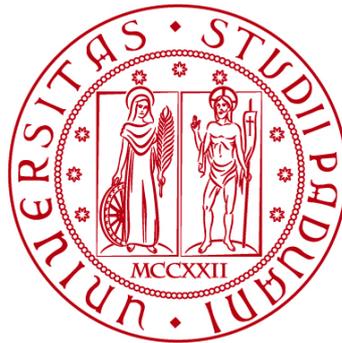


UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

**Efficacia Comparativa dei Metodi di
Reclutamento In Situ ed Ex Situ per Gongolaria
barbata: Uno Studio su Tre Siti Naturali nella
Laguna di Venezia**

**Tutor: Dott. Marco Munari
Dipartimento di Biologia
Co-Tutor: Ilaria D'Aniello
Dipartimento di Biologia**

Laureando: Giovanni Vecchiatti

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

INDICE

ABSTRACT	2
1. INTRODUZIONE.....	3
1.1 Le foreste di macroalghe.....	3
1.2 Stato attuale e conservazione	4
2. SCOPO DEL LAVORO	7
3. MATERIALI E METODI	8
3.1 Ex Situ.....	8
3.2 In Situ.....	10
4. RISULTATI	13
4.1 Ex Situ.....	14
4.2 In Situ.....	17
5. DISCUSSIONE.....	20
6. CONCLUSIONE.....	22
7. BIBLIOGRAFIA.....	23
8. SITOGRAFIA	28

ABSTRACT

Le macroalghe brune dei generi *Cystoseira*, *Ericaria* e *Gongolaria* sono importanti ingegneri ecosistemici delle coste rocciose del Mediterraneo e degli altri mari temperati, specialmente nell'emisfero Nord. Data la loro precedente classificazione tassonomica e le comuni funzioni ecosistemiche, ci si riferisce comunemente a queste specie come *Cystoseira sensu lato*. Nelle acque poco profonde tra la zona litorale e quella sublitorale crescono in foreste formanti *canopies* che rappresentano un habitat ricco di numerose specie di pesci e invertebrati, contribuendo quindi al mantenimento della biodiversità della meiofauna e inoltre alla produzione primaria costiera e al ricircolo dei nutrienti.

Questi ecosistemi sono in declino a causa dell'impatto antropico, risentendo dell'inquinamento, del riscaldamento globale, dell'introduzione di specie invasive e della pesca eccessiva che comporta un aumento delle popolazioni di *grazers*. Le foreste vengono degradate e sostituite da ecosistemi meno strutturati chiamati *barren grounds* in cui dominano alghe formanti *turfs* e ricci di mare.

Numerose specie del genere *Cystoseira s.l.* sono protette dalle convenzioni di Berna e di Barcellona e considerate vulnerabili dall'IUCN.

Raramente queste foreste sono in grado di riprendersi spontaneamente una volta danneggiate, rendendo necessari interventi di restauro attivo. Diversi progetti a livello europeo quali AFRIMED e MERCES hanno sviluppato protocolli per il restauro delle foreste macroalgali nel Mediterraneo.

In questo ambito, vengono selezionati siti idonei in cui inserire individui reclutati a partire da una popolazione donatrice, valutando anche la specie più adeguata in relazione alle condizioni ambientali della zona dove si intende intervenire.

La coltivazione delle reclute può avvenire *In Situ* o *Ex Situ* e in entrambi i casi prevede l'utilizzo di substrati duri su cui il recruitment può avvenire spontaneamente. Nel primo caso gli individui vengono coltivati direttamente nell'area dove poi formeranno la nuova foresta, mentre nel secondo caso sono coltivati in acquari in condizioni che replicano quelle naturali, e successivamente trapiantati quando raggiungono le dimensioni adeguate.

Lo scopo di questo lavoro è valutare l'efficienza, anche in termini comparativi, di questi due metodi applicati a *Gongolaria barbata*, una specie comunemente presente lungo le coste del Mediterraneo, in particolare lungo la costa ovest del Mar Adriatico e nella laguna di Venezia. Quest'ultimo è il sito target della mia ricerca.

1. INTRODUZIONE

1.1 LE FORESTE DI MACROALGHE

Le macroalghe brune appartenenti agli ordini *Fucales* e *Laminariales* sono importanti *habitat-formers* che formano quelle che si possono definire foreste marine nella zona intertidale e subtidale lungo le coste di regioni temperate e subpolari (Verdura et al., 2018).

Rappresentano le specie algali più complesse del Mediterraneo (Mangialajo et al., 2008), ed essendo ingegneri ecosistemici danno origine a foreste considerate tra i sistemi più produttivi al mondo (Jones et al., 1994; Tait & Schiel, 2011). Queste foreste modulano le risorse disponibili alle altre specie e alterano le condizioni fisiche dell'ambiente, riducendo la presenza di luce e l'idrodinamismo ed incrementando la sedimentazione (Teagle et al., 2017).

Oltre ad essere importanti siti di produzione primaria e di ricircolo di nutrienti (Airoldi et al., 2014), grazie alle loro *canopies* offrono habitat tridimensionali protetti e ricchi di risorse alimentari, rappresentando importanti aree di nursery per individui giovanili appartenenti a varie specie di invertebrati e pesci della zona litorale di importanza sia ecologica che commerciale (Cheminée et al., 2013; Cheminée et al., 2017; Smale et al., 2013).

Svolgono inoltre un importante ruolo nella fissazione della CO₂, ed il carbonio integrato nella biomassa algale viene messo poi in circolo nell'ecosistema con il grazing e i processi di decomposizione (Mineur et al., 2015).

Costituiscono importanti substrati secondari che vanno ad aumentare la complessità strutturale dei fondali rocciosi (Piazzi et al., 2018), offrendo numerosi nuovi habitat. Sono infatti ecosistemi estremamente ricchi in biodiversità, in cui si riscontra un'abbondanza di organismi appartenenti a meiofauna e macrofauna, di invertebrati e pesci e anche di specie epibionte sia animali che vegetali (Christie et al., 2009; Bellanti et al., 2024).

Lungo le coste rocciose e poco profonde del Mediterraneo tra le specie *habitat-formers* prevalgono le alghe del genere *Cystoseira sensu lato* spp. (Fucales, Ochrophyta) (Bianchelli et al., 2016), il quale è stato recentemente diviso nei tre generi distinti *Cystoseira*, *Ericaria* e *Gongolaria* (Orellana et al., 2019; Molinari & Guiry, 2020). Sono paragonabili a foreste di kelps in scala ridotta, con canopies che generalmente non eccedono i 20-40 cm ma strutturalmente di simile complessità (Bevilacqua et al., 2021; Mangialajo et al., 2008). Molte di queste specie sono endemiche del Mediterraneo, considerato un hot-spot per questi generi (Gianni et al., 2013).

1.2 STATO ATTUALE E CONSERVAZIONE

A livello globale si sta assistendo a una riduzione nella presenza delle foreste di macroalghe riconducibile all'impatto antropico e una situazione analoga è riscontrabile anche nello stato delle foreste di *Cystoseira s.l.* in tutto il Mediterraneo (Tait & Schiel, 2011; Orlando-Bonanca et al., 2021; Mangialajo et al., 2008; Thibaut et al., 2015; Airoidi et al., 2014).

Un importante fattore che sta minando la sopravvivenza di queste foreste è rappresentato dall'overfishing: i predatori dei livelli trofici superiori (tra cui le specie di interesse commerciale appartenenti al genere *Diplodus*) esercitano un controllo di tipo top-down sul resto dell'ecosistema e una loro diminuzione comporta un conseguente aumento delle popolazioni di ricci di mare, i più importanti erbivori bentonici dei fondali rocciosi del Mediterraneo (Sala et al., 2012), e quindi del loro grazing sulle alghe erette (Sini et al., 2019; Bevilacqua et al., 2021). L'overgrazing ha come conseguenza il passaggio da un ecosistema ricco come le foreste macroalgali a delle comunità più povere e meno strutturate definite *barren grounds*, dominate da alghe filamentose o formanti *turfs* (Bevilacqua et al., 2021; Orlando-Bonanca et al., 2021; Agnetta et al., 2015; Thibaut et al., 2015). Nel Mediterraneo le specie di ricci di mare più diffuse sono *Paracentrotus lividus* e *Arbacia lixula* (Guarnieri et al., 2020), entrambe coinvolte nella transizione ai *barren grounds*: *P. lividus* risulta essere il responsabile del grazing sulle foreste, mentre *A. lixula*, onnivoro, è causa della persistenza nel tempo dei *barren grounds* (Piazzi & Ceccherelli, 2019).

