,23	1,29 ± 0,21	1,23 ± 0,28
22	MER52A	4,62 ± 1,27	66,12 ± 31,28	3,72 ± 0,74	1,75 ± 0,28	1,16 ± 0,23	1,33 ± 0,26	1,06 ± 0,31
23	MER52B	5,62 ± 1,19	75,32 ± 28,03	3,53 ± 0,51	1,5 ± 0,28	1,12 ± 0,18	1,19 ± 0,16	1,19 ± 0,278

Tabella 2. Tabella riassuntiva dell'analisi dei polipi delle colonie considerate nel presente studio. Per ciascun carattere sono riportati il valore medio e la deviazione standard.

4.3 Variabilità degli scleriti

Nel corso del presente studio, sono stati osservati quattro tipi di scleriti, che corrispondono a *Needles* (A), *Needles* ramificati (B), *Rods* (C), *Rods* del faringe (D). I *Needles* sono caratterizzati da aspetto a fuso, allungato, con estremità più o meno appuntite; i *Needles* ramificati corrispondono alla stessa descrizione, ma riportano anomalie nella struttura, quali ramificazioni che gli donano un aspetto a forma di X o Y (queste sono, nella maggior parte dei casi, semplificazioni della loro forma, in quanto spesso le estremità sono irregolari o asimmetriche); i *Rods* sono scleriti più corti e smussati alle estremità; infine, i *Rods* del faringe sono *Rods* più piccoli, più sottili e ornamentati in modo leggermente diverso. L'analisi al SEM ha permesso di osservare che in tutti i campioni, la superficie di tutti i tipi di scleriti risulta finemente granulata.

I *Needles* della parete del polipo e della corona (A) (Fig. 34) presentano una lunghezza che varia da 0,26 a 4,62 mm, con la maggior parte delle misurazioni comprese tra 0,75 (Q1) e 1,51 (Q3) mm e una media totale ($n = 2200$) di $1,21 \pm 0,62$ (DS) mm. Nelle diverse colonie il valore medio varia da $1,86 \pm 0,81$ (DS) mm a $0,76 \pm 0,30$ (DS) mm. Essi possono sviluppare estremità bilobate, appiattite, ristrette, allargate (Fig. 35). Si ipotizza che la forma bilobata possa essere utile a stabilizzarsi con altri scleriti nel corpo del polipo o nella sua corona. L'ANOVA a una via ha evidenziato differenze significative nella taglia di questi scleriti tra le colonie ($F = 15,34$; $p < 0,001$).

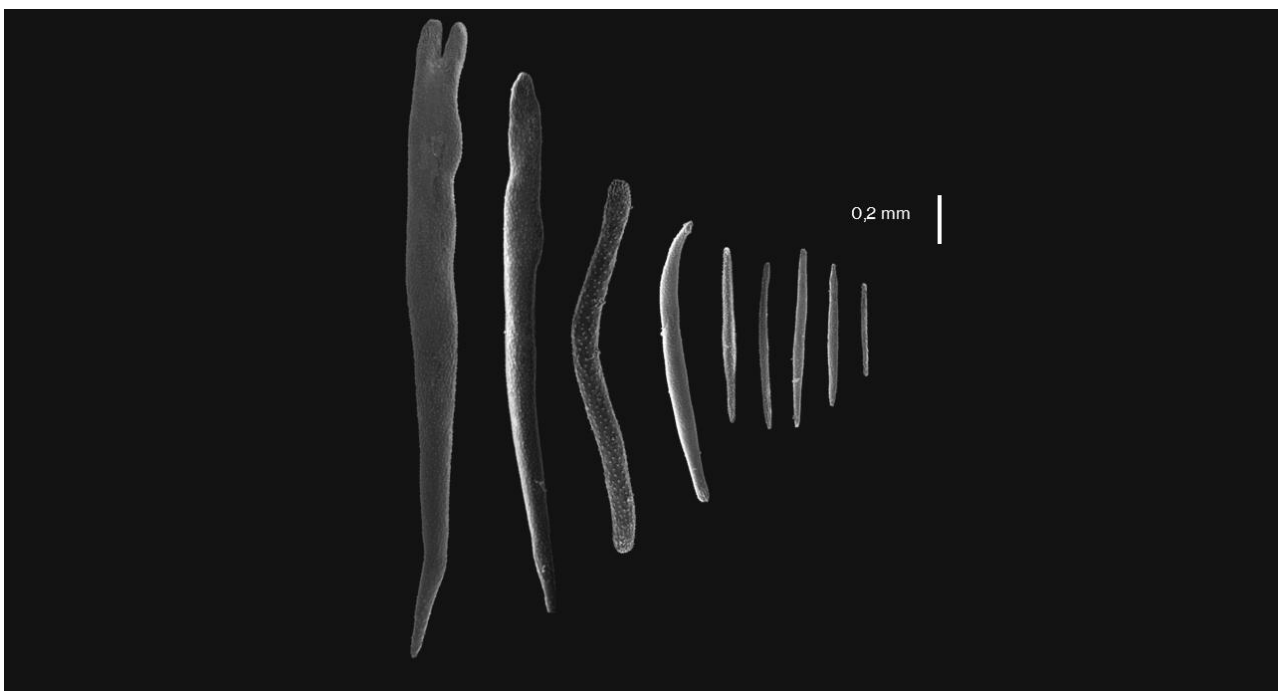


Figura 34. Tavola rappresentativa della variabilità morfologica dei *Needles* della parete del polipo e della corona (tipo A), reperiti da vari campioni della collezione. Le immagini sono state acquisite al SEM.

