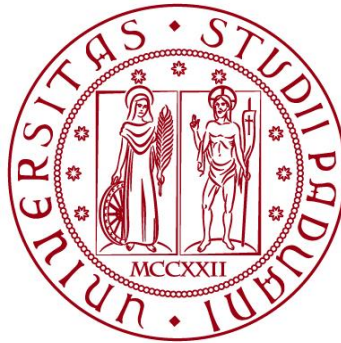


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biologia**



**ELABORATO DI LAUREA**

**Effetto della variabilità ambientale sul tasso di mortalità di *Carcinus aestuarii* in condizioni di stress termico nella Laguna di Venezia**

**Tutor: Prof. Alberto Barausse  
Dipartimento di Biologia**

**Co-tutor: Dott. Folco Giomi  
Dipartimento di Biologia**

**Laureando: Joseph Da Pos**

**ANNO ACCADEMICO 2021/2022**



## INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>1</b>
1.1 Fattori chimico-fisici negli ecosistemi costieri: ossigeno disciolto e temperatura dell'acqua	1
1.2 Fluttuazioni delle condizioni ambientali e risposte biologiche	2
1.3 L'ecosistema della Laguna di Venezia	3
1.4 <i>Carcinus aestuarii</i> : biologia dell'organismo modello	5
<b>2. OBIETTIVI DELLA TESI</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERIALI E METODI</b>	<b>7</b>
3.1 Provenienza dei granchi per gli esperimenti	7
3.2 Vasca stabulazione	7
3.2.1 Stabulazione in condizioni costanti	7
3.2.2 Stabulazione in condizioni variabili	7
3.3 Mantenimento degli organismi	8
3.4 Trattamento termico	8
<b>4. RISULTATI</b>	<b>10</b>
4.1 Stabulazione	10
4.1.1 Ossigeno disciolto	10
4.1.2 Temperatura	11
4.2 Risultati sperimentali del trattamento termico	13
4.2.1 Tolleranza termica	13
4.2.1 Stabulazione in condizioni costanti	13
4.2.2 Stabulazione in condizioni variabili	14
4.3 Curva di mortalità	15
<b>5. DISCUSSIONE</b>	<b>17</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>20</b>



# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 Fattori chimico-fisici negli ecosistemi costieri: ossigeno disciolto e temperatura dell'acqua

L'ossigeno disciolto è un parametro che influenza fortemente la vita degli organismi marini. In Laguna di Venezia, come in molte altre aree costiere, caratterizzate da un basso fondale e da una grande quantità di produttori primari vengono comunemente registrate importanti variazioni giornaliere di ossigeno disciolto nell'acqua marina (Ministero delle infrastrutture e dei trasporti, 2008). Queste variazioni sono date da fattori biotici, ovvero legati a fenomeni biologici, e abiotici, quindi dati dalle caratteristiche chimico-fisiche dell'acqua marina che dipendono ad esempio dalle condizioni atmosferiche (Lopes e Silva, 2006). Tra le componenti biotiche troviamo i produttori primari come fitoplancton, piante barenali e macro- e micro-fitobenthos che producono un'elevata quantità di ossigeno durante il processo nel loro ciclo biologico che necessita della luce, la fotosintesi; grazie a questi fattori durante la giornata e specialmente in estate si possono riscontrare concentrazioni di ossigeno superiori al 200% rispetto al valore di saturazione (Guadagnin, 2021). Questo significa che nell'acqua è contenuto molto più ossigeno di quello che sarebbe disciolto in condizioni di equilibrio ad una determinata temperatura, salinità e pressione. Importanti variazioni di ossigeno sono date anche dal consumo sia da parte di organismi autotrofi (con la respirazione che avviene sia in presenza che in assenza di luce) che eterotrofi, entrambi consumando progressivamente ossigeno contribuiscono a ridurre la concentrazione a valori anche inferiori al 10% della saturazione durante le ore notturne (Booth *et al.*, 2021). In aggiunta, fenomeni di eutrofizzazione possono portare a variazioni di ossigeno nell'acqua, questo fenomeno è dato da un aumento di nutrienti che può avvenire per cause antropiche o naturali. I nutrienti possono determinare massicce crescite algali a cui può seguire un'attività di decomposizione che porta a consumare gran parte dell'ossigeno disciolto, causando occasionali fenomeni di ipossia e talvolta anossia (Iriarte *et al.*, 2014). L'ipossia è considerata tale quando l'ossigeno disciolto è inferiore ai 2 mg/L (Qyli e Aliko, 2017), l'anossia invece è l'assenza di ossigeno disciolto (Diaz e Rosenberg, 2008). Tra i fattori abiotici connessi con la variabilità dell'ossigeno disciolto c'è la temperatura che influenza direttamente la stratificazione della colonna d'acqua a seconda della stagione, inoltre un aumento di temperatura aumenta sia il tasso respiratorio degli organismi e diminuisce la solubilità di ossigeno nell'acqua marina essendo la solubilità inversamente proporzionale alla temperatura (Booth *et al.*, 2021). È inoltre presente una correlazione diretta tra radiazione solare, temperatura e fotosintesi (e quindi ossigeno disciolto): all'aumentare dell'irraggiamento solare aumenta la temperatura delle acque e parallelamente aumenta il tasso di fotosintesi, al contrario di notte con il diminuire dell'irraggiamento solare diminuisce la temperatura e si arresta la fotosintesi (Giomi *et al.*, 2019). Inoltre, la temperatura stessa aumenta la fotosintesi (Giomi *et al.*, 2019). Tra i fattori abiotici presenti negli ambienti costieri vi sono anche i cicli mareali, che aumentando o diminuendo la salinità delle acque

salmastre influenzano negativamente o positivamente la solubilità di ossigeno (Iriarte *et al.*, 2014).

La Laguna di Venezia presenta una bassa profondità delle acque, avendo una profondità media di poco meno di un metro (Guadagnin, 2021). Questo permette ai raggi solari di raggiungere il fondale riscaldando le acque e aumentando lo stress termico negli organismi bentonici (Hyde, 2006). Di conseguenza possono essere osservate variazioni anomale e prolungate di temperatura nell'acqua e gli organismi bentonici possono essere sottoposti a stress termico acuto (Hyde, 2006). Questo fatto è particolarmente rilevante in quanto fluttuazioni del clima causano variazioni termiche negli ecosistemi terrestri e marini, influenzando la fitness degli organismi, ad esempio, a livello di crescita, metabolismo e performance locomotoria. (Peng *et al.*, 2014).

Ambienti in cui l'impatto di queste fluttuazioni risulta particolarmente severo sono le *dead zones*, letteralmente zone morte: circoscritti ecosistemi marini, costieri o lagunari in cui si manifesta ipossia e talvolta anossia, compromettendo la vita degli organismi marini e costieri (Haselmair *et al.*, 2010). I sistemi lagunari del Mar Adriatico settentrionale sono ottimi modelli per studiare gli effetti ecologici dell'ipossia poiché malgrado secondo la letteratura (Tagliapietra *et al.*, 1998; Diaz e Rosenberg, 2008) siano presenti diverse *dead zones* o situazioni di ipossia ricorrente sono aree di nursery per varie specie marine e lagunari e che possono inoltre fornire vari servizi ecosistemici all'uomo, e alterazioni di questi ecosistemi possono creare forti rischi per la biodiversità e per la popolazione umana (Haselmair *et al.*, 2010; Guadagnin, 2021).