Anche l'attività dei pesci erbivori non è un fattore trascurabile nel declino di questi ecosistemi, soprattutto per effetto di specie aliene invasive (IAS) introdotte dall'uomo come nel caso di alcuni pesci coniglio (*Siganus spp.*) ora diffusi nel Mediterraneo orientale dopo essere entrati attraverso il canale di Suez (Sala et al., 2012; Gianni et al., 2017).

Le alghe del genere *Cystoseira s.l.* sono sensibili ad un gran numero di stress (Mangialajo et al., 2008), ed altre cause che contribuiscono al ritiro delle *canopies* sono eutrofizzazione, urbanizzazione e sviluppo costiero con la conseguente distruzione di habitat ed aumento della presenza di sostanze inquinanti, acquacoltura, eccesso di sedimenti (Airoidi & Beck, 2007; Claudet & Frascetti, 2010; Airoidi et al., 2014; Thibaut et al., 2015), e dai danni causati dalle reti da pesca (Thibaut et al., 2005).

Il Mediterraneo è ritenuto un hotspot per il cambiamento climatico a causa della sua morfologia e dell'elevata urbanizzazione (Pastor et al., 2020), dove il riscaldamento

è elevato e si verificano sempre più spesso anomalie climatiche (Lokovšek et al., 2024).

Anomalie termiche acute e durature, quali possono essere le *marine heatwaves* (MHWs), possono alterare il ciclo biologico e riproduttivo di *Cystoseira s.l.* e delle altre macroalghe brune causando anche periodi di infertilità (Bevilacqua et al., 2019).

L'aumento delle temperature dovuto al riscaldamento globale ha tra le conseguenze un aumento della pressione dei grazers sui reef rocciosi (Santana-Garçon et al., 2023; Lokovšek et al., 2024). Inoltre esso influenza anche il ciclo vitale delle macroalghe interferendo con fertilizzazione, gametogenesi e con la crescita in particolare durante le prime fasi di vita, quando questi organismi sono molto più vulnerabili (Lokovšek et al., 2024) e che rappresentano un “collo di bottiglia” nello sviluppo delle popolazioni algali (Lotze et al., 2001; Lokovšek et al., 2024). Queste conseguenze ricadono poi su tutti gli organismi che hanno relazioni con l'habitat formato dalle macroalghe (Lokovšek et al., 2024).

Anche se le condizioni tornano ad essere favorevoli, dopo il declino delle popolazioni di *Cystoseira s.l.* difficilmente si assiste a un ritorno spontaneo alla situazione di partenza (Cebrian et al., 2021). Ciò può essere ricondotto a vari aspetti biologici di questi organismi, tra cui crescita lenta e scarsa diffusione dei propaguli (Orfanidis et al., 2021).

Tutte le specie di *Cystoseira s.l.* ad eccezione di *C. compressa* sono considerate minacciate o a rischio dalla Convenzione di Barcellona (Barcelona Convention-Annex II), protette dalla convenzione di Berna e considerate vulnerabili da alcune organizzazioni internazionali tra cui IUCN (International Union for Conservation of Nature) e RAC/SPA (Regional Activity Center for Specially Protected Areas) (Falace et al., 2018).

Uno strumento efficace per la salvaguardia delle foreste macroalgali è rappresentato dall'istituzione di aree marine protette (MPAs) che, offrendo protezione da overfishing, urbanizzazione e altre cause di stress, consentono la presenza di condizioni ambientali favorevoli al mantenimento e alla rigenerazione delle foreste algali (Sala et al., 2021; Mancuso et al., 2024). Le aree in cui abbondano la biodiversità macroalgale e l'abbondanza di individui possono inoltre essere utilizzate come siti donatori di propaguli per il restauro di foreste in altre zone, anche esterne alle aree protette (Mancuso et al., 2024). In alcuni casi, tuttavia, le MPAs possono non rivelarsi strumenti di salvaguardia efficaci, in quanto il turismo che queste attraggono può dare origine a condizioni di disturbo, specialmente in zone dove i regolamenti non vengono applicati a pieno (Thibaut et al., 2005; Mancuso et al., 2024).

Nell'ambito del restauro delle foreste di *Cystoseira s.l.* danneggiate nel Mediterraneo sono stati sperimentati diversi metodi di reclutamento, coltivazione e trapianto di individui e hanno avuto origine anche alcuni progetti quali AFRIMED (Algal Forest Restoration In Mediterranean Sea) e MERCES (Marine Ecosystem Restoration in Changing European Seas) (Cebrian et al., 2021), con l'obiettivo di sviluppare tecniche efficienti per il restauro di questi ecosistemi anche su larga scala e in vista delle condizioni ambientali future, per ottimizzare la conservazione di questi habitat e massimizzare i benefici economici e i servizi ecosistemici che essi offrono (sito AFRIMED).

2. SCOPO DEL LAVORO

In natura raramente sono stati osservati recuperi spontanei delle foreste di *Cystoseira s.l.* anche dopo il ritorno a condizioni ambientali ottimali, e ciò evidenzia l'importanza di mettere a punto tecniche di restauro ambientale specifiche da applicare anche su larga scala. Per l'iniziale ripopolamento di siti in difficoltà si sono sperimentate tecniche sia di *transplantating* sia di *outplanting* (Cebrian et al., 2021).

Il *transplantating* è tra i due il metodo più spesso testato, e consiste nel trapianto di individui giovani o adulti da siti donatori a siti accettori. I siti donatori devono avere un adeguato numero di individui e la fissazione degli individui trapiantati nel sito accettore rappresenta la difficoltà maggiore di questo metodo (Falace et al., 2006; Falace et al., 2018). Inoltre, dato che la maggior parte delle specie del genere *Cystoseira s.l.* sono protette, non è conveniente espianare individui da popolazioni che ancora presentano una densità considerevole (Cebrian et al., 2021).

L'*outplanting* è invece un metodo meno invasivo, e quindi preferibile, che consiste nel reclutamento di nuovi germogli partendo da ricettacoli fertili di individui adulti, che vengono poi coltivati e inseriti, una volta raggiunte dimensioni adeguate, nei siti da restaurare (Falace et al., 2018).

Le alghe del genere *Cystoseira s.l.* si prestano molto bene a tecniche di *outplanting* poiché, in condizioni ottimali, un singolo individuo permette di generare un elevato numero di reclute, garantendo così l'efficienza del metodo di coltivazione senza andare a ridurre la popolazione dei siti donatori (Falace et al., 2018).

Lo scopo di questo lavoro è effettuare una comparazione fra le tecniche di coltivazione *In Situ* ed *Ex Situ* per *Gongolaria barbata* individuando la più adatta ed efficiente al restauro delle foreste di questa specie, contestualizzandola in 3 diversi siti nella Laguna di Venezia.

3. MATERIALI E METODI

3.1 EX SITU

L'approccio *Ex Situ* prevede che il reclutamento e la coltivazione dei nuovi individui vengano eseguiti in modo controllato in degli acquari, per poi reinserire gli adulti nell'ambiente una volta raggiunte le dimensioni adeguate.

Per il reclutamento dei germogli è stato seguito un protocollo definito nel corso del progetto AFRIMED. Il campionamento è stato eseguito a Febbraio 2024, durante il periodo di fertilità di *Gongolaria barbata*, in 3 siti donatori nella Laguna di Venezia (Fig. 2), per garantire una maggiore variabilità.

Sono stati tagliati gli apici dei rami fertili di individui adulti, in cui sono presenti i ricettacoli (Fig. 1.A) con i concettacoli che contengono i gameti (Fig. 1.B), e sono stati trasportati al laboratorio in dei sacchetti di plastica senz'acqua, e tenuti al freddo e al buio.

In laboratorio, dopo aver accertato al microscopio che i concettacoli fossero effettivamente maturi, i rami sono stati tenuti una notte negli stessi sacchetti al buio in un frigo a 4°C. Questo passaggio al freddo promuove la liberazione degli zigoti una volta che i ricettacoli vengono rimessi in acqua.