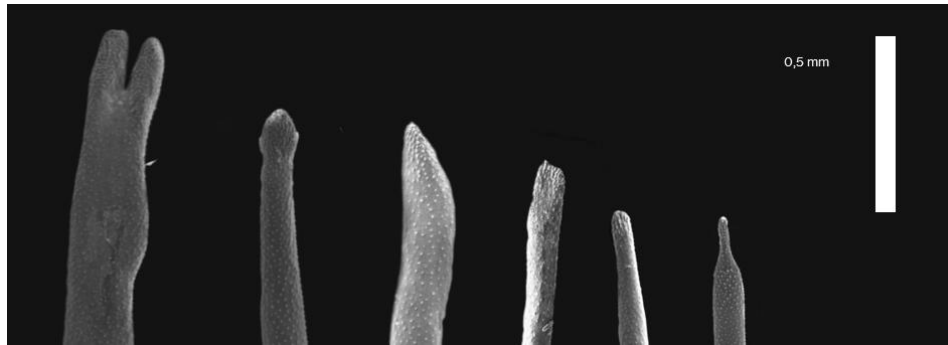


Figura 35. Immagine rappresentativa della variabilità morfologica delle estremità dei *Needles*. Le immagini sono state acquisite al SEM.

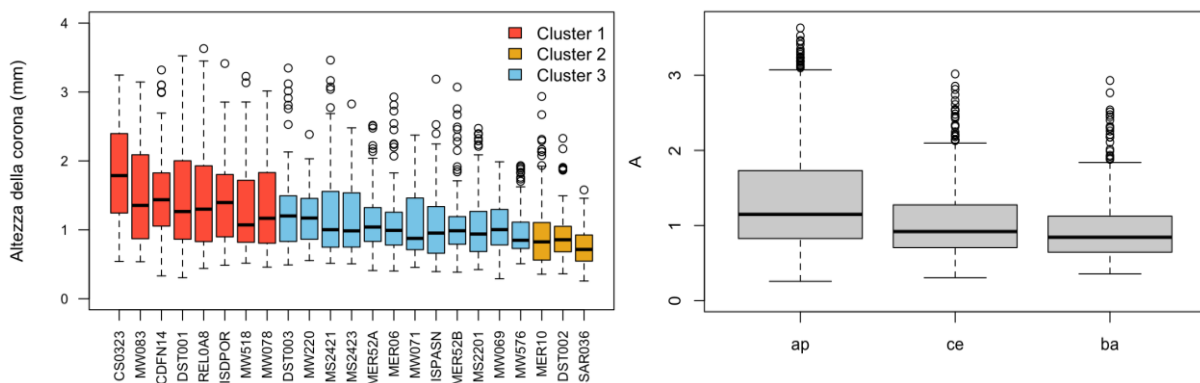


Figura 36. Analisi della lunghezza dei *Needles*. a) A sinistra, box plot della lunghezza misurata attraverso l'altezza della corona nelle 23 colonie analizzate. I tre clusters identificano gruppi di colonie caratterizzati da corone alte (Cluster 1), medie (Cluster 2) e basse (Cluster 3). b) A destra, boxplot cumulativo che illustra la variazione di lunghezza dei *Needles* nelle tre diverse porzioni delle colonie (ap, apice; ce, centro; ba, base).

Dall'analisi della loro lunghezza sono emersi tre clusters, le cui differenze si dispongono su un gradiente piuttosto omogeneo. Inoltre, nelle porzioni della colonia, si nota una differenza imputabile alla dispersione dei dati attorno alla media, piuttosto che alle medie stesse (Fig. 36a, b)

I *Needles* ramificati (B) presentano una lunghezza compresa tra 0,02 e 3,43 mm, principalmente distribuita tra 0,08 (Q1) e 0,13 (Q3) mm, con una media totale ($n=1448$) di $0,15 \pm 0,23$ (DS) mm. Nelle diverse colonie il valore medio varia da $0,09 \pm 0,04$ (DS) mm a $0,24 \pm 0,43$ (DS) mm con alcuni scleriti che possono raggiungere dimensioni di 3,43 mm (Fig. 37, 38a). Lungo la colonia non si hanno differenze di lunghezza significative (Fig. 38b). Si crede che posseggano questo aspetto per incastrarsi meglio con altri scleriti e aumentare la solidità dello scleroma, ma si ipotizza anche che possano essere frutto di errori commessi a causa di stressori ambientali come pH, temperatura (ciò potrebbe spiegare la ragione delle abbondanze diverse tra campioni), forme risultanti da riparazioni degli scleriti stessi, o semplici fusioni accidentali.



Figura 37. Tavola che mostra l'aspetto e la variabilità dei *Needles* ramificati all'interno dei campioni. A sinistra troviamo scleriti più rari e più grandi, di aspetto simile ai normali *Needles* del polipo; a destra si trovano scleriti molto più piccoli (dimensioni spesso riconducibili a *Rods* del faringe), ma estremamente comuni, tutte le colonie ne erano dotate. Le immagini sono state acquisite al microscopio ottico.

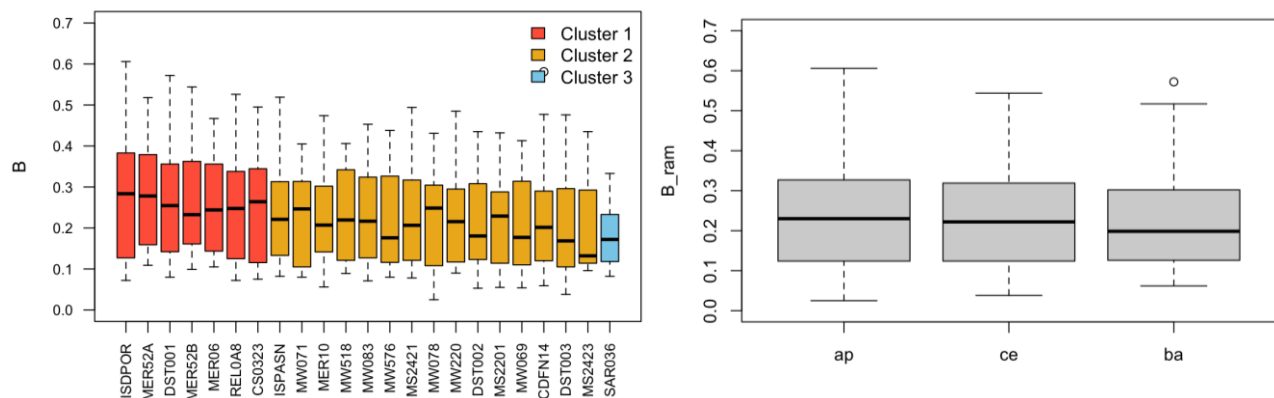


Figura 38. Analisi della lunghezza dei *Needles* ramificati. a) A sinistra si trova il grafico boxplot riferito alle lunghezze nei singoli campioni, che mostra tre cluster debolmente separati; b) a destra troviamo grafico boxplot cumulativo delle lunghezze dei *Needles* ramificati nelle porzioni delle colonie (ap, apice; ce, centro; ba, base). Non si riscontrano differenze significative. Per facilitare la visualizzazione delle differenze tra i campioni, l'intervallo dell'asse y è stato limitato in entrambi i grafici, con la conseguente esclusione grafica di alcuni valori *outlier*