## **1.2 Fluttuazione delle condizioni ambientali e risposte biologiche**

Gli organismi che sono sottoposti a variazioni ambientali cicliche come per la temperatura o l'ossigeno disciolto possono avere diversi tipi di risposte biologiche. Innanzitutto, possono manifestare in seguito al cambiamento termico un incremento metabolico nella risposta allo stress che è quasi immediata, questo meccanismo fisiologico avviene per tutti gli organismi. (Morgan *et al.*, 2022). Per rispondere allo stress, gli organismi hanno evoluto due tipi di sistemi di risposta chiamati a *feedback* e a *feedforward*, che si differenziano nel modo in cui l'organismo stesso risponde al cambiamento ciclico delle condizioni ambientali. Nel meccanismo a *feedback* l'organismo percepisce attraverso determinati sistemi (per esempio un organo di senso) il cambiamento del fattore ambientale o biologico e mette in atto processi fisiologici per contrastare l'effetto dello stesso nel proprio sistema biologico e mantenere un'omeostasi (Bernhardt *et al.*, 2020). Questo processo avviene in un momento temporale successivo alla variazione, ovvero quando la variazione è già avvenuta e per questo viene chiamato meccanismo reattivo. Per organismi sottoposti costantemente a fluttuazioni cicliche regolari può essere più efficiente adottare un meccanismo a *feedforward*, in cui alla variazione ambientale viene associato un segnale d'allarme antecedente alla variazione stessa, come la luce solare prima di un cambiamento stagionale, e questo segnale viene percepito dall'organismo che mette in atto meccanismi chiamati proattivi per contrastare in anticipo la variazione ambientale che seguirà il segnale d'allarme stesso. In questo

caso l'organismo è già pronto per affrontare la variazione ambientale quando essa avviene (Bernhardt *et al.*, 2020).

Il meccanismo a *feedback* entra in gioco nel momento in cui un organismo possiede un sistema controllore interno, come ad esempio un recettore termico che percepisce una variazione interna fisiologica, che nei crostacei decapodi oggetto di questa tesi può essere una variazione della temperatura nell'emolinfa e mette in atto meccanismi fisiologici o biochimici di omeostasi per mantenere una condizione interna costante e poter sopravvivere allo stress termico (Von Bertalanffy, 1956). Nel meccanismo a *feedforward*, l'organismo presenta un sistema controllore che fa avvenire una correlazione tra una variazione esterna e il sistema interno (Dusenbery, 1992). In questo modo l'organismo è in grado di regolarsi basandosi su una condizione esterna per mantenere comunque una condizione interna costante (Von Bertalanffy, 1956). Questo meccanismo è tipico dei ritmi circadiani (Resco *et al.*, 2009), ad esempio, ed è utile nel momento in cui un organismo è sottoposto costantemente durante la propria vita a fluttuazioni ambientali cicliche. Un meccanismo a *feedback* al contrario è più conveniente nel momento in cui l'organismo è sottoposto a variazioni ambientali non fluttuanti regolarmente ma stocastiche o acute, dove non è possibile anticipare la variazione ambientale poiché essa non avviene regolarmente e sarebbe quindi costoso per l'organismo anticipare variazioni che avvengono imprevedibilmente e magari con bassa frequenza (Bernhardt *et al.*, 2020).

Durante lunghe esposizioni a elevate temperature, gli organismi possono cambiare la loro fisiologia e contrastare gli effetti termici attraverso meccanismi volti a mantenere l'omeostasi. In un ambiente eterogeneo, la plasticità fisiologica è estremamente importante per mantenere un ampio range termico (Angilletta, 2002). Mantenere alte performance oltre un determinato range termico richiede alterazioni su ampia scala nell'espressione genica e processi trascrizionali (Somero, 2010). Per mantenere queste performance sono richiesti investimenti dal punto di vista sensoriale o regolativo attraverso aggiustamenti biochimici e fisiologici (Dewitt *et al.*, 1998). Gli organismi devono trovare un compromesso tra performance e plasticità, dato da performance ottimali da un lato mantenendo comunque una plasticità fisiologica dall'altro (Chevin, 2010).

La vita in condizioni fluttuanti permette di aumentare le performance degli organismi ampliando la banda di risposta allo stress, a differenza degli organismi che vivono in condizioni costanti che dimostrano una plasticità ridotta verso un valore estremo rispetto all'ampiezza della banda, mentre dimostrano elevate performance ad un livello intermedio (Liefting *et al.*, 2009). Gli organismi sottoposti a condizioni variabili mostrano invece performance più elevate verso i limiti e inferiori rispetto ad un livello intermedio, rispetto agli organismi sottoposti a condizioni costanti, dimostrando una maggiore plasticità (Morgan *et al.*, 2022).

### **1.3 L'ecosistema della Laguna di Venezia**

La Laguna di Venezia è il più grande sistema lagunare in Italia, nonché una delle più grandi del mar Mediterraneo. L'ecosistema della Laguna di Venezia si è formato circa 6000 anni fa dall'azione combinata dell'innalzamento del livello dei

mari e dal movimento di trasgressione marina olocenica che portarono all'inondazione dell'attuale parte a nord del Mare Adriatico, creando un sistema di lagune lungo la costa nord-ovest del bacino. Più tardi, circa 2000 anni fa, questo habitat è stato separato in tanti piccoli sottosistemi, formando la Laguna di Venezia stessa (Solidoro *et al.*, 2010). La Laguna è da ritenersi un vero e proprio ecosistema di transizione, che funge da anello tra ecosistema terrestre e marino, purtroppo a causa della propria posizione geografica questi ambienti sono spesso sottoposti a un elevato impatto antropico dato ad esempio da un eccesso di carichi di nutrienti che causa fioriture algali eccessive. Sono habitat che offrono importanti servizi ecosistemici come ad es. il loro ruolo di aree di nursery, e che presentano gradienti di salinità e nutrienti tra ambiente terrestre e marino, un'elevata produttività primaria e talvolta ipossia e nei casi estremi anche anossia (Tagliapietra *et al.*, 2014).

Le *salt marshes*, ovvero le paludi salate tipiche delle aree estuarine delle zone temperate, sono rappresentate dalle "barene". Le barene presentano una vegetazione alofila data principalmente dal Limonio (*Limonium serotinum*), dall'Astro Marino (*Aster tripolium*), dalla Salicornia (*Salicornia veneta*) e Sarcocornia (*Sarcocornia fruticosa*) ed Enula (*Inula chrithmoides*) (Bonometto, 2014).

Queste piante hanno un ruolo fondamentale nel mantenimento delle barene stesse infatti trattengono i detriti e sedimenti portati dalla corrente, proteggendo i margini barenali dall'erosione eolica e dalla corrente stessa. I margini presentano una tipica forma a catino con un'altezza di circa 45 cm, caratterizzati da un terreno compatto, e, per questo definite barene forti. La parte interna, chiamata barena umida, è più abbassata, alta circa 25 cm e caratterizzata da suolo umido e molle, a salinità costante (Bonometto, 2014).

Dai margini barenali entrano i "ghebi", che sono canali naturali che formano una fitta rete all'interno della laguna, tra il ghebo e la barena è presente la "velma", che corrisponde all'intertidale inferiore ed è composta da sedimento ed è colonizzata da organismi marini. La barena costituisce invece l'intertidale superiore (Solidoro *et al.*, 2010; Bonometto, 2014).

Tra gli organismi marini che vivono in laguna è presente il granchio verde mediterraneo *Carcinus aestuarii* Nardo, 1847 (Guadagnin, 2021), che è un ottimo organismo modello nella biologia marina (Leignel *et al.*, 2014), ed è l'organismo modello utilizzato in questo studio.