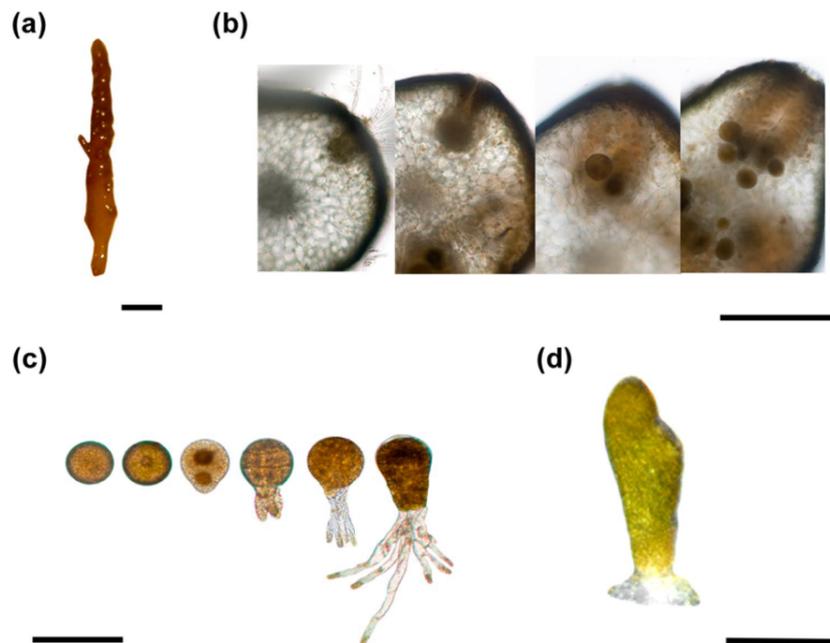


Figura 1- Sviluppo e maturazione dei ricettacoli di *Gongolaria barbata* (14 °C in AT); a) ricettacolo apicale (scala della barra = 2 mm); b) sviluppo dei concettacoli di *G. barbata* (scala della barra = 500 μ m); c) fertilizzazione e sviluppo degli embrioni di *G. barbata* in 1 settimana (scala della barra = 200 μ m); d) germogli dopo 2 settimane di crescita (scala della barra = 1 mm) (Kaleb et al., 2023).

Nel mentre sono stati preparati gli acquari con sistemi di filtrazione dell'acqua pescata direttamente dalla laguna, utilizzando un sistema aperto e quindi con continua immissione di nuova acqua.

Sul fondo degli acquari, come substrato per il reclutamento, sono state posizionate delle mattonelle di ceramica del diametro di circa 5cm, che rappresentano i supporti di crescita delle alghe durante tutto il loro sviluppo.

I rami di *Gongolaria barbata*, una volta rimossi dal congelatore, sono stati posti dentro a delle retine e tenuti a galleggiare sulla superficie dell'acqua in modo da coprire tutta la superficie in modo omogeneo per distribuire equamente gli zigoti.

Per facilitare il rilascio e il reclutamento degli zigoti sulle mattonelle per i primi 4 giorni non c'è stato ricambio d'acqua. La temperatura della stanza è stata mantenuta costante a 23°C, sfruttando illuminazione naturale.

Le mattonelle sono state poi lasciate in questi acquari alle condizioni precedentemente indicate per circa due mesi, riattivando i flussi del sistema aperto.

A questo punto è stata preparata una vasca all'esterno (Fig. 3) con flusso d'acqua aperto e proveniente sempre dalla laguna. Non è stato inserito un sistema di filtraggio e il fotoperiodo, essendo poste all'esterno, era dato dalle condizioni di illuminazione naturale, così come la temperatura sia esterna che dell'acqua.

I supporti con le reclute sono stati trasferiti individualmente in questa vasca e posizionati su delle cassette ancorate in modo da tenerli separati dal fondo e per facilitarne il monitoraggio e limitare la sedimentazione.

Infatti, vista l'assenza del sistema di filtraggio e data l'elevata presenza di sedimenti e particelle in sospensione nell'acqua lagunare, è stato necessario effettuare frequenti operazioni di pulizia delle mattonelle utilizzando delle pinzette per rimuovere sedimenti e forme epifitiche che avrebbero potuto ostacolare la crescita delle reclute.

Per il monitoraggio della crescita delle reclute sono state sviluppate delle *heatmaps* raffiguranti i supporti con tutte le mattonelle con indicato il numero approssimativo di individui presenti su ciascuna di esse, e progressivamente sono state separate quelle vuote riorganizzando poi la disposizione di quelle rimanenti.

Sulla base del numero di mattonelle su cui si osservava ancora presenza di alghe all'ultimo monitoraggio rispetto al totale è stato calcolato un tasso di successo percentuale per questo metodo di coltivazione.

Sono poi stati calcolati i tassi di reclutamento, rapportando il massimo numero registrato di mattonelle con reclute rispetto al totale, e di sopravvivenza, rapportando il numero di individui presenti dopo l'ultimo monitoraggio con il massimo numero registrato.

3.2 IN SITU

L'approccio *In Situ* prevede che il reclutamento e la crescita avvengano direttamente in campo nel sito donatore, e gli organismi una volta raggiunte dimensioni adeguate verranno eventualmente trapiantati in siti accettori.

Per il reclutamento *In Situ* sono stati utilizzati gli stessi tre siti della laguna di Venezia in cui erano presenti popolazioni di *Gongolaria barbata* donatrici (Fig. 2). I tre siti scelti, grazie alla loro posizione, presentano caratteristiche ambientali ben diverse tra loro. Un sito è situato nei pressi del villaggio Ca' Roman, più vicino alla bocca di porto di Chioggia e quindi con condizioni di idrodinamismo più accentuate e maggiore salinità. Un secondo sito si trova presso Isola dell'Unione, che collega Chioggia e Sottomarina, in una zona dove l'impatto antropico sulla qualità delle acque è più evidente. Il terzo sito si trova presso Valle dei Sette Morti, in ambiente tipicamente lagunare.

In ciascun sito durante il periodo riproduttivo di *G. barbata*, a Marzo 2024, sono stati ancorati al fondale dei supporti metallici con legate ad essi delle mattonelle di ceramica di diametro circa 5cm ed in questo caso con un buco al centro per facilitarne la fissazione (Fig. 4).

Questi supporti sono stati fissati proprio al di sotto di talli adulti per le fasi di reclutamento, che avveniva spontaneamente in ambiente naturale, e crescita. Ad Agosto 2024 sono stati prelevati e trasportati nelle stesse vasche di coltivazione usate per il metodo *Ex Situ*, per verificare lo stato di crescita degli individui e facilitarne il monitoraggio. A questo punto sono state sviluppate delle *heatmaps* raffiguranti i supporti con le mattonelle con indicata la percentuale di copertura algale approssimativa su ciascuna di esse, ovvero una stima della superficie coperta osservandole dall'alto. Non è stata effettuata una stima del numero di individui poiché in alcuni supporti le alghe avevano raggiunto delle dimensioni che non consentivano di contare con precisione gli individui senza rischiare di danneggiarle o staccarle dal substrato.

Per ciascun sito e per il totale delle mattonelle posizionate è stata calcolata la percentuale di successo di questo metodo di coltivazione, ottenuta rapportando le mattonelle in cui erano presenti reclute rispetto a quelle vuote, interpretando come vuote anche quelle che non è stato possibile recuperare in quanto non rappresentano un successo.

È stata poi approfondita la differenza tra i tre siti in merito all'efficienza di crescita di *G. barbata* testando i valori delle percentuali di copertura osservati in ciascuno di essi. Inizialmente è stato eseguito un test di Shapiro-Wilk il quale ha permesso di affermare che i dati raccolti non seguono una distribuzione normale. Sulla base di questa informazione, è stato eseguito il test non-parametrico di Kruskal-Wallis

per esaminare le differenze tra i gruppi di dati, e post-hoc il test di Dunn per confrontare a coppie i tre siti e trovare nel dettaglio la differenza riscontrata dal test precedente. Inoltre, per comparare il successo dei metodi *In Situ* ed *Ex Situ*, le percentuali di successo calcolate per entrambi sono state confrontate con un test Z tra due proporzioni. Questi test sono stati eseguiti utilizzando il software R, versione 4.4.1.