I *Rods* (C), sono caratterizzati da un aspetto meno slanciato dei *Needles*, e dimensioni generalmente inferiori. Essi si presentano come piccoli bastoncini con estremità molto arrotondate, e talvolta possono essere incurvati o avere estremità di misure differenti (Fig. 39). Si rinvenivano nella parete del polipo, dei tentacoli e del cenenchima, praticamente sull'intera colonia, mantenendo sempre lo stesso aspetto (sono quindi indistinguibili tra zone diverse dell'animale), motivo per cui non sono state fatte distinzioni nella fase di rilevamento dati. Essi hanno una lunghezza che varia da 0,03 a 1,13 mm, con la maggior parte delle misurazioni comprese tra 0,12 (Q1) e 0,32 (Q3) mm e una media calcolata su tutto il dataset ($n = 2198$) di $0,23 \pm 0,11$ (DS) mm. Nelle diverse colonie il valore medio varia da $0,18 \pm 0,07$ (DS) mm a $0,28 \pm 0,12$ (DS) mm. Le loro lunghezze sono molto simili tra tutti i campioni e le porzioni delle colonie, per questo non sono stati creati grafici boxplot.

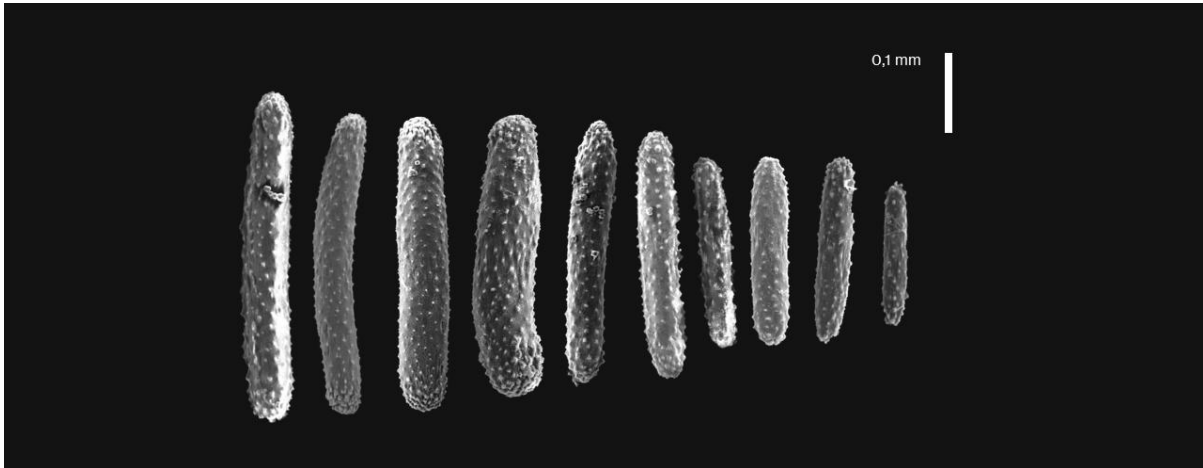


Figura 39. Tavola che mostra l'aspetto e la variabilità dei *Rods* tra i campioni. Si noti la forma più compatta rispetto ai *Needles*, e la relativa somiglianza nella foggia e nella lunghezza. Le immagini sono state acquisite al SEM.

I *Rods* del faringe (D), sono caratterizzati da forma simile ai *Rods* normali, ma un aspetto lievemente più snello, superficie maggiormente ornata (meno porosa ma dotata spesso di incisioni fitte e longitudinali) e dimensioni piuttosto ridotte, solitamente inferiori a 0,12 mm (Fig. 40). Questi scleriti hanno una lunghezza che varia da 0,03 a 0,44 mm, con la maggior parte delle misurazioni comprese tra 0,06 (Q1) e 0,08 (Q3) mm e una media globale ($n = 510$) di $0,07 \pm 0,02$ (DS) mm. Nelle diverse colonie il valore medio varia da $0,06 \pm 0,01$ (DS) mm a $0,09 \pm 0,09$ (DS) mm. Anche in questo caso, le loro lunghezze sono molto simili tra tutti i campioni e le porzioni delle colonie, e neanche per questo tipo di scleriti sono stati creati grafici boxplot.