Per quanto riguarda i produttori primari li possiamo suddividere in fitoplancton e macrofitobenthos. Il fitoplancton è per lo più costituito da diatomee centriche come *Skeletonema marinoi* e piccoli flagellati verdi, con presenze occasionali di euglenoficee, coccolitoforidi e dinoflagellati. Il fitoplancton presenta una variabilità spaziale e temporale quantificata dalla presenza di clorofilla *a*. I maggiori produttori primari rimangono comunque le fanerogame marine come *Cymodocea nodosa*, *Zostera marina* e *Nanozostera noltii*, le macroalghe sono invece attualmente minoritarie, a differenza di alcuni decenni fa, e presenti in circa trecento specie (Solidoro *et al.*, 2010).



#### 1.4 *Carcinus aestuarii*: biologia dell'organismo modello

*Carcinus aestuarii* Nardo, 1847 è una specie endemica del Mar Mediterraneo e del Mar Nero (Yamada e Hauck, 2001), è tipica di zone rocciose (Leignel *et al.*, 2014), estuarine ed ambienti lagunari ed è una specie bentonica che vive in acque poco profonde della zona litorale (Qyli *et al.*, 2020). È un ottimo organismo modello per la biologia marina grazie alle sue piccole dimensioni e al suo facile mantenimento in acquario (Leignel *et al.*, 2014), essendo infatti una specie onnivora si può allevare per molto tempo nutrendola ad esempio con il mitilo *Mitilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 e tenendo un buon flusso d'ossigenazione vitale (Matozzo *et al.*, 2011). Inoltre, essendo molto vasto il suo areale è molto facile da reperire (Leignel *et al.*, 2014). Questa specie non è l'unica appartenente al genere *Carcinus* poiché è presente anche una specie atlantica denominata *C. maenas* Linneo, 1758 (Koike e Iwasaki, 2011).

Gli individui possono vivere più di sette anni (Klassen e Locke, 2007) e presentano un ciclo vitale con larve pelagiche e adulti bentonici, la fecondazione avviene più volte durante l'anno e le femmine depongono circa 370000 uova per nidata tra maggio e luglio (Berril, 1982), una volta schiuse la fase pelagica dura circa 90 giorni e si susseguono quattro larve zoea che migrano verticalmente nella colonna d'acqua nutrendosi di fitoplancton, e una larva megalopa finale che si fissa al substrato e metamorfosa nel primo stadio giovanile, che con ecdisi successive diventerà adulto (Leignel *et al.*, 2014).

Viene studiata soprattutto per studi ecologici ed ecotossicologici sottoponendola a varie situazioni stressanti come mancanza di cibo, anossia, stress termico, inquinanti, patogeni e pH estremi (Leignel *et al.*, 2014).

Sia *C. aestuarii* che *C. maenas* sono inserite nelle cento specie più invasive a livello mondiale dall'Unione Internazionale per La Conservazione della Natura (IUCN) avendo colonizzato anche America, Asia e Australia (Leignel *et al.*, 2014).

*C. aestuarii* presenta un carapace di larghezza media di 6 cm, colorato di verde dorsalmente che gli consente di mimetizzarsi sui letti algali, e giallo sul ventre. Il primo paio di zampe è chiamato chelipedi ed è dimorfico, quello più grande è utilizzato per rompere i gusci dei molluschi mentre quello più piccolo viene utilizzato per tagliare il cibo, le altre otto zampe sono lisce e allungate, il lato anteriore del carapace presenta cinque fila di dentelli per lato. Il maschio è facilmente riconoscibile poiché possiede un addome triangolare, la femmina lo presenta più arrotondato (Panin, 2006; Potente, 2006).

## 2. OBIETTIVI DELLA TESI

Questa tesi ha l'obiettivo di studiare il tasso di sopravvivenza di due coorti di individui appartenenti alla specie *Carcinus aestuarii* sottoposte a differenti condizioni di stress termico e di ossigenazione. Le due coorti sono state stabulate rispettivamente in condizioni cicliche e costanti di ossigeno disciolto e temperatura per una settimana. Le condizioni variabili simulano le condizioni negli ambienti lagunari a cui *C. aestuarii* è naturalmente sottoposto, mentre le condizioni costanti creano un ambiente tipico di laboratorio diverso da quello che questi organismi affrontano quotidianamente nell'ambiente naturale della Laguna di Venezia. Questo studio vuole capire se l'esposizione degli organismi lagunari a condizioni fisico-chimiche fluttuanti permetta loro di resistere con maggiore efficienza a condizioni termiche estreme dovute al riscaldamento delle acque. I risultati potrebbero fornire maggiori indicazioni riguardo a come gli organismi marino-costieri possano resistere allo stress termico come conseguenza del cambiamento climatico.

### **3. MATERIALI E METODI**

#### **3.1 Provenienza dei granchi per gli esperimenti**

Per catturare i granchi sono state utilizzate cinque nasse calate in acqua in Laguna di Venezia, precisamente dal molo della stazione idrobiologica Umberto d'Ancona di Chioggia (VE) nel mese di maggio 2022. Le nasse sono state tenute due giorni in acqua, calate con un piombo e contenenti intestini di elasmobranchi, fissate e chiuse in uno straccio ricavato da vecchi indumenti per attirare i granchi. Solo gli individui maschi sono stati trattenuti mentre le femmine sono state liberate nuovamente in Laguna, per ridurre le variabili relative al tasso di consumo dell'ossigeno poiché le femmine in primavera e inverno rilasciano le uova.

#### **3.2 Vasca stabulazione**

Gli organismi una volta catturati sono stati inseriti in due vasche di stabulazione della misura di 35 x 50 x 40 cm in vetro contenenti 50 L di acqua marina prelevati direttamente dalla laguna di Venezia e filtrati sia meccanicamente che biologicamente (come riportato in figura 1). Il sistema di filtraggio è definito SUMP, la filtrazione meccanica avviene tramite spugna, quella biologica tramite biosfere, vi è associato anche un comparto chimico con zeoliti e carbone attivo.

##### **3.2.1 Stabulazione in condizioni costanti**

66 individui sono stati inseriti nella vasca posta in una stanza termostata a 18 °C all'interno della stazione idrobiologica per stabularli a condizioni di temperatura e ossigeno disciolto costanti.

Nella vasca sono stati inseriti due aeratori che insufflano direttamente aria atmosferica per compensare la respirazione degli organismi e mantenere circa il 90-100% di saturazione di ossigeno per tutta la giornata (come riportato in figura 1). Gli individui sono stati tenuti in stabulazione per una settimana (come riportato in figura 1), e dal giorno successivo sono stati sottoposti al trattamento sperimentale.

##### **3.2.2 Stabulazione in condizioni variabili**

Un'altra coorte di 53 individui è stata sottoposta a una stabulazione in condizioni variabili di ossigeno disciolto e temperatura, mantenuta in una stanza aerata per riprodurre le condizioni esterne di temperatura. Non sono stati utilizzati più individui per assenza di disponibilità dei granchi. Gli individui sono stati divisi in due vasche per evitare ipossia eccessiva al mattino.

Nelle vasche è stato inserito un aeratore che mantenesse costantemente un flusso minimo di aria atmosferica, per evitare che gli organismi andassero in anossia estrema, e un ossigenatore che immettesse ossigeno puro da una bombola in modo tale da variare la saturazione di ossigeno nell'acqua simulando il processo di fotosintesi. Le due vasche sono state ossigenate ogni mattina, fino a fine stabulazione, con ossigeno fino a raggiungere una saturazione del 350-400%, utilizzando un flusso debole ma prolungato per un paio di ore, in seguito con la

respirazione la concentrazione di ossigeno è destinata a diminuire. Gli individui di entrambe le vasche sono stati tenuti in stabulazione per una settimana, e dal giorno successivo sono stati sottoposti al trattamento sperimentale.