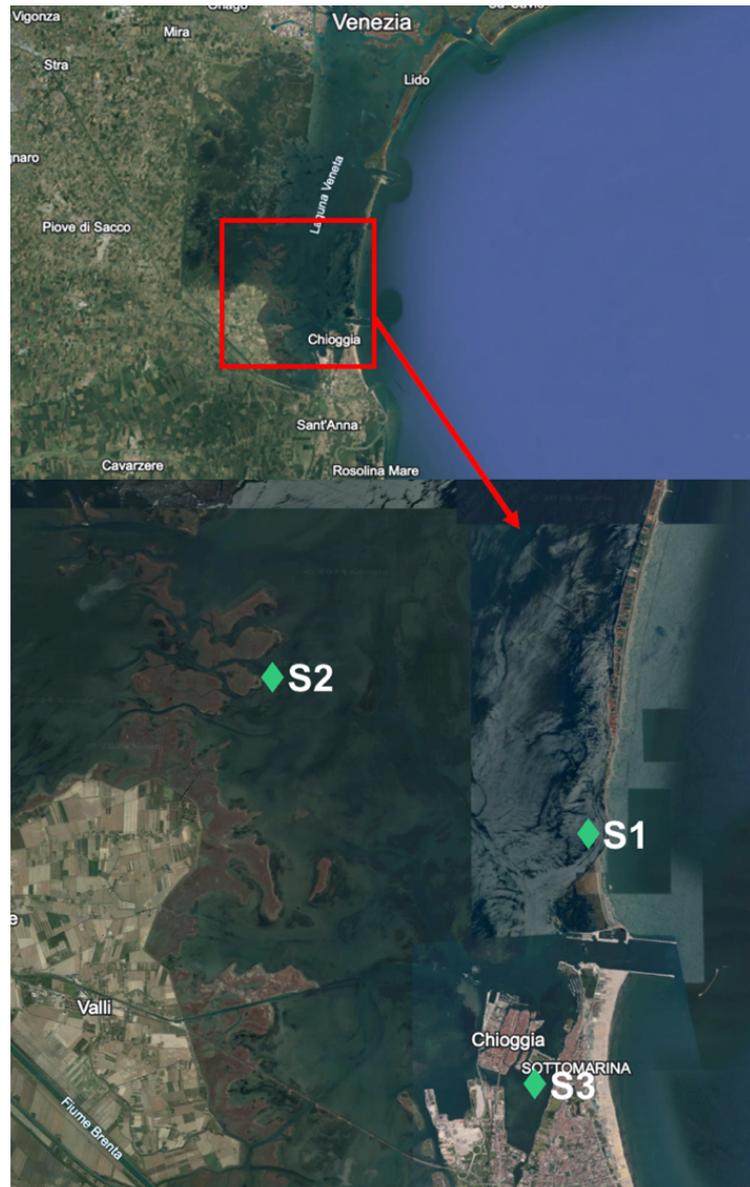


Figura 2 – I tre siti nella Laguna di Venezia. S1 indica il sito di Ca' Roman, S2 il sito di Valle dei Sette Morti e S3 il sito di Isola dell'Unione.



Figura 3 – Coltivazione *Ex Situ*.



Figura 4 – Supporti per la coltivazione *In Situ*.

4. RISULTATI

I risultati dell'analisi statistica sono riportati nelle Tabelle 1 e 2.

Tabella 1 – risultati dei test di Kruskal-Wallis e di Dunn eseguiti per comparare i risultati della coltivazione *In Situ*. Nella colonna “Fattore” è riportata la variabile oggetto del test (le percentuali di copertura delle mattonelle per ciascun sito, riportate nei dati della Tabella 4), nella colonna “P-value confronto totale” è riportato il p-value risultante dal test di Kruskal-Wallis, nella colonna “Comparazione siti” sono indicate le singole comparazioni tra siti effettuate nel test di Dunn e nella colonna “P-values singoli confronti” sono riportati i P-values risultanti dal test di Dunn. Gli asterischi (*) indicano i risultati significativi, cioè i P-values al di sotto del valore soglia $\alpha = 0,05$.

FATTORE	P-VALUE CONFRONTO TOTALE	COMPARAZIONE SITI	P-VALUES SINGOLI CONFRONTI
% DI COPERTURA	2,2e-16 *	CA' ROMAN - VALLE DEI SETTE MORTI	2,810151e-12 *
		VALLE DEI SETTE MORTI - ISOLA DELL'UNIONE	3,430383e-16 *
		ISOLA DELL'UNIONE - CA' ROMAN	1,00

Tabella 2 – risultati del test Z tra due proporzioni usato per comparare il successo dei metodi *In Situ* ed *Ex Situ*. Nella colonna “metodo” vengono separati i metodi *Ex Situ* ed *In Situ*, nella colonna “variabile” è indicata la variabile esaminata (la percentuale di successo dei due metodi), nella colonna “risultato” è riportata la percentuale di successo calcolata e nella colonna “P-value” è riportato il P-value risultante dal test Z tra due proporzioni. L'asterisco (*) posto di fianco al P-value risultante è usato per evidenziarne la significatività in quanto al di sotto del valore soglia $\alpha = 0,05$.

METODO	VARIABILE	RISULTATO	P-VALUE
EX SITU	% DI SUCCESSO	40,21	9,15e-05 *
IN SITU	% DI SUCCESSO	60,14	

4.1 EX SITU

Sotto sono illustrate le tre *heatmaps* sviluppate in momenti successivi per monitorare la crescita delle reclute. In legenda è presente, per ciascuna, una gradazione di colori che indicano le stime del numero di individui presenti su ciascuna mattonella.

La prima *heatmap* risale al 06/06/2024 (Fig. 5) e raffigura tutte le 291 mattonelle inizialmente utilizzate, comprese quelle vuote indicate in bianco.

Da questa prima analisi risultano essere presenti 142 mattonelle su cui è avvenuto il reclutamento di individui.

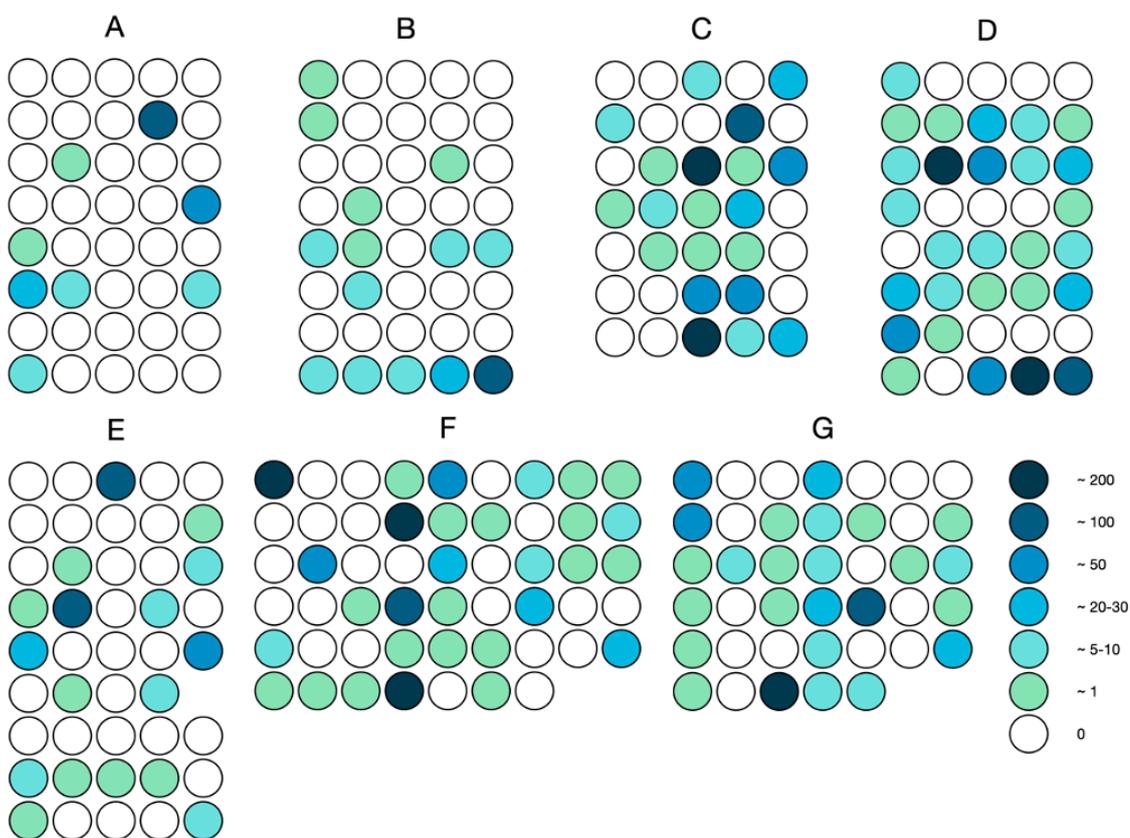


Figura 5 – *Heatmap* del 6 giugno 2024.