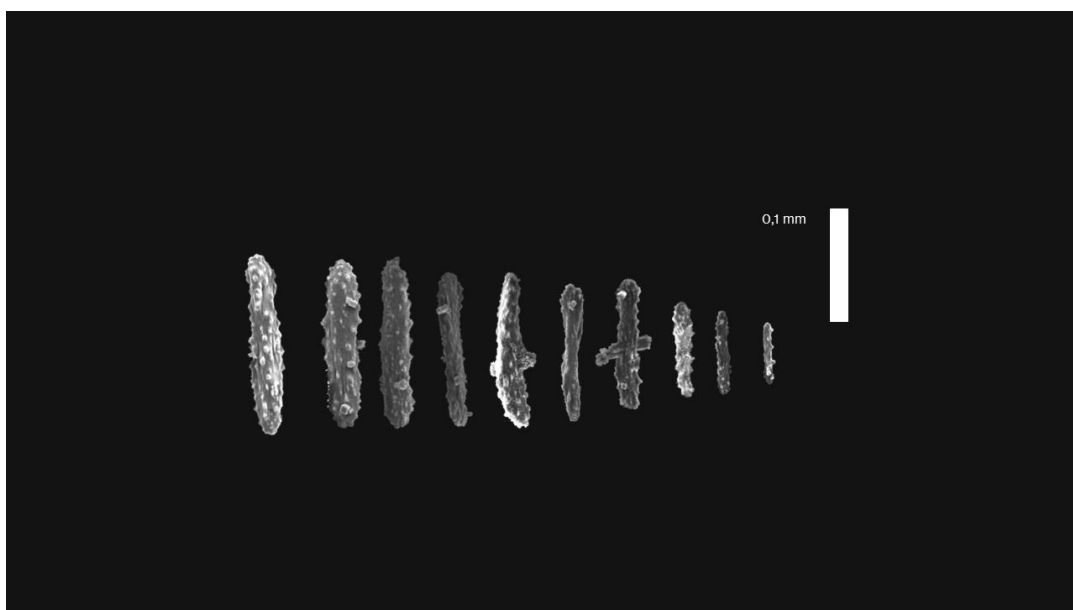


Figura 40. Tavola che mostra l'aspetto e la variabilità dei *Rods* del faringe tra le colonie. Si noti anche qui la relativa similarità tra le lunghezze, gli ornamenti sulla superficie degli scleriti, e la presenza di alcuni scleriti ramificati. Le immagini sono state acquisite al SEM.

L'analisi della PCA (Fig. 41) è stata effettuata considerando le lunghezze dei quattro tipi di scleriti. Le prime due componenti principali spiegano complessivamente il 57,2% della variabilità morfologica totale, con il 30,6% attribuito alla PC1 e il 26,5% alla PC2. La PC1 è principalmente associata alla lunghezza dei *Needles* di tipo (A) e dei *Rods* di tipo (C), mentre la PC2 è soprattutto influenzata dalla lunghezza dei *Rods* del faringe e, in misura secondaria, dalla lunghezza dei *Needles* di tipo A. Nel piano definito dalle prime due componenti, i tre gruppi individuati mediante clustering risultano chiaramente separati. Il gruppo 3 occupa valori positivi di PC1 e si caratterizza quindi per dimensioni relativamente ridotte dei *needles* della parete, dei *needles* ramificati e dei *rods*. La separazione tra i gruppi 1 e 2 avviene invece principalmente lungo PC2, indicando un ruolo rilevante della lunghezza dei *rods* faringei nella loro discriminazione.

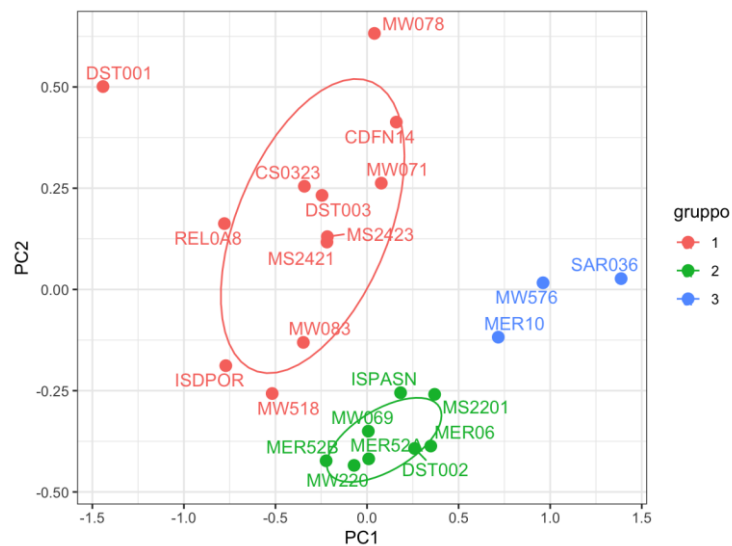


Figura 41. Grafico dell'analisi di PCA relativo alle misure degli scleriti. Si distinguono nettamente tre gruppi morfologici, delineati principalmente lungo la PC1, cioè dalla lunghezza dei *Needles* di tipo A e dei *Rods* del polipo

n	ID	A lenght (mm)	B length (mm)	C lenght (mm)	D lenght (mm)
1	DST001	1,480 ± 0,790	0,240 ± 0,370	0,260 ± 0,120	0,080 ± 0,010
2	DST002	0,900 ± 0,330	0,140 ± 0,120	0,210 ± 0,100	0,070 ± 0,010
3	DST003	1,270 ± 0,580	0,210 ± 0,310	0,210 ± 0,110	0,080 ± 0,040
4	CDFN14	1,480 ± 0,630	0,130 ± 0,360	0,210 ± 0,100	0,080 ± 0,020
5	MS2201	1,050 ± 0,500	0,140 ± 0,170	0,210 ± 0,100	0,070 ± 0,020
6	CS0323	1,860 ± 0,810	0,110 ± 0,100	0,240 ± 0,120	0,060 ± 0,010
7	REL A8	1,460 ± 0,770	0,180 ± 0,370	0,240 ± 0,120	0,070 ± 0,010
8	SAR 36	0,760 ± 0,300	0,120 ± 0,110	0,180 ± 0,070	0,080 ± 0,020
9	ISDPOR	1,430 ± 0,630	0,190 ± 0,240	0,280 ± 0,160	0,070 ± 0,010
10	MW069	1,050 ± 0,420	0,120 ± 0,100	0,210 ± 0,110	0,070 ± 0,020
11	MW071	1,110 ± 0,530	0,130 ± NA	0,230 ± 0,110	0,070 ± 0,010
12	MW078	1,360 ± 0,670	0,170 ± 0,240	0,220 ± 0,110	0,090 ± 0,090
13	MW083	1,520 ± 0,730	0,110 ± 0,090	0,220 ± 0,110	0,070 ± 0,010
14	MW220	1,210 ± 0,440	0,110 ± 0,110	0,210 ± 0,100	0,060 ± 0,010
15	MW518	1,360 ± 0,750	0,210 ± 0,190	0,220 ± 0,110	0,070 ± 0,020
16	MW576	0,990 ± 0,410	0,110 ± 0,060	0,220 ± 0,120	0,080 ± 0,020
17	ISPASN	1,100 ± 0,570	0,130 ± 0,080	0,230 ± 0,110	0,070 ± 0,010
18	MS2421	1,210 ± 0,600	0,240 ± 0,430	0,220 ± 0,110	0,080 ± 0,020
19	MS2423	1,190 ± 0,560	0,120 ± 0,190	0,200 ± 0,110	0,070 ± 0,010
20	MER10	0,930 ± 0,510	0,100 ± 0,060	0,230 ± 0,100	0,080 ± 0,010
21	MER06	1,110 ± 0,530	0,130 ± 0,120	0,250 ± 0,110	0,080 ± 0,010
22	MER52A	1,120 ± 0,470	0,090 ± 0,040	0,280 ± 0,120	0,070 ± 0,010
23	MER52B	1,090 ± 0,53	0,160 ± 0,220	0,260 ± 0,110	0,070 ± 0,020

Tabella 3. Tabella riassuntiva dell'analisi degli scleriti nelle colonie considerate nel presente studio. Per ciascun carattere sono riportati il valore medio e la deviazione standard.