### **3.3 Mantenimento degli organismi**

Gli organismi sono stati nutriti con mitilo *Mytilus galloprovincialis* una volta ogni due giorni fino a sazietà. Ogni giorno circa 20-30 L di acqua da tutte le vasche sono stati ricambiati con acqua lagunare fresca per eliminare il più possibile i cataboliti e i resti del cibo dei granchi.

### **3.4 Trattamento termico**

Le due coorti di individui stabulati in condizioni rispettivamente costanti e variabili sono quindi state sottoposte allo stesso trattamento termico. Tutti gli individui sono stati prelevati dalla vasca di stabulazione e inseriti in una vasca per il trattamento con l'acqua di medesima provenienza di quella utilizzata per la stabulazione di misura 40 x 60 x 22 cm e di capienza 30 L. Nella vasca sono stati inseriti due aeratori mantenuti in funzione durante tutto il trattamento per mantenere l'ossigeno disciolto circa al 90-100 % (come riportato in figura 2).

Per simulare le temperature estreme si sono utilizzati dei riscaldatori NEWATT da 250 W e da 100 W, con sensibilità di mezzo grado e VISITHERM da 150 W, anch'essi con sensibilità di mezzo grado (come riportato in figura 2). A seconda della temperatura necessaria i riscaldatori sono stati aggiunti in numero variabile da 1 a 7, mentre la temperatura effettiva dell'acqua è stata misurata con una sonda multiparametrica HANNA HI98198 con una sensibilità al decimo di °C di temperatura e al 0,1 % per l'ossigeno disciolto (come riportato in figura 2). Oltre i 35 °C assieme ai riscaldatori è stata aggiunta acqua marina riscaldata in forno microonde per aumentare la temperatura in modo più efficiente. Il trattamento è iniziato a 20 °C e si è aggiunto 1 °C ogni 30 minuti. Ogni 30 minuti prima di riscaldare si è misurata la temperatura effettiva dell'acqua e il numero di individui morti, che sono stati tolti dalla vasca, considerando morti gli individui che presentavano assenza di respirazione, arti immobili ed eventualmente addome sottosopra. Il trattamento è continuato fino alla morte di tutti gli organismi.



**Figura 1.** Stabilizzazione degli organismi in condizioni costanti. Si possono osservare la vasca nella stanza termostata con gli organismi e gli aeratori.



**Figura 2.** Attrezzatura sperimentale per il trattamento termico, a destra si può vedere la sonda multiparametrica, a sinistra due riscaldatori. Nella vasca si possono vedere gli organismi, mentre gli aeratori sono stati tolti per scattare la foto.

## 4. RISULTATI

### 4.1 Stabulazione

#### 4.1.1 Ossigeno disciolto

Le tabelle e il grafico sottostanti descrivono l'andamento dell'ossigeno disciolto durante le due stabulazioni degli organismi in condizioni costanti e variabili. Per le condizioni costanti il valore massimo è del 94 % e il minimo del 89,1 %. Per le condizioni variabili il valore massimo è del 459,4 % e il minimo del 60,7 %. L'andamento dei parametri risultante dalle diverse misurazioni svolte durante il monitoraggio delle vasche di stabulazione è rappresentato in figura 3.

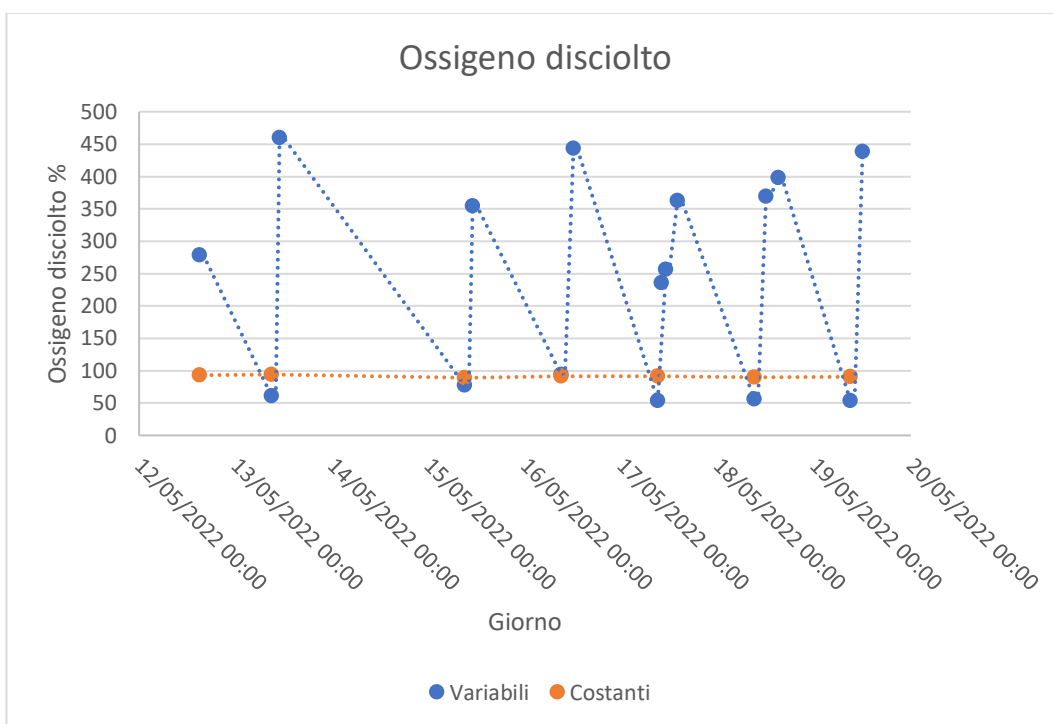
**Tabella 1.** Misurazioni di ossigeno disciolto (DO) della stabulazione in condizioni costanti e variabili.

Giorno	Ora	DO % saturazione vasca dx variabili (%)	DO % saturazione vasca sx variabili (%)	DO % saturazione costanti (%)
12/05/2022	15:00	276,4	278,6	92,9
13/05/2022	09:00	64,5	60,7	94
13/05/2022	11:00	436,6	459,4	94
15/05/2022	09:00	80,6	77,7	89,1
15/05/2022	11:00	354,8	354,6	89,1
16/05/2022	09:00	65,1	93,5	91,2
16/05/2022	12:00	402,7	443,6	91,2
17/05/2022	09:00	83,3	93,3	91
17/05/2022	10:00	235,3	235,6	91
17/05/2022	11:00	257	256,2	91
17/05/2022	14:00	360,2	362,9	91
18/05/2022	09:00	92,6	94,9	90,1
18/05/2022	12:00	238,5	369,3	90,1
18/05/2022	15:00	387,8	398	90,1
19/05/2022	09:00	96	98	90,6
19/05/2022	12:00	413	438,1	90,6

**Tabella 2.** Valori massimi e minimi di ossigeno disciolto (DO) per le due stabulazioni.

Valore	DO % saturazione vasca dx variabili (%)	DO % saturazione vasca sx variabili (%)	DO % saturazione costanti (%)
Valore massimo	436,6	459,4	94

Valore minimo	64,5	60,7	89,1
---------------	------	------	------



**Figura 3.** Andamento dell'ossigeno disciolto durante le due stabulazioni costanti e variabili (variabili: blu; costanti: arancio). I punti rappresentano le misure effettuate, uniti da linee tratteggiate semplicemente per migliorare la leggibilità. Tuttavia, è lecito aspettarsi che l'andamento dell'ossigeno non sia una linea retta fra una misura e l'altra a causa della natura non lineare dei processi in gioco.