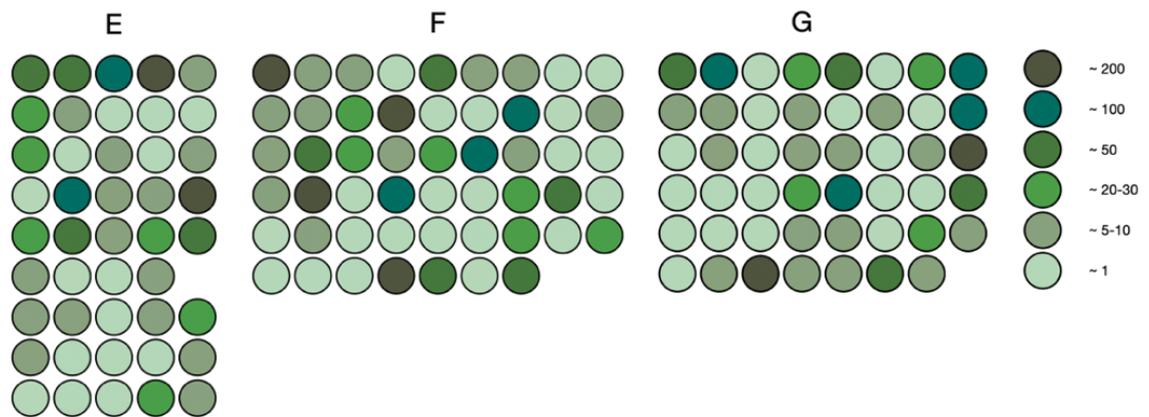


Figura 6 – *Heatmap* del 26 giugno 2024.

La seconda *heatmap* risale al 26/06/2024 (Fig. 6). In questa data sono state eliminate le mattonelle ritenute certamente vuote e le rimanenti sono state riorganizzate sui supporti E, F e G. In questo momento si contano 143 mattonelle su cui sono presenti individui.

La terza e ultima *heatmap* risale al 26/07/2024 (Fig. 7). Sono state eliminate altre mattonelle in cui non si osservava più crescita di germogli, ottenendo un totale di 117 mattonelle con presenza di individui.

Considerando anche i valori relativi al numero di individui sulle singole mattonelle, i dati complessivi sono stati riassunti nella tabella seguente (Tabella 3).

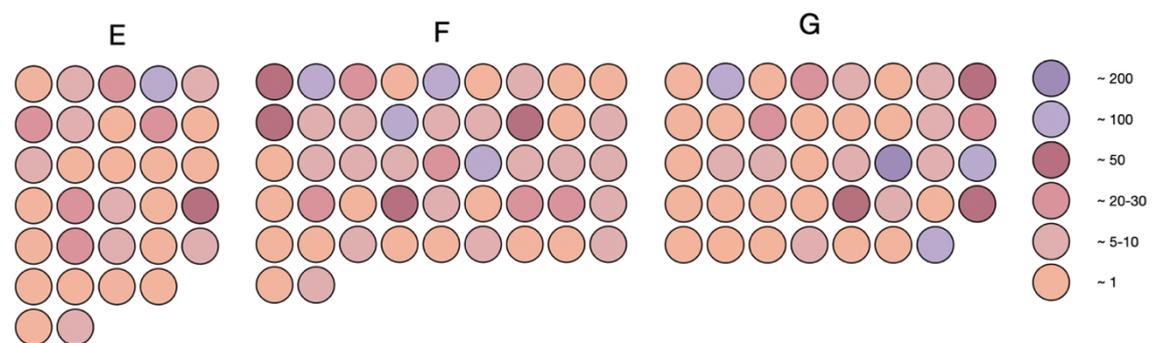


Figura 7 – *Heatmap* del 26 luglio 2024.

Tabella 3 – la tabella raffigura i valori relativi allo stato di crescita delle reclute di *G. barbata* nei tre momenti di analisi corrispondenti allo sviluppo delle *heatmaps* precedentemente illustrate. Nella colonna “Numero individui” sono indicati i numeri degli individui presenti sulle mattonelle; nelle colonne “N. mattonelle” è indicato quante mattonelle presentano un determinato numero di individui sulla loro superficie; nelle colonne “%” i valori di “N. mattonelle” sono riportati in percentuale rispetto al totale delle mattonelle per una più semplice comprensione. “N. mattonelle” e “%” sono replicate per le tre date del monitoraggio (06/06/2024, 26/06/2024 e 26/07/2024).

NUMERO INDIVIDUI	N. MATTONELLE 06/06	% 06/06	N. MATTONELLE 26/06	% 26/06	N. MATTONELLE 26/07	% 26/07
0	149	51,20%	148	50,86%	174	59,79%
~1	59	20,27%	55	18,90%	52	17,87%
~5-10	39	13,40%	42	14,43%	35	12,03%
~20-30	16	5,50%	16	5,50%	13	4,47%
~50	12	4,12%	13	4,47%	8	2,75%
~100	8	2,75%	9	3,09%	8	2,75%
~200	8	2,75%	8	2,75%	1	0,34%
TOT.	291	100,00%	291	100,00%	291	100,00%

I dati ottenuti sono stati utilizzati per calcolare i tassi percentuali di successo del metodo, di reclutamento e di sopravvivenza delle reclute.

Dai valori di 291 mattonelle inizialmente utilizzate per il reclutamento e 117 mattonelle con reclute presenti in seguito all’ultima analisi è stata calcolata la percentuale di successo stimata per questo metodo di coltivazione che è pari al 40,21%.

Il tasso di reclutamento, calcolato come il massimo numero di mattonelle su cui erano presenti reclute (143) in rapporto al totale (291), è del 49,14%.

Il tasso di sopravvivenza è invece stato calcolato come il numero di individui sopravvissuti fino all’ultimo monitoraggio in rapporto al numero di individui inizialmente presenti.

Considerando la prima *heatmap* del 06/06 la stima iniziale era di una presenza di 3752 individui, ma la massima presenza monitorata risale al 26/06, e conta 3920 individui, probabilmente a causa di una conta più accurata dopo la pulizia delle mattonelle effettuata prima del monitoraggio. Al 26/07 la presenza stimata è invece di 2040 individui. Il tasso di sopravvivenza, considerando quindi 3920 come valore iniziale di individui e 2040 come valore finale, è del 52,04%.

Si riporta anche un’altezza media delle reclute di circa 1 cm al 08/08/2024.

4.2 IN SITU

I dati raccolti dopo il prelievo dei supporti dai siti in campo e il monitoraggio dello stato di crescita effettuati il 08/08/2024 sono riassunti nella tabella sottostante (Tabella 4).

Tabella 4 – la tabella raffigura i dati relativi allo stato di crescita di *G. barbata* sulle mattonelle in campo recuperate ed esaminate il 08/08/2024. Nella colonna “% di copertura” sono indicate le varie percentuali di copertura della superficie presenti sulle mattonelle; Nelle colonne “N. mattonelle” sono indicate quante mattonelle presentavano una data percentuale di copertura; Nelle colonne “%” i valori di “N. mattonelle” sono riportati in percentuale rispetto al totale per una più immediata comprensione. Le colonne “N. mattonelle” e “%” sono ripetute per tutti e tre i siti in campo: “CR” indica il sito di Ca’ Roman, “UN” il sito di Isola dell’Unione e “SM” il sito di Valle dei Sette Morti.