4.4 Analisi filogenomiche

L'analisi filogenomica basata sugli UCE evidenzia che tutti gli esemplari mediterranei analizzati formano un unico clade ben distinto rispetto alle popolazioni atlantiche di *Acanella* (Fig. 42). All'interno di questo clade mediterraneo il supporto dei nodi risulta generalmente basso e non evidenzia alcuna suddivisione corrispondente alle differenti morfologie coloniali o alle specie nominali considerate (*Isidella elongata*, *Acanella furcata*, *A. arbuscula*). Il clade mediterraneo comprende anche un esemplare identificato come *Acanella arbuscula*, probabilmente riconducibile al materiale tipo, sebbene questo campione debba essere interpretato con cautela a causa del ridotto numero di loci UCE recuperati.

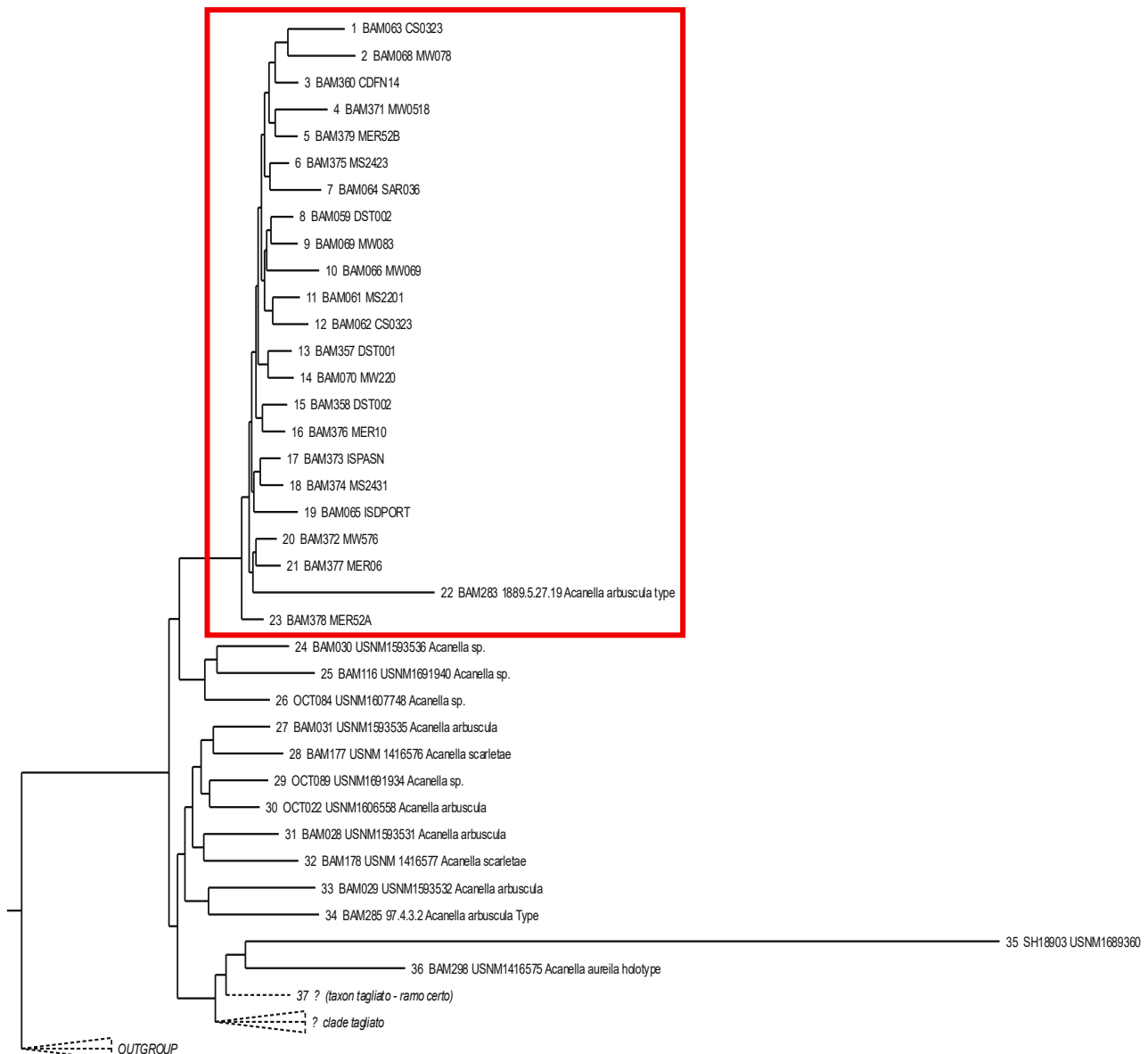


Figura 42. Albero filogenomico ottenuto dai loci UCE. Tutti gli esemplari mediterranei formano un unico clade distinto dalle popolazioni atlantiche di *Acanella*. All'interno del clade mediterraneo non emergono sottogruppi corrispondenti alle differenti morfologie coloniali o alle specie nominali storicamente riconosciute.

Le analisi di struttura genetica confermano questi risultati. L'analisi STRUCTURE individua come valore ottimale $K = 3$, tuttavia tale suddivisione riflette principalmente l'elevata eterozigosi all'interno degli individui piuttosto che la presenza di differenti gruppi genetici. Analogamente, la DAPC supporta la presenza di un unico gruppo genetico.