#### 4.1.2 Temperatura

La tabella e il grafico sottostanti descrivono l'andamento della temperatura durante le due stabulazioni in condizioni costanti e variabili. Per le condizioni costanti il valore massimo di temperatura è 16,45 °C e il minimo di 14,18 °C. Per le condizioni variabili il valore massimo di temperatura è 22,6 °C e il minimo di 15,3 °C.

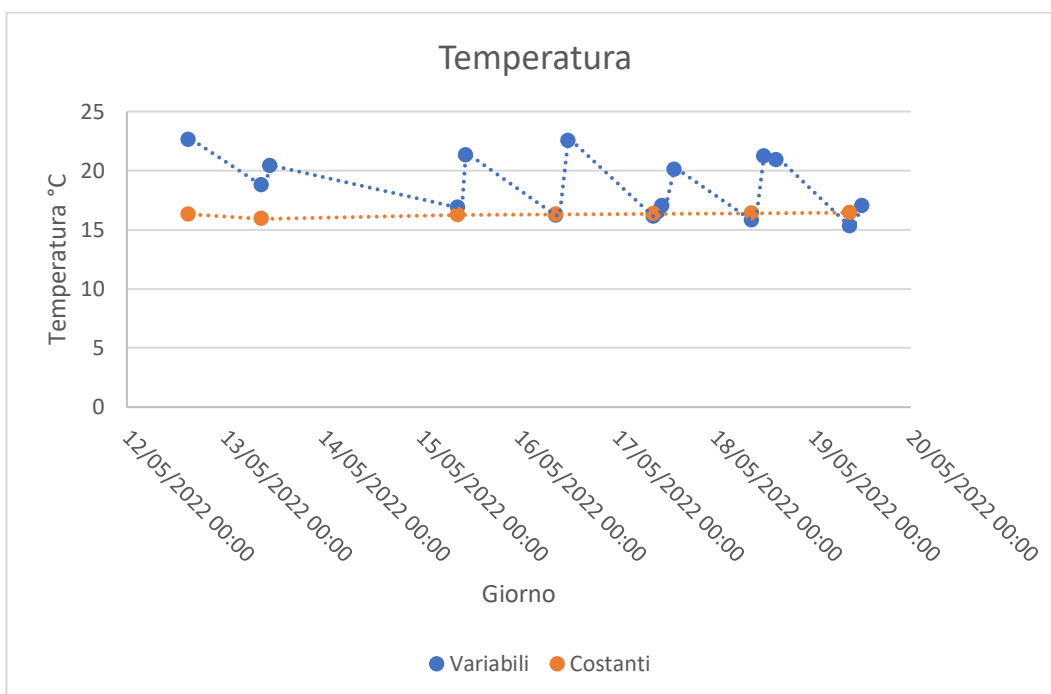
**Tabella 3.** Misure di temperatura (T) delle stabulazioni in condizioni variabili e costanti.

Giorno	Ora	T vasca dx (°C)	T vasca sx (°C)	T costanti (°C)
12/05/2022	15:00	22,3	22,6	16,3
13/05/2022	09:00	19	18,8	15,92
13/05/2022	11:00	20,3	20,4	15,92
15/05/2022	09:00	16,5	16,9	16,25
15/05/2022	11:00	20,3	21,3	16,25
16/05/2022	09:00	16	16,2	16,29

16/05/2022	12:00	21,4	22,5	16,29
17/05/2022	09:00	15,7	16,1	16,36
17/05/2022	10:00	16	16,5	16,36
17/05/2022	11:00	16,4	17	16,36
17/05/2022	14:00	19,8	20,1	16,36
18/05/2022	09:00	15,9	15,8	16,4
18/05/2022	12:00	20,9	21,2	16,4
18/05/2022	15:00	20,9	20,9	16,4
19/05/2022	09:00	15,5	15,3	16,45
19/05/2022	12:00	16,9	17	16,45

**Tabella 4.** Valori massimi e minimi di temperatura (T) per le due stabulazioni

Valore	T vasca dx variabili (°C)	T vasca sx variabili (°C)	T costanti (°C)
Valore massimo	22,3	22,6	16,45
Valore minimo	15,5	15,3	15,92



**Figura 4.** Andamento della temperatura durante le due stabulazioni (variabili: **blu**; costanti: **arancio**). I punti rappresentano le misure effettuate, uniti da linee tratteggiate semplicemente per migliorare la leggibilità. Tuttavia, è lecito aspettarsi che l'andamento della temperatura non sia una linea retta fra una misura e l'altra a causa della natura non lineare dei processi di scambio termico.



## 4.2 Risultati sperimentali del trattamento termico

### 4.2.1 Tolleranza termica

Gli individui di entrambi i trattamenti si sono dimostrati estremamente resistenti allo stress termico, e i primi decessi sono insorti a 35,5 °C o oltre.

### 4.2.2 Stabulazione in condizioni costanti

Per l'esperimento sono stati utilizzati 66 individui. Il primo granchio del trattamento costante è morto a 35,5 °C, tutti gli altri 65 organismi non sono sopravvissuti oltre i 39 °C. A 38 °C è stato ottenuto il 43 % di mortalità cumulativa, mentre il 100 % è stato ottenuto a 39 °C (come riportato in tabella 5). Gli organismi hanno dimostrato un aumento nella frenesia attorno ai 30 °C e un principio di sbiancamento del carapace attorno ai 32 °C (come riportato in figura 5). Il valore di  $LT_{50}$ , ovvero il valore di temperatura al quale sono morti il 50 % degli individui iniziali è 37.5810 °C.

**Tabella 5.** Relazione tra temperatura e tasso di mortalità cumulativo per gli organismi stabulati in condizioni costanti.

Temperatura (°C)	Tasso di mortalità cumulativo (%)
30	0
31.4	0
32.5	0
34.1	0
34.3	0
34.6	0
35.5	1.5
36.6	1.5
37.5	43
38.2	90
39	100



**Figura 5.** Principio di sbiancamento del carapace per due organismi durante il trattamento termico (in alto al centro della figura).

#### **4.2.3 Stabulazione in condizioni variabili**

Per l'esperimento sono stati utilizzati 53 organismi. A 35,5 °C non è morto nessun individuo (a differenza dei granchi stabulati in condizioni costanti) mentre i primi hanno iniziato a morire attorno ai 37 °C e hanno continuato fino ai 40,1 °C in cui sono morti tutti. In questo caso la frenesia è iniziata attorno ai 31 °C e alcuni individui hanno mostrato uno sbiancamento del carapace attorno ai 33 °C. A 39,2 °C è stato ottenuto l'81,9 % di mortalità cumulativa, il 100 % è stato ottenuto a 40,8 °C (come riportato in tabella 6). A 39 °C alcuni individui si muovevano ancora. In questo caso il valore di  $LT_{50}$ , ovvero la temperatura alla quale è morto il 50 % degli organismi iniziali è 38.5775 °C. In generale, quindi, per tutti i criteri monitorati (inizio della frenesia, sbiancamento del carapace, primi morti, mortalità del 50%, mortalità del 100%) i granchi stabulati in condizioni variabili hanno mostrato un corrispondente valore di temperatura dell'acqua maggiore di circa 1 °C rispetto ai granchi stabulati in condizioni costanti.