% DI COPERTURA	N. MATTONELLE CR	% CR	N. MATTONELLE UN	% UN	N. MATTONELLE SM	% SM
NON RECUPERATE	11	16,92%	0	0,00%	8	20,51%
0	38	58,46%	0	0,00%	0	0,00%
~1-5	14	21,54%	6	15,38%	0	0,00%
~10	1	1,54%	10	25,64%	4	10,26%
~20	1	1,54%	1	2,56%	9	23,08%
~30	0	0,00%	0	0,00%	3	7,69%
~40	0	0,00%	0	0,00%	9	23,08%
~50	0	0,00%	0	0,00%	5	12,82%
~60	0	0,00%	0	0,00%	1	2,56%
~70	0	0,00%	1	2,56%	0	0,00%
~80	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
~90	0	0,00%	2	5,13%	0	0,00%
~100	0	0,00%	19	48,72%	0	0,00%
TOT.	65	100,00%	39	100,00%	39	100,00%

Il totale delle mattonelle è stato calcolato tenendo presente che su ogni supporto erano state montate 13 mattonelle, e che nel sito di Ca’ Roman sono stati posizionati 5 supporti mentre negli altri due siti solamente 3.

Il confronto grafico tra la crescita delle reclute nei tre siti è rappresentato nel grafico in Figura 8.

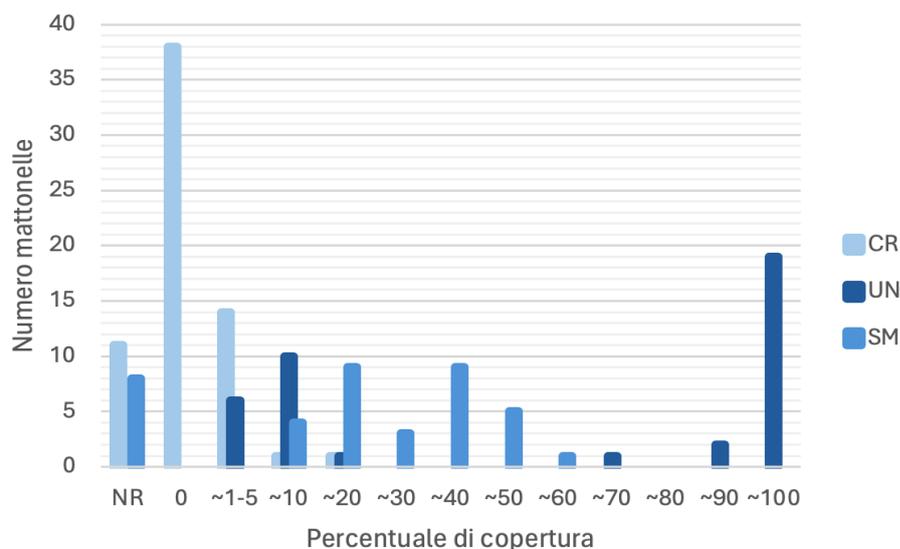


Figura 8 – Il grafico illustra le percentuali di copertura delle mattonelle recuperate dai siti in campo. Nell’asse delle ordinate sono riportati i numeri di mattonelle che presentano una determinata copertura, mentre nell’asse delle ascisse sono indicate le varie percentuali di copertura. In legenda sono riportati i tre colori che distinguono nel grafico i tre diversi siti: “CR” sta ad indicare il sito di Ca’ Roman, “UN” il sito di isola dell’Unione e “SM” quello di Valle dei Sette Morti.

Basandosi sui dati raccolti la percentuale di successo di questo metodo, calcolato come le mattonelle recuperate che presentano crescita di reclute (86) rispetto alle mattonelle inizialmente posizionate (143) risulta essere del 60,14%.

Per una migliore comparazione tra i tre siti, la percentuale di successo è stata calcolata per ognuno dei tre siti, ottenendo i seguenti risultati: 24,61% per Ca’ Roman, 100% per Isola dell’Unione e 79,49% per Valle dei Sette Morti.

Nel calcolo sono state considerate solo le alghe cresciute sulle mattonelle, tralasciando le eventuali reclute adese ai supporti stessi.

Il test Shapiro-Wilk per ciascun sito ha riportato p-values < 0,0001, ben al di sotto del valore soglia $\alpha = 0,05$, indicando che i dati relativi alle percentuali di copertura ottenuti non seguono una distribuzione normale.

Il test di Kruskal-Wallis ha restituito un p-value < 0,05 (Tabella 1), indicando che tra i tre gruppi di dati c’è una differenza significativa.

Tale differenza è stata testata più nello specifico con un test post hoc di Dunn, i cui risultati hanno permesso di affermare la presenza di una differenza significativa tra il sito di Ca’ Roman e gli altri due (p-values < 0,05), ma non tra Isola dell’Unione e Valle dei Sette Morti (p-value $\approx 1,0$) (Tabella 1).

Approfondendo meglio la condizione dei supporti al momento del recupero, per quelli posizionati nel sito di Ca’ Roman si osserva un’altezza media delle reclute di

1,5 cm e la presenza sul supporto di 3-4 altri individui con un'altezza più considerevole di circa 4-5 cm. Questi supporti risultano molto danneggiati e corrosi e le mattonelle presentano incrostazioni e altre specie algali che vi crescono.

I supporti del sito di Isola dell'Unione sono i più ricchi, con reclute che raggiungono un'altezza media di 7-8 cm e notevolmente ramificate, e numerosi individui adesi anche ai supporti. La presenza di altre specie algali sulle mattonelle è invece scarsa.

I supporti di Valle dei Sette Morti presentano reclute con un'altezza media di 3-4 cm e una decina di individui che crescono ancorati ai supporti e raggiungono un'altezza di 7-8 cm. Risultano essere presenti altre specie algali in basse concentrazioni e vari organismi tubicoli sulla superficie delle mattonelle.

Il successo del metodo *In Situ* è stato poi confrontato con quello del metodo *Ex Situ* tramite test *Z* tra due proporzioni che ha riportato un p-value $\simeq 9,15e^{-05}$ (Tabella 2), indicando una differenza significativa tra i due metodi.

5. DISCUSSIONE

I risultati ottenuti indicano un successo maggiore del metodo di coltivazione *In Situ* rispetto a quello *Ex Situ*, che potrebbe essere imputabile alle migliori condizioni di reclutamento che si sviluppano in ambiente naturale o alla presenza di altri fattori che influenzano positivamente la crescita di *G. barbata*. Tra questi si potrebbe ipotizzare un maggior ricambio della colonna d'acqua e di conseguenza un maggior apporto di nutrienti.

Anche il tasso di sopravvivenza delle reclute *Ex Situ* indica un'efficienza intermedia del metodo, così come la crescita degli individui che è stata nettamente inferiore a quella avvenuta *In Situ* nello stesso arco temporale. Per quanto riguarda proprio il tasso di sopravvivenza, un aspetto critico del protocollo utilizzato riguarda le operazioni di pulizia delle mattonelle, necessarie per evitare lo sviluppo eccessivo di specie competitive a crescita più rapida, ma che allo stesso tempo comportano dei rischi per la sopravvivenza delle reclute in quanto la piccola dimensione di queste rende difficile effettuare la pulizia senza danneggiare alcuni individui.

Ulteriori studi sono necessari per comprendere quali fattori, non replicati nelle vasche *Ex Situ*, abbiano avuto un'influenza positiva sulla crescita di *G. barbata* tale da giustificare le differenze nello sviluppo, anche in vista di un possibile utilizzo di queste informazioni per la selezione di siti adatti a progetti di restauro o per migliorare il protocollo di coltivazione. Va infatti tenuto conto che il metodo *Ex Situ* ha il vantaggio intrinseco di poter tenere sotto stretto controllo lo stato di crescita degli individui e le condizioni in cui questa avviene, eliminando alcune variabili potenzialmente dannose a cui invece le reclute sono esposte in ambiente naturale. Per quanto riguarda invece i tre siti in campo, sono state osservate differenze tra di essi che meritano di essere approfondite.

Per provare a comprenderne meglio le cause va fatto riferimento alle condizioni dell'ambiente acquatico in Laguna di Venezia.