L'analisi del gene mitocondriale mtMutS evidenzia una bassissima divergenza genetica tra gli esemplari mediterranei. Tutti i campioni condividono infatti lo stesso aplotipo o aplotipi strettamente correlati e risultano molto simili anche ad alcuni esemplari atlantici di *Acanella*. La rete aplotipica non mostra quindi alcuna struttura compatibile con la presenza di più specie nel Mediterraneo.

Infine, anche le sequenze del gene nucleare 28S risultano congruenti con le analisi filogenomiche e non forniscono evidenze a supporto della presenza di differenti entità tassonomiche all'interno del materiale mediterraneo.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La tassonomia dei Keratoisididi è stata profondamente rivisitata negli ultimi anni, mostrando che i caratteri morfologici usati tradizionalmente per la distinzione e descrizione di generi e specie, spesso siano inappropriati poiché non riflettono necessariamente le relazioni filogenetiche all'interno del clade (Morissey et al., 2023; Watling, 2020; Saucier et al., 2021). Nel Mediterraneo queste incertezze ricadono principalmente sulla ricchezza specifica dei coralli bambù e lo *status* tassonomico di *Isidella elongata*, storicamente considerata la specie preponderante (o l'unica presente) nel bacino. Inoltre, la sua distinzione dal genere *Acanella* rimane incerta tutt'oggi (Saucier et al., 2017). Questo studio mira ad affrontare, attraverso un approccio di tassonomia integrata, suddetta problematica, confrontando i dati di variabilità ottenuti dalle analisi morfologiche con i risultati ottenuti dalle analisi molecolari.

5.1 Variabilità morfologica e valore diagnostico dei caratteri

Le colonie analizzate si presentano come fortemente plastiche e variabili, dal punto di vista morfologico. Queste caratteristiche si trovano a più livelli di complessità. Caratteri quali la forma della colonia, il colore, il pattern delle ramificazioni mostrano variazioni significative tra i campioni. Talvolta sono state anche osservate ramificazioni internodali (Fig. 14), mostrando quindi che anche caratteri storicamente usati per la distinzione di generi possa presentare delle aberrazioni. Tali osservazioni forniscono supporto alle recenti scoperte sul valore diagnostico di questi caratteri macroscopici delle colonie, che si rivela limitato.

Anche nei caratteri dei polipi si riscontra una notevole variabilità, essi si presentano come parte di un gradiente di dimensioni delimitato da due estremi: polipi cilindrici e relativamente corti, (comparabili con la morfologia originariamente attribuita a *Isidella*) e polipi alti e slanciati, più o meno svasati alla base (più simili alle descrizioni originali di *Acanella*). Entrambi gli estremi sono dotati di una corona di scleriti che si estendono oltre i tentacoli retratti. Talvolta polipi di tipi diversi lungo questo gradiente possono trovarsi sulla stessa colonia. Nonostante siano stati individuati dei clusters lungo questo continuum, sarebbe più appropriato riferirsi ad essi come gruppi fittizi, proprio a causa del fatto che si trovano distribuiti lungo un gradiente, e non posseggono confini morfologici ben chiari che possano separarli. Le differenze semplicemente si accentuano quanto più si osservano colonie lontane tra loro su questo gradiente.

Per quanto riguarda gli scleriti si presenta un quadro analogo. I campioni dello studio differiscono per abbondanze relative dei tipi di scleriti e le loro dimensioni, ma non si distinguono categorie discrete che possano ricondurre a diverse entità tassonomiche. Di particolare importanza sono gli scleriti ramificati, presenti in tutti i campioni, riportati anche in letteratura (Koch, 1887; Morrissey et al., 2023; Saucier et al., 2017). Le analisi multivariate mostrano inoltre che la variabilità osservata non è completamente casuale: analisi di PCA e clustering mostrano gruppi distinti in base alle combinazioni di caratteri considerati, della colonia, dei polipi, e degli scleriti. Sono quindi presenti colonie simili sotto alcuni aspetti, ma dissimili per altri caratteri. Ciò non implica quindi l'esistenza di diverse entità tassonomiche, ma evidenzia comunque una strutturazione della variabilità morfologica dei campioni analizzati.

5.2 Confronto tra evidenze morfologiche e molecolari

La variabilità morfologica assume un particolare significato se confrontata con i risultati delle analisi molecolari. Le analisi filogenetiche basate sugli UCE collocano tutti gli esemplari mediterranei in un unico clade, attribuibile al genere *Acanella*, distinto dalle popolazioni atlantiche con cui è stato messo a confronto. All'interno del clade mediterraneo non vi sono suddivisioni che riflettano le differenze morfologiche. Le analisi basate sui marcatori tradizionali sono in linea con quanto riportato precedentemente: il gene mtMutS mostra una divergenza molto ridotta tra le colonie di questo studio, che condividono lo stesso aplotipo o aplotipi strettamente correlati, mentre il gene 28S non supporta l'esistenza di più entità tassonomiche.

Anche le analisi della struttura genetica convergono verso la stessa conclusione: la DAPC supporta un unico gruppo genetico, e la suddivisione individuata da STRUCTURE (un tipo di analisi di clustering) pare non essere compatibile con l'esistenza di specie distinte. Il confronto tra i due tipi di analisi, morfologica e molecolare, rivela un aspetto estremamente importante dello studio: i diversi gruppi morfologici individuati dalla variabilità dei caratteri non trovano corrispondenza e congruenza nella analisi molecolari.

I risultati suggeriscono quindi che il quadro presentato sia un caso di variabilità intraspecifica piuttosto che l'esistenza di diverse linee evolutive nel Mediterraneo. Le cause di questa variabilità non possono essere comprese da questo studio, ma si possono imputare a differenze tra popolazioni diverse, adattamenti alle condizioni ambientali, plasticità fenotipica e un possibile processo di speciazione in entità tassonomiche differenti del lineage atlantico di *Acanella* da poco iniziato, dopo essere entrato nel Mediterraneo. Per indagare a fondo le cause e il contributo di questi fattori, sono necessari altri studi.