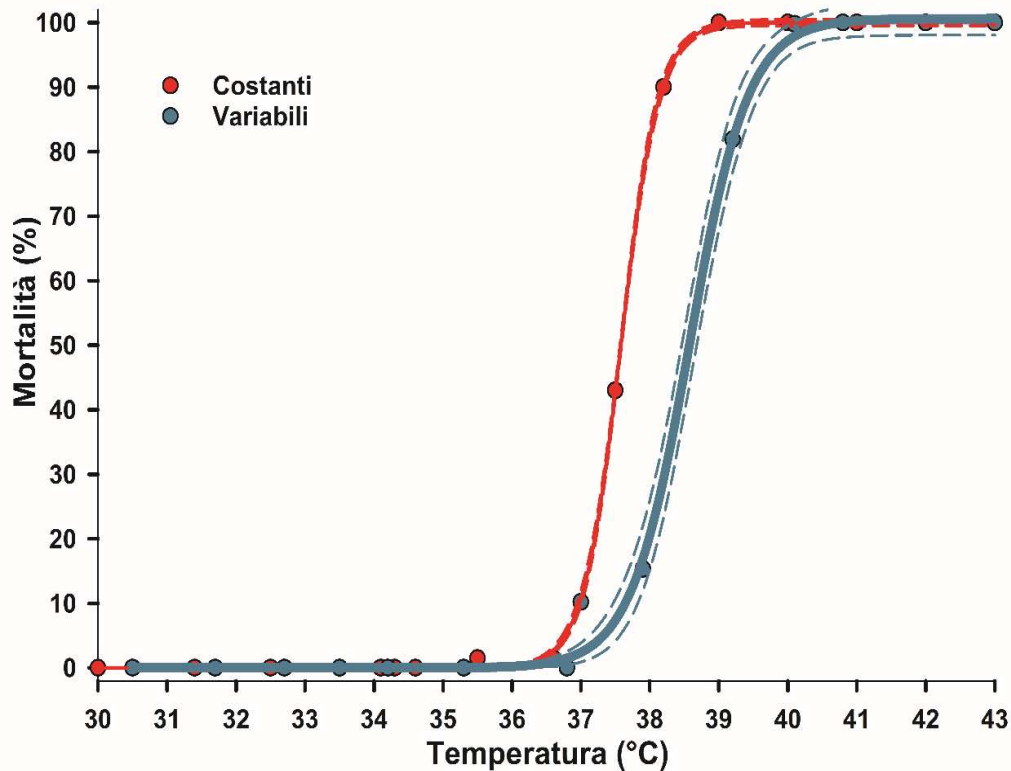
**Tabella 6.** Relazione tra temperatura e tasso di mortalità cumulativo per gli organismi stabulati in condizioni variabili.

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tasso di mortalità cumulativo (%)</b>
30.5	0
31.7	0
32.7	0
33.5	0
34.2	0
35.3	0
36.8	0
37	10.2
37.9	15.3
39.2	81.9
40.1	99.8
40.8	100

#### **4.3 Curva di mortalità**

Con i dati ottenuti dal trattamento termico dei due gruppi di organismi si sono costruite due curve di mortalità con la temperatura in C° in ordinata e tasso di letalità (come percentuale cumulativa di individui morti a quella temperatura sul totale) in ascissa.

Una curva è stata costruita con il tasso di mortalità misurato grazie al trattamento termico degli organismi stabulati in condizioni costanti, mentre l'altra con il tasso di mortalità degli organismi stabulati in condizioni variabili. Le due curve mostrano un andamento molto ben approssimato da una curva sigmoide e appaiono significativamente diverse per uno scostamento di oltre 1 °C, risultando quindi gli individui stabulati in condizioni variabili più tolleranti all'innalzamento termico acuto.



**Figura 6.** Relazione tra temperatura e tasso di mortalità per i due gruppi di stabulazione (costanti: rosso; variabili: blu). I pallini rappresentano le misure ottenute, le linee continue rappresentano la regressione lineare (sigmoideale a tre parametri) eseguita sui punti sperimentali. Le linee tratteggiate rappresentano l'intervallo di confidenza della curva.

Nella tabella sottostante sono riportati i parametri del grafico ottenuto.

**Tabella 7:** parametri delle due curve di mortalità.

**Parametri grafico**

Gruppo di stabulazione	Equazione	R <sup>2</sup>	LT <sub>50</sub> (°C)	Errore standard LT <sub>50</sub> (°C)
Costanti	$f=a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$	0,9999	37.5810	0.0064
Variabili	$f=a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$	0,9978	38.5775	0.0524

## 5. DISCUSSIONE

I dati sperimentali del trattamento termico hanno dimostrato una diversa tolleranza degli organismi sottoposti alle due condizioni di stabulazione, confermando l'elevata plasticità fisiologica della specie *C. aestuarii*. In dettaglio, quando sottoposti a variazioni fluttuanti di temperatura e ossigeno i granchi hanno dimostrato una maggiore resistenza, del valore di circa 1°C, rispetto a quelli mantenuti in condizioni costanti. Questo risultato va interpretato alla luce di un limite del presente studio: nella stabulazione in condizioni variabili non sono stati raccolti valori sufficientemente frequenti di temperatura e ossigeno disciolto per calcolare un valore medio affidabile e vedere quindi se le stabulazioni in condizioni costanti e variabili sono confrontabili dal punto di vista dei valori medi di ossigeno e temperatura, e poter quindi spiegare le differenze di mortalità fra le due stabulazioni in funzione della sola presenza/assenza di fluttuazioni. In studi futuri andrebbe quindi verificato oltre alle fluttuazioni, se le due stabulazioni siano state ottenute con le stesse condizioni medie di ossigeno disciolto e temperatura, poiché al momento non è possibile calcolarlo con precisione. Infatti, per organismi che sono stati sottoposti a ossigeno disciolto medio più elevato, è più facile poter contrastare il riscaldamento dell'acqua nell'ambiente in cui vivono grazie a una maggiore capacità aerobica, ovvero presentano una capacità maggiore di respirare ossigeno dall'acqua durante l'evento di stress termico, rispetto a organismi sottoposti a ossigeno disciolto medio inferiore e che quindi presenteranno un tasso di mortalità verso temperature inferiori (Giomi *et al.*, 2019).

Assumendo che le differenze nelle condizioni medie di ossigeno e temperatura non siano importanti dal punto di vista biologico fra le due stabulazioni, questo esperimento ci consente di capire come gli organismi possano aumentare la propria tolleranza allo stress termico a seguito di una precedente esposizione a fluttuazioni di temperatura e ossigeno disciolto. Nello specifico, gli organismi stabulati a condizioni fluttuanti hanno una soglia media di mortalità di 1°C più elevata rispetto agli organismi stabulati in condizioni costanti, presentando un valore di LT<sub>50</sub> di 38.5775 °C rispetto al 37.5810 °C dei costanti. È interessante notare come gli organismi stabulati in condizioni variabili abbiano avuto una maggiore resistenza anche nello sbiancamento del carapace e nella frenesia dovuta all'aumentare della temperatura durante il trattamento termico di 1 C°. Un altro dato importante è che a 39°C alcuni organismi della stabulazione variabile rimanevano attivi e mobili mentre quelli sottoposti a condizioni costanti non erano sopravvissuti a questa soglia termica. I risultati di questo studio suggeriscono quindi che organismi sottoposti alle naturali fluttuazioni di temperatura e ossigeno possano sopportare il riscaldamento repentino delle acque in Laguna di Venezia, avvenuto a seguito di anomalie climatiche, in maniera più efficiente di quanto desumibile da un'analisi dei soli andamenti delle condizioni ambientali medie.