Tipicamente si osserva una salinità più alta verso le bocche di porto e più bassa verso la terraferma, e che generalmente dipende molto dalla stagionalità, dalle maree e dalle precipitazioni atmosferiche. Anche la concentrazione di nutrienti, in particolare di azoto inorganico disciolto, viene influenzata dalla stagionalità e vede un picco invernale dovuto all'elevato apporto fluviale e al basso consumo da parte delle comunità, e diminuisce invece in estate dove si registra un minimo di concentrazione. Molte zone presentano una leggera iperossigenazione delle acque. Inoltre, nella zona di Chioggia si registra un'elevata quantità di materia in sospensione (Falace et al., 2004; Gieskes et al., 2013; Facca et al., 2011). La temperatura dell'acqua in laguna ha maggiore variabilità giornaliera e stagionale rispetto a quella del mare, ed è generalmente più calda d'estate e più fredda

d'inverno (Ferrarin et al., 2024). Le acque lagunari risultano anche generalmente inquinate da contaminanti derivati dai numerosi detriti, dal traffico navale e dalle conseguenze legate al turismo (Cecchi, 2021).

Ad ogni modo, la laguna è un ambiente estremamente variabile le cui condizioni possono cambiare giornalmente sotto l'influenza di vari fattori, e per stabilire con certezza un nesso causa-effetto tra la crescita di *G. barbata* e le condizioni dell'acqua sono necessari ulteriori studi appaiati ad un monitoraggio delle condizioni ambientali.

Alla luce delle considerazioni precedenti risalta che il sito di Ca' Roman, il quale si discosta significativamente dagli altri secondo i risultati ottenuti, è situato nelle vicinanze della bocca di porto di Chioggia, ed è perciò esposto a condizioni di salinità e idrodinamismo che potrebbero essere ben diverse da quelle degli altri due siti, e ciò potrebbe spiegare le differenze riscontrate a seguito di ulteriori approfondimenti. In altri studi si è osservata infatti una crescita di *G. barbata* che era ottimale a salinità inferiore e più moderata con l'aumentare della stessa (Lenzi et al., 2024). Lo stesso studio riporta una crescita migliore a temperature elevate. L'acidificazione invece non sembra avere effetti sulla crescita di questa specie (unpublished data).

Tra i siti di Isola dell'Unione e Valle dei Sette Morti i risultati ottenuti non riportano una differenza statisticamente significativa, ma i dati in fase di monitoraggio sono stati approssimati visivamente, e gli individui di *G. barbata* provenienti da Isola dell'Unione presentavano un'altezza e una complessità strutturale ben più sviluppate rispetto a quelli provenienti da Valle dei Sette Morti, portando attenzione all'importanza di ulteriori studi per stabilire con certezza la presenza di un'effettiva differenza e analizzare le possibili cause della diversa crescita degli individui. Va infatti notato che questi due siti si trovano anch'essi in condizioni ambientali ben diverse: Isola dell'Unione, facendo parte della zona urbana di Chioggia, presenta acque esposte agli scarichi cittadini e ad un frequente passaggio di imbarcazioni, oltre che in ambiente tipicamente lagunare, circondato da zone di barena, meno disturbato dal passaggio di imbarcazioni e lontano dalla città di Chioggia, in cui sono presenti anche foreste di altre specie algali.

6. CONCLUSIONE

In conclusione, con i protocolli seguiti il metodo di coltivazione *In Situ* nel complesso è stato più efficiente rispetto al metodo *Ex Situ* sia in termini di successo, sia in termini di crescita degli individui, e si sono evidenziate differenze nella crescita anche tra i tre siti in campo selezionati, a testimoniare l'influenza delle condizioni ambientali sulla crescita e lo sviluppo di *Gongolaria barbata*.

Futuri studi concentrati sulla correlazione tra reclutamento e crescita e le condizioni del luogo in cui queste avvengono possono fornire informazioni chiave per delineare nuovi e più efficienti protocolli di coltivazione, o per selezionare con più precisione siti adatti ad ospitare progetti di restauro ambientale, permettendo inoltre di tenere sotto controllo eventuali fattori ad influenza negativa per massimizzare i risultati.

Aumentare la conoscenza di questi organismi e migliorare le strategie di salvaguardia è ora più che mai importante, per preservare la ricchezza di quello che è uno degli ecosistemi più produttivi dei nostri mari e che oggi si trova in seria difficoltà.

7. BIBLIOGRAFIA

- Agnetta, D., Badalamenti, F., Ceccherelli, G., Di Trapani, F., Bonaviri, C., Gianguzza, P. (2015). Role of two co-occurring Mediterranean sea urchins in the formation of barren from *Cystoseira* canopy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 152, 73-77.
- Airoldi, L., Ballesteros, E., Buonuomo, R., Van Belzen, J., Bouma, T., Cebrian, E., De Clerk, O., Engelen, A., Ferrario, F., Fraschetti, S. (2014). Marine forests at risk: solutions to halt the loss and promote the recovery of Mediterranean canopy-forming seaweeds. *Mediterranean Symposium on Marine Vegetation*, 5, 28-33.
- Ballesteros, E. (1989). Production of seaweeds in Northwestern Mediterranean marine communities: its relation with environmental factors. *Scientia Marina*, 53(2-3), 357-364.
- Bellanti, G., Romagnoli, T., Accoroni, S., Campanelli, A., Totti, C., Rindi, F. (2024). Epiphytic algal flora associated with habitat-forming brown seaweed in a central Mediterranean coastal area (Conero Riviera, Adriatic Sea): diversity and relationship with environmental variables. *Mediterranean Marine Science*, 25, 250-262.
- Bevilacqua, S., Savonitto, G., Lipizer, M., Mancuso, P., Ciriaco, S., Srijemsi, M., Falace, A. (2019). Climatic anomalies may create a long-lasting ecological phase shift by altering the reproduction of a foundation species. *Ecology*, 100(12), e02838.
- Bevilacqua, S., et al. (2021). Mediterranean Rocky Reefs in the Anthropocene: Present Status and Future Concerns. *Advances in Marine Biology*, 89, 1-51.
- Bianchelli, S., Buschi, E., Danovaro, R. *et al.* (2016). Biodiversity loss and turnover in alternative states in the Mediterranean Sea: a case study on meiofauna. *Sci Rep*, 6, 34544.
- Bianchi, F., Ravagnan, E., Acri, F., Bernardi-Aubry, F., Boldrin, A., Camatti, E., Cassin, D., Turchetto, M. (2004). Variability and fluxes of hydrology, nutrients and particulate matter between the Venice Lagoon and the Adriatic Sea. Preliminary results (years 2001–2002). *Journal of Marine Systems*, 51(1-4), 49-64.
- Cebrian, E., Tamburello, L., Verdura, J., Guarnieri, G., Medrano, A., Linares, C., Hereu, B., Garrabou, J., Cerrano, C., Galobart, C., Fraschetti, S. (2021). A Roadmap for the Restoration of Mediterranean Macroalgal Forests. *Front. Mar. Sci*, 8:709219.