5.3 Implicazioni tassonomiche

La discrepanza tra la variabilità morfologica notevole e l'omogeneità genetica ha importanti implicazioni per l'interpretazione tassonomica delle popolazioni di coralli bambù nel Mediterraneo. I risultati ottenuti non supportano l'attribuzione delle differenti morfologie a specie o generi distinti, bensì riconducono tutti gli esemplari al genere *Acanella*. Questo risultato è particolarmente importante per lo status di *Isidella elongata*. Alcuni esemplari di questo studio presentano caratteri compatibili con la descrizione storica di *Isidella* (SAR036; MW576), mentre altri presentano caratteri maggiormente riconducibili al genere *Acanella*. I risultati ottenuti mostrano che i campioni morfologicamente riconducibili a *I. elongata* non costituiscono una linea evolutiva separata da *Acanella*, mettendo ulteriormente in discussione l'esistenza di *I. elongata* come entità tassonomica distinta. Nel caso in cui studi futuri potessero dimostrare l'inesistenza di questa specie, si può optare per il mantenimento del genere *Acanella* per delineare questo nuovo lineage mediterraneo. Per poter chiarire questi dubbi riguardanti la sua identità ed effettiva esistenza, sarebbe necessario estendere questo studio all'intero bacino mediterraneo, e confrontare tramite analisi molecolari (utilizzando sempre i marcatori utilizzati nel presente studio) e morfologiche i campioni raccolti con il materiale museale attribuito a *Isidella elongata*, e successivamente confrontare entrambi con materiale appartenente ad *Acanella*.

Una definitiva risoluzione della sua posizione tassonomica rimane comunque complicata anche dalla storia della specie stessa: le descrizioni passate e le eventuali revisioni si sono spesso basate su materiale incompleto o di provenienza incerta, mentre il materiale tipo non è disponibile (Esper, 1791; Koch 1878; Lamouroux 1816). Ciò limita la possibilità di associare la specie a una delle linee evolutive individuate nelle analisi molecolari moderne.

5.4 Limiti dello studio e prospettive future

Alcune caratteristiche del materiale disponibile hanno imposto limitazioni alle analisi morfologiche: numerose colonie erano incomplete o rappresentate da pochi frammenti, spesso privi della base o di porzioni rilevanti, rendendo impossibile una valutazione uniforme di tutti i caratteri macroscopici. Inoltre, alcuni caratteri come ad esempio l'altezza della corona o il diametro basale dei polipi presentano margini di incertezza nella misurazione, a causa dell'assenza di limiti anatomici che

fossero sempre riconoscibili. Questi aspetti devono essere considerati nell'interpretazione della variabilità osservata, benché non modifichino il quadro generale tratto dall'integrazione delle analisi morfologiche e molecolari.

Per chiarire definitivamente la diversità della famiglia Keratoisididae mediterranei sarà necessario ampliare il campionamento, includendo altri popolamenti mediterranei ed atlantici. Sarà inoltre importante il confronto con il materiale museale delle specie nominali attribuite ad *Acanella* e *Isidella*. Una revisione complessiva del genere *Acanella*, basata sempre su un approccio integrato utilizzando i caratteri morfologici tradizionali, permetterebbe inoltre di individuare quali caratteri possiedano un effettivo valore diagnostico e di definire in modo più dettagliato i limiti delle specie. Nel complesso, i risultati di questo studio mostrano come l'elevata variabilità morfologica dei coralli bambù mediterranei non corrisponda necessariamente ad un'equivalente varietà tassonomica. L'integrazione di analisi morfologiche e molecolari rivela l'esistenza di una sola linea evolutiva per il Mediterraneo, attribuibile ad *Acanella*, e non mostra evidenza a sostegno della distinzione di *Isidella elongata* come entità distinta nel materiale utilizzato. Il caso di studio dei Keratoisididae mediterranei rappresenta quindi un esempio particolarmente significativo della necessità di integrare più fonti di evidenza nella delimitazione delle specie, particolarmente in gruppi caratterizzati da una forte variabilità morfologica e da una complessa storia tassonomica.

BIBLIOGRAFIA

Bayer, F. M. "A new isidid octocoral (Anthozoa: Gorgonacea) from New Caledonia, with descriptions of other new species from elsewhere in the Pacific Ocean." (1990).

Carbonara, P., Zupa, W., Follesa, M. C., Cau, A., Capezzuto, F., Chimienti, G., ... & Maiorano, P. "Exploring a deep-sea vulnerable marine ecosystem: *Isidella elongata* (Esper, 1788) species assemblages in the Western and Central Mediterranean. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers", 166, 103406 (2020).

Carpine, C. "Contribution à la connaissance des gorgones holaxonia de la Méditerranée occidentale." *Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco*, vol. 60, no. 1270, pp. 1–52 (1963).

Carpine, C., and Manfred G. "Les gorgonaires de la Méditerranée." *Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco* 1430 (1975).

Esper, E.J.C. "Die Pflanzenthier in Abbildungen nach der Natur mit Farben erleuchtet, nebst Beschreibungen. Raspischen Buchhandlung", Nurnberg. 1: 1-320. (1791)., available online at <https://www.biodiversitylibrary.org/page/50843132>

Gray, John, E. "NOTICE OF A NEW SPECIES OF JAGUAR FROM MAZATLAN, LIVING IN THE GARDENS OF THE ZOOLOGICAL SOCIETY." *Proceedings of the Zoological Society of London*, vol. 1857, pp. 278--278, <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1857.tb01243.x>. (1857).

Gray, J. "Catalogue of Lithophytes or Stony Corals in the Collection of the British Museum." *Catalogue of Lithophytes or Stony Corals in the Collection of the British Museum*, Printed by order of the Trustees, pp. 1--55, <https://www.biodiversitylibrary.org/part/119045>, (1870).

Heestand Saucier, E. "Phylogenetic studies of the deep-sea bamboo corals (Octocorallia: Isididae: Keratoisidinae)". PhD Dissertation, University of Louisiana, Lafayette, Louisiana, 410 pp. (2016)

Heestand Saucier, E. et al. "A taxonomic review of the genus *Acanella* (Cnidaria: Octocorallia: Isididae) in the North Atlantic Ocean, with descriptions of two new species." *Zootaxa* 4323.3 (2017): 359-390. (2017)

Heestand Saucier, E. et al. "Toward a revision of the bamboo corals: Part 3, deconstructing the Family Isididae". *Zootaxa*, 5047(3), 247-272 (2021).