Gli studi effettuati in laguna negli anni hanno evidenziato fluttuazioni stagionali di ossigeno disciolto e temperatura, in particolare, si sono evidenziati *bloom* algali, soprattutto di *Ulva rigida* in primavera con l'aumento di temperatura, irraggiamento solare e nutrienti dai fiumi, seguiti da una fase distrofica d'estate come conseguenza dell'eutrofizzazione con conseguenti fenomeni ipossici e anossici nel sedimento e

nello strato d'acqua a contatto con quest'ultimo (Flindt *et al.*, 1997 ;Tagliapietra *et al.*, 1998). Gli organismi, soprattutto meio- e macro-bentonicici sottoposti a questi eventi stressanti si succedono nel tempo sulla base delle modalità di alimentazione, passando dalla fase detritivora selettiva nella fase invernale-primaverile a una fase detritivora non selettiva estiva, quando la sostanza organica è maggiore come conseguenza delle crescite algali (Tagliapietra *et al.*, 1998). Si sono quindi attestati cambiamenti temporali e regionali delle comunità e reti trofiche in Laguna di Venezia (Tagliapietra *et al.*, 1998). Con l'arrivo dell'autunno e il diminuire dell'irraggiamento solare e della temperatura l'acqua torna ad ossigenarsi grazie anche alle correnti e ai venti e le comunità tornano a cambiare. In questo modo le comunità cambiano di composizione in termini di specie in base alla stagione per potersi adattare alla variabilità ambientale di ossigeno disciolto e temperatura in Laguna di Venezia. (Flindt *et al.*, 1997; Tagliapietra *et al.*, 1998).

In questo lavoro si sono ottenuti risultati simili ad un esperimento eseguito su due popolazioni di *Danio rerio* (Hamilton, 1882), un pesce d'acqua dolce appartenente alla famiglia dei ciprinidi, originario del sud-est asiatico e utilizzato in tutto il mondo come organismo modello (Spence *et al.*, 2008), in cui vi era una popolazione di laboratorio sottoposta a condizioni costanti e una selvatica sottoposta a condizioni di temperatura fluttuante. Queste sono state stabulate per 35 giorni in laboratorio a 15 diverse temperature dai 10° ai 38°C e la popolazione selvatica ha dimostrato una leggera, ma significativamente maggiore tolleranza termica. Questo risultato ha dimostrato che nella coorte di *zebrafish* mantenuta in laboratorio la plasticità termica è ridotta in seguito all'esposizione a condizioni di laboratorio costanti per almeno 150 generazioni (Morgan *et al.*, 2022).

Nel caso di questo studio, *C. aestuarii* è sottoposto alla variazione di due variabili associate: ossigeno disciolto e temperatura. L'organismo percepisce la temperatura crescente come variabile esterna, che è un fattore contemporaneo all'incremento metabolico e al conseguente aumento del tasso di ossigeno richiesto per l'organismo. Una possibile interpretazione dei nostri risultati è che con l'aumento di temperatura dell'acqua l'organismo stabulato in condizioni variabili beneficia di un meccanismo a *feedforward* in quanto risulta "preparato" fisiologicamente all'aumentare della richiesta di ossigeno essendo stato stabulato e quindi acclimatato a questa variazione di temperatura e ossigeno. Gli organismi sottoposti a condizioni costanti risulterebbero invece soggetti ad un meccanismo a *feedback*, poiché l'organismo non ha esperito variazioni ambientali e non ha di conseguenza avuto modo di adottare meccanismi per anticipare questa variazione ambientale, che è rimasta costante, o comunque poco variabile (Bernhardt *et al.*, 2020).

È ragionevole attribuire il fatto che gli organismi sottoposti a condizioni costanti presentino una mortalità a temperature più basse degli organismi stabulati in condizioni variabili ai due diversi meccanismi messi in atto per affrontare variazioni ambientali, e da cui dipende la conseguente efficienza nell'omeostasi. In dettaglio, gli organismi sottoposti a fluttuazioni cicliche potrebbero anticipare la variazione ambientale e modificare la propria condizione fisiologica in funzione dell'imminente variazione ambientale. Al contrario gli organismi sottoposti a condizioni costanti "rincorrono" l'evento climatico adottando una risposta

fisiologica più costosa e meno efficiente una volta che è avvenuta l'evento di stress ambientale (Bernhardt *et al.*, 2020).

Il progressivo cambiamento climatico rischia di complicare l'uso del meccanismo a *feedforward*, ovvero di farlo attivare in un momento sbagliato rispetto alla variazione ambientale a cui dovrebbe rispondere, che può essere prima o dopo, alterando eccessivamente le variazioni ambientali che vengono usate come segnale dagli organismi per innescare i processi di risposta omeostatica (Wigley *et al.*, 1998). Ad esempio, molte specie utilizzano il cambiamento delle stagioni percepito attraverso la variazione dell'intensità luminosa per mettere in atto meccanismi proattivi, la variazione di questi segnali o la perdita di sincronicità delle diverse variabili ambientali (come un anticipo eccessivo dell'innalzamento termico) potrebbe avere effetti negativi sul meccanismo omeostatico degli organismi e potrebbe essere in casi estremi letale (Ruokolainen *et al.*, 2009). Un ulteriore problema è dato dall'interferenza, che può essere sonora o luminosa, che può creare l'uomo con le proprie attività, e queste interferenze alterano il modo con cui gli organismi percepiscono i segnali (Fisher *et al.*, 2006). Sono in effetti conosciuti su scala globale ecosistemi nei quali queste variazioni influenzano la fisiologia, e quindi la vita degli organismi (Bernhardt *et al.*, 2020).

Per due gruppi di organismi che hanno esperito condizioni diverse relativamente prolungate, in questo caso costanti e variabili, le performance a seguito delle variazioni di un determinato fattore ambientale possono apparire significativamente diverse. Per organismi sottoposti a condizioni costanti ci si aspettano elevate performance verso un valore medio, mentre le performances saranno più basse verso i valori estremi di un determinato fattore ambientale (Liefing *et al.*, 2009), come ad esempio temperatura o ossigeno disciolto. Per organismi sottoposti a condizioni variabili ci si aspetta performance più basse rispetto agli organismi stabulati in condizioni costanti verso un valore medio, ma più elevate verso i limiti di quel determinato fattore ambientale (Morgan *et al.*, 2022). I risultati del presente esperimento confermano queste aspettative, infatti gli organismi stabulati in condizioni costanti mostrano un andamento della curva di mortalità verso valori di temperatura più bassi, dimostrando una ridotta plasticità verso un limite estremo di temperatura, mentre gli organismi stabulati in condizioni variabili presentano un andamento della curva di mortalità verso valori di temperatura più estremi di circa 1 C° rispetto alla curva degli organismi stabulati in condizioni costanti, dimostrando un'elevata plasticità. Essendo la plasticità fisiologica costosa dal punto di vista energetico, per un organismo che vive in un ambiente costante non ha utilità mantenere una plasticità fisiologica elevata, piuttosto conviene sfruttare al massimo l'energia per mantenere alte performance verso un valore costante (Snell-Rodd *et al.*, 2010). Il contrario avviene per organismi sottoposti ad un ambiente eterogeneo in cui è utile sfruttare l'energia per mantenere ampia plasticità ma i costi riducono le alte performance per un valore medio ottimale (Dewitt *et al.*, 1998). Gli organismi devono trovare quindi dei compromessi dati da costi energetici per mantenere una plasticità fisiologica da un lato e dalla frequenza con cui sono sottoposti a variazioni ambientali durante la loro vita dall'altro (Dewitt *et al.*, 1998).