- Cecchi, T. (2021). Analysis of volatiles organic compounds in Venice lagoon water reveals COVID 19 lockdown impact on microplastics and mass tourism related pollutants. *Science of The Total Environment*, 783, 146951.
- Cheminée, A., Sala, E., Pastor, J., Bodilis, P., Thiriet, P., Mangialajo, L., Cottalorda, J. M., Francour, P. (2013). Nursery value of Cystoseira forests for Mediterranean rocky reef fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 442, 70-79.
- Cheminée, A., Pastor, J., Bianchimani, O. et al. (2017). Juvenile fish assemblages in temperate rocky reefs are shaped by the presence of macro-algae canopy and its three-dimensional structure. *Sci Rep*, 7, 14638.
- Christie, H., Norderhaug, K., Fredriksen, S. (2009). Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER.* 396. 231-243.
- Claudet, J., Frascchetti, S. (2010). Human-driven impacts on marine habitats: A regional meta-analysis in the Mediterranean Sea. *Biological Conservation*, 143(9), 2195-2206.
- Facca, C., Pellegrino, N., Ceoldo, S., Tibaldo, M., Sfriso, A. (2011). Trophic conditions in the waters of the Venice lagoon (Northern Adriatic Sea, Italy). *The Open Oceanography Journal*, 5(1).
- Falace, A., Zanelli, E., Bressan, G. (2006). Algal transplantation as a potential tool for artificial reef management and environmental mitigation. *Bull. Mar. Sci.*, 8, 161–166.
- Falace, A., Kaleb, S., De La Fuente, G., Asnaghi, V., Chiantore, M. (2018). Ex situ cultivation protocol for Cystoseira amentacea var. stricta (Fucales, Phaeophyceae) from a restoration perspective. *PLoS ONE* 13(2).
- Ferrarin, C., Bonaldo, D., Bergamasco, A., Ghezzi, M. (2024). Sea level and temperature extremes in a regulated Lagoon of Venice. *Frontiers in Climate*, 5.
- Gianni, F., Bartolini, F., Airoidi, L., Ballesteros, E., Francour, P., Meinesz, A., Thibaut, T., Mangialajo, L. (2013). Conservation and restoration of marine forests in the Mediterranean Sea and the potential role of Marine Protected Areas. *Advances in Oceanography and Limnology*, 4, 83-101.
- Gianni, F., Bartolini, F., Pey, A. et al. (2017). Threats to large brown algal forests in temperate seas: the overlooked role of native herbivorous fish. *Sci Rep*, 7, 6012.
- Gieskes, J. M., Elwany, H., Rasmussen, L., Han, S., Rathburn, A., Deheyn, D. D. (2013). Salinity variations in the Venice Lagoon, Italy: Results from the SIOSED Project, May 2005–February 2007. *Marine Chemistry*, 154, 77-86.

- Guarnieri, G., Bevilacqua, S., Figueras, N., Tamburello, L., Frascchetti, S. (2020). Large-Scale Sea Urchin Culling Drives the Reduction of Subtidal Barren Grounds in the Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 7.
- Jones C. G., Lawton J. H., Shachak M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69, 373-386.
- Kaleb, S., Sánchez de Pedro, R., Bañares-España, E. et al., 2023, Cultivation of *Gongolaria barbata* (Fucales, Phaeophyceae) with a seaweed-derived biostimulant in order to improve photophysiological fitness and promote fertility to advance the restoration of marine macroalgal forests. *J Appl Phycol* 35, 2337–2350.
- Lenzi, M., Leporatti, P., Marco, D'Agostino. (2024). Lenzi et al., 2024. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 13.
- Lokovšek, A., Pitacco, V., Falace, A., Trkov, D., Orlando-Bonaca, M. (2024). Too Hot to Handle: Effects of Water Temperature on the Early Life Stages of *Gongolaria barbata* (Fucales). *J. Mar. Sci. Eng.*, 12, 514.
- Mancuso, F.P., Sarà, G., Mannino, A.M. (2024). Conserving Marine Forests: Assessing the Effectiveness of a Marine Protected Area for *Cystoseira sensu lato* Populations in the Central Mediterranean Sea. *Plants*, 13, 162.
- Mangialajo, L., Chiantore, M., Cattaneo-Vietti, R. (2008). Loss of furoid algae along a gradient of urbanisation, and structure of benthic assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 358.
- Mineur, F., Arenas, F., Assis, J., Davies, A. J., H. Engelen, A. H., Fernandes, F., Malta, E. J., Thibaut, T., Nguyen, T. V., Vaz-Pinto, F., Vranken, S., Serrão, E. A., De Clerck, O. (2015). European seaweeds under pressure: Consequences for communities and ecosystem functioning. *Journal of Sea Research*, 98, 91-108.
- Molinari Novoa, E. A., Guiry, M. D. (2020). Reinstatement of the genera *Gongolaria* Boehmer and *Ericaria* Stackhouse (Sargassaceae, Phaeophyceae). *Notulae Algarum*, 171, 1-10.
- Orellana, S., Hernández, M., Sansón, M. (2019). Diversity of *Cystoseira sensu lato* (Fucales, Phaeophyceae) in the eastern Atlantic and Mediterranean based on morphological and DNA evidence, including *Carpodesmia* gen. emend. and *Treptacantha* gen. emend. *European Journal of Phycology*, 54(3), 447-465.
- Orlando-Bonaca, M., Pitacco, V., Lipej, L. (2021). Loss of canopy-forming algal richness and coverage in the northern Adriatic Sea. *Ecological Indicators*, 125, 107501.
- Orfanidis, S., Rindi, F., Cebrian, E., Frascchetti, S., & Nasto, I., Taskin, E., Bianchelli, S., Papathanasiou, V., Kosmidou, M., Caragnano, A., Tsioli, T.,

- Ratti, S., Fabbrizzi, E., Verdura, J., Tamburello, L., Beqiraj, S., Kashta, L., Sota, D., Apostolos, P., Danovaro, R. (2021). Effects of Natural and Anthropogenic Stressors on Fuclean Brown Seaweeds Across Different Spatial Scales in the Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 8.
- Pastor, F., Valiente, J.A., Khodayar, S. (2020). A Warming Mediterranean: 38 Years of Increasing Sea Surface Temperature. *Remote Sens.*, 12, 2687.
- Piazzì, L., Bonaviri, C., Castelli, A., Ceccherelli, G., Costa, G., Curini-Galletti, M., Langeneck, J., Manconi, R., Montefalcone, M., Pipitone, C., Rosso, A., Pinna, S. (2018). Biodiversity in canopy-forming algae: Structure and spatial variability of the Mediterranean *Cystoseira* assemblages. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 207, 132-141.
- Piazzì, L., Ceccherelli, G. (2019). Effect of sea urchin human harvest in promoting canopy forming algae restoration. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 219, 273-277.
- Sala, E., Ballesteros, E., Dendrinou, P., Di Franco, A., Ferretti, F., Foley, D., Frascetti, S., Friedlander, A., Garrabou, J., Güçlüsoy, H., Guidetti, P., Halpern, B. S., Hereu, B., Karamanlidis, A. A., Kizilkaya, Z., Macpherson, E., Mangialajo, L., Mariani, S., Micheli, F., Pais, A., Riser, K., Rosenberg, A. A., Sales, M., Selkoe, K. A., Starr, R., Tomas, F., Zabala, M. (2012). The structure of Mediterranean rocky reef ecosystems across environmental and human gradients, and conservation implications. *PLoS One*, 7(2): e32742.
- Santana-Garçon J., Bennett S., Marbà N., Vergès A., Arthur R., Alcoverro T. (2023). Tropicalization shifts herbivore pressure from seagrass to rocky reef communities, *Proc. R. Soc. B*, 290.
- Sini, M., Vatikiotis, K., Thanopoulou, Z., Katsoupi, C., Maina, I., Kavadas, S., Karachle P. K., Katsanevakis S. (2019). Small-Scale Coastal Fishing Shapes the Structure of Shallow Rocky Reef Fish in the Aegean Sea. *Frontiers in Marine Science*, 6.
- Smale, D. A., Burrows, M. T., Moore, P., O'Connor, N., Hawkins, S. J. (2013). Threats and knowledge gaps for ecosystem services provided by kelp forests: a northeast Atlantic perspective. *Ecology and Evolution*, 3(11), 4016–4038.
- Tait, L. W., Schiel, D. R. (2011). Legacy Effects of Canopy Disturbance on Ecosystem Functioning in Macroalgal Assemblages. *PLoS ONE*, 6(10): e26986.
- Teagle, H., Hawkins, S. J., Moore, P. J., Smale, D. A. (2017). The role of kelp species as biogenic habitat formers in coastal marine ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 492, 81-98.

- Thibaut, T., Pinedo, S., Torras, X., Ballesteros, E. (2005). Long-term decline of the populations of Fucales (*Cystoseira* spp. and *Sargassum* spp.) in the Albères coast (France, North-western Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin*, 50(12), 1472-1489.
- Thibaut, T., & Blanford, A., & Boudouresque, C., Verlaque, M. (2015). Decline and local extinction of Fucales in French Riviera: the harbinger of future extinctions?. *Mediterranean Marine Science*, 16.
- Verdura, J., Sales, M. Ballesteros, E., Cefali, M., Cebrian, E. (2018). Restoration of a Canopy-Forming Alga Based on