Johnson, James Y. *Zoological Society of London. and Zoological Society of London. "Proceedings of the Zoological Society of London". Academic Press, [etc.], p. i. (1862)*

Koch, G. von. "Die gorgoniden des golfes von Neapel, und der angrenzenden meeresabschnitte". *Erster theil einer monographie der Anthozoa Alcyonaria. R. Friedlander & sohn*, p. 52, <https://www.biodiversitylibrary.org/page/13655832> (1887).

Kükenthal, Willy G. "*Gorgonaria*". G. Fischer, (1919).

Kükenthal, Willy G. “*Coelenterata: Gorgonaria, aus: das Tierreich: eine Zusammenstellung und Kennzeichnung der rezenten Tierformen*”, Lfg. 47. Vol. 47. W. de Gruyter & Company, (1924).

Lamarck, J. B. P. A. M. de “Histoire naturelle des animaux sans vertèbres” ... précédée d’une introduction offrant la détermination des caractères essentiels de l’animal, sa distinction du végétal et des autres corps naturels, enfin, l’exposition des principes fondamentaux de la zoologie. Verdière, <https://www.biodiversitylibrary.org/page/13297688> (1815).

Lamouroux, J. V. F. “Histoire des polypiers coralligènes flexibles, vulgairement nommés zoophytes”. Impr. de F. Poisson, <https://www.biodiversitylibrary.org/page/11606092>. (1816)

Lapointe, A., Watling, L. "Bamboo corals from the abyssal Pacific: Bathygorgia." *Proceedings of the Biological Society of Washington* 128.2: 125-136. (2015)

Lapointe, A., Watling, L. “Towards a revision of the bamboo corals (Octocorallia): Part 5, new genera and species of Keratoisididae from the Tasmanian deep sea”. *Zootaxa*. 5168. 137-157. 10.11646/zootaxa.5168.2.3. (2022).

Li, J., & Wang, P. “Discovery of deep-water bamboo coral forest in the South China Sea”. *Scientific Reports*, 9(1), 15453. (2019).

McFadden, Catherine S., et al. “A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences”. *Molecular phylogenetics and evolution*, 41(3), 513-527 (2006).

McFadden, Catherine. S., et al. “Revisionary systematics of Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) guided by phylogenomics”. *Bulletin of the Society of Systematic Biologists*, 1(3) (2022).

McFadden, Catherine. S.; et al. “World List of Octocorallia”. *Keratoisididae* Gray, 1870. Accessed through: [World Register of Marine Species at: https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1544106](https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1544106) on 2026-06-29 (2026).

Engelmann, W. “Morphologisches Jahrbuch”. Vol. 1, <https://www.biodiversitylibrary.org/page/13842261> (1876).

Morrissey, D. et al. "Bamboozled! Resolving deep evolutionary nodes within the phylogeny of bamboo corals (Octocorallia: Scleractyonia: Keratoisididae)." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 188: 107910 (2023).

Neves, B. D. M., et al. “Deep-water bamboo coral forests in a muddy Arctic environment”. *Marine Biodiversity*, 45(4), 867-871 (2015).

Philippi, Rodolfo A. “Zoologische Beobachtungen.” *Archiv für Naturgeschichte*, vol. 8, no. 1, 1842, pp. 33--45, <https://www.biodiversitylibrary.org/part/225780> (1842).

Risso, A., et al. “Histoire naturelle des principales productions de l’Europe méridionale et particulièrement de celles des environs de Nice et des Alpes Maritimes”. Chez F.-G. Levrault, libraire, p. VII, <https://www.biodiversitylibrary.org/page/50494486> (1826)

Rowley, Sonia J., Xavier P., and Watling, L. "Environmental influences on the Indo–Pacific octocoral *Isis hippuris* Linnaeus 1758 (Alcyonacea: Isididae): genetic fixation or phenotypic plasticity?" *PeerJ* 3 e1128 (2015).

Studer, T. "Versuch eines Systemes der Alcyonaria." *Archiv für Naturgeschichte*, vol. 53, no. 1, , pp. 1–74 (1887)

Verrill, Addison, E. "Reports on the Results of Dredging, under the Supervision of Alexander Agassiz, on the East Coast of the United States, during the Summer of 1880, by the U. S. Coast Survey Steamer 'Blake,' Commander J. R. Bartlett, U. S. N., Commanding. XXI. Report on the Anthozoa, and on Some Additional Species Dredged by the 'Blake' in 1877-1879, and by the U. S. Fish Commission Steamer 'Fish Hawk' in 1880-82." *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*, vol. 11, no. 1, pp. 1--72, <https://www.biodiversitylibrary.org/part/304650> (1883).

Watling, L., & France, Scott C. Toward a revision of the bamboo corals: Part 2, untangling the genus *Lepidisis* (Octocorallia: Isididae). *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History*, 62(2), 97-110 (2021).

Watling, L. et al. "Towards a revision of the bamboo corals (Octocorallia): part 4, delineating the family Keratoisididae." *Zootaxa* 5093.3 337-375 (2022).

RINGRAZIAMENTI

Desidero esporre la mia più sincera gratitudine alle seguenti persone, per avermi permesso di raggiungere questo traguardo:

Il dottor Francesco Enrichetti e la professoressa Marzia Bo, miei relatori, per avermi guidata lungo questo percorso, per il supporto e la pazienza offerti durante questi due anni;

La professoressa Chiara Paoli, mia correlatrice, per i consigli forniti durante i nostri incontri e per aver ricoperto questo ruolo;

Il dottor Declan Morrissey, per aver svolto la parte di analisi molecolare dei campioni, fondamentale per ultimare lo studio.

Vorrei infine estendere i miei ringraziamenti alla mia famiglia, ai miei colleghi ed amici, e a tutti i ricercatori, professori e tesisti che lavorano al sesto piano, per il loro supporto e per il senso di comunità e unione che mi hanno fatto sentire durante il percorso.