## BIBLIOGRAFIA

- Angilletta M. J., Niewiarowski P.H., Navas C.A. (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 27: 249–268.
- Bernardt J. R., O' Connor M. I., Sunday J. M., Gonzalez A. (2020). Life in fluctuating environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 375: 20190454.
- Berril M. (1982). The life cycle of the green crab *Carcinus maenas* at the northern end of its range. *Journal of Crustaceans Biology* 2: 31–39.
- Bonometto L. (2014). *Il respiro della Laguna*. Corte del Fontego editore. Venezia.
- Booth J. M., Fusi M., Giomi F., Chapman E. C. M., Diele K., McQuaid C. D. (2021). Diel oxygen fluctuation drives the thermal response and metabolic performance of coastal marine ectotherm. *Proceedings of the Royal Society B* 288 : 20211141.
- Chevin L. M., Lande R., Mace G. M. (2010). Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: Towards a predictive theory. *PLoS Biology* 8: e1000357.
- Dewitt T. J., Sih A., Wilson D. S. (1998). Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 77–81.
- Diaz R. J., Rosenberg R. (2008). Spreading Dead Zones and Consequences for Marine Ecosystems. *Science* 321: 926.
- Dusenbery D. B. (1992). *Sensory ecology how organisms acquire and respond to information*. New York, NY: Freeman.
- Fisher H. S., Wong B. B. M., Rosenthal G. G. (2006). Alteration of the chemical environment disrupts communication in a freshwater fish. *Proceedings of the Royal Society B* 273: 1187–1193.
- Flindt M. R., Kamp-Nielsen L., Marques J. C., Pardal M. A., Bocci M., Bendoricchio G., Salomonsen J., Nielsen S. N., Jorgensen S. E. (1997). Description (Portugal), of the three shallow estuaries: Mondego River Roskilde Fjord (Denmark) and the Lagoon of Venice (Italy). *Ecological modelling* 102: 17-31.
- Giomi F., Barausse A., Duarte C. M., Booth J., Agusti S., Saderne V., Anton A., Daffonchio D., Fusi M. (2019). Oxygen supersaturation protects coastal marine fauna from ocean warming. *Science advances* 5: 9.
- Guadagnin G. (2021). Variabilità spaziale e temporale dell'ossigeno disciolto in ecosistemi marino-costieri. Tesi di laurea in Biologia Marina, Università degli Studi di Padova, a. a. 2020/2021.
- Haselmair A., Stachowitsch M., Zuschwin M., Riedel B. (2010). Behavior and mortality of benthic crustaceans in response on experimentally induced hypoxia and anoxia in situ. *Marine Ecology progress series* 414: 195-208.



- Hyde J. N. (2006). Risposte fisiologiche allo stress termico in *Carcinus aestuarii*. Elaborato di laurea in Biologia, Università degli studi di Padova, a. a. 2005/2006.
- Iriarte A., Villate F., Uriarte I., Alberdi L., Intxausti L. (2014). Dissolved Oxygen in a Temperate Estuary: The Influence of Hydro-climatic Factors and Eutrophication at Seasonal and Inter-annual Times Scales. *Estuaries and Coasts* (2015) 38: 1000-1015.
- Koike F., Iwasaki K. (2011). A simple range expansion model of multiple pathways: the case of nonindigenous green crab *Carcinus aestuarii* in Japanese waters. *Biological Invasions* 13: 459–470.
- Leignel V., Stillman J. H., Baringou S., Thabet R., Methais I. (2014). Overview on the european green crab *Carcinus* spp. (Portunidae, Decapoda) one of the most famous marine invaders and ecotoxicological models. *Environmental science and pollution research* 21: 9129-9144.
- Liefting M., Hoffmann A. A., Ellers J. (2009). Plasticity versus environmental canalization: Population differences in thermal responses along a latitudinal gradient in *Drosophila serrata*. *Evolution* 63: 1954–1963.
- Lopes J. F., Silva C. (2006). Temporal and spatial distribution of dissolved oxygen in the Ria de Aveiro lagoon. *Ecological Modelling* 197: 67-88.
- Matozzo V., Marin M. G., Gallo C. (2011). Effects of temperature on cellular and biochemical parameters in the crab *Carcinus aestuarii* (Crustacea, decapoda). *Marine environmental research*. 7: 351-356.
- Ministero delle Infrastrutture e dei trasporti - Magistrato alle Acque. Ispettorato Generale per la laguna di Venezia, Marano e Grado e per l'attuazione della legge per la Salvaguardia di Venezia - Sezione Antinquinamento (2008). Il monitoraggio SAMANET della qualità delle acque della laguna di Venezia.
- Morgan R., Andreassen A. H., Asheim E. R., Finnoen M. H., Dresler G., Brembu T., Loh A., Miest J. J., Jutfelt F. (2022). Reduced Physiological plasticity in a fish adapted to stable temperatures. *PNAS* 119: 22.
- Panin M. (2006). Studio degli effetti dello stress termico sulla sintesi di HSP70 in crostacei portunidi. Elaborato di laurea in Biologia, Università degli studi di Padova, a. a. 2005/2006.
- Peng J., Cao Z. D., Fu S. J. (2014). The effect of constant and diel fluctuation temperature acclimation on the tolerance, swimming capacity, specific dynamic action and growth performance of juvenile Chinese bream. *Comparative biochemistry and physiology part A: Molecular & integrative physiology* 176: 32-40.
- Potente I. (2006). Variabilità funzionale e strutturale su base fenotipica dell'emocianina in *Carcinus aestuarii*. Elaborato di laurea in Biologia, Università degli studi di Padova. a. a. 2005/2006.

- Qyli M., Aliko V. (2017). The impact of short-term exposure to hypoxia on Mediterranean crab *Carcinus aestuarii*. Albanian Journal of Agricultural Sciences.
- Qyli M., Aliko V., Faggio C., (2020). Physiological and biochemical response of mediterranean green crab, *Carcinus aestuarii*, to different environmental stressors, evaluation of hemocytes toxicity and its possible effect on immune response. Comparative biochemistry e toxicology part C: toxicology e pharmacology. 231: 10789.
- Resco V., Hartwell J., Hall A. (2009). Ecological implications of plants' ability to tell the time. Ecology Letters. 12: 583–592.
- Ruokolainen L., Lindén A., Kaitala V., Fowler M. S. (2009). Ecological and evolutionary dynamics under coloured environmental variation. Trends in Ecology & Evolution. 24: 555–563.
- Snell-Rood E. C., Van Dyken J. D., Cruickshank T., Wade M. J., Moczek A. P. (2010). Toward a population genetic framework of developmental evolution: The costs, limits, and consequences of phenotypic plasticity. BioEssays 32: 71–81.
- Solidoro C., Bandelj V., Bernardi Aubry F., Camatti E. (2010). Response of the Venice Lagoon Ecosystem to Natural and anthropogenic pressure over the last 50 years. Coastal lagoons: critical habitats of environmental change. 19: 483-511.
- Somero G. N. (2010). The physiology of climate change: How potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. Journal of Experimental Biology 213: 912–920.
- Spence R., Gerlach G., Lawrence C., Smith C. (2008). The behavior and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. Biological Reviews 83: 13-34.
- Tagliapietra D., Basset A., Magni P., Viaroli P. (2014). Ecosistemi costieri di transizione, trasformazioni recenti, pressioni antropiche dirette e possibili effetti del cambiamento climatico. Biologia ambientale 28 (2): 101-111.
- Tagliapietra D., Pavan M., Wagner C. (1998). Macrobenthic Community Changes Related to Eutrophication in Palude della Rosa (Venetian Lagoon, Italy). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 47: 217–226.
- Von Bertalanffy L. (1956). General Systems theory. General Systems 1: 11–17.
- Wigley T. M. L., Smith R. L., Santer B. D. (1998). Anthropogenic influence on the autocorrelation structure of hemispheric-mean temperatures. Science 282: 1676–1679.
- Yamada S. B., Hauck L. (2001). Field identification of the European green crab species *Carcinus maenas* and *Carcinus aestuarii*. Journal of Shellfish Research 20(3): 905–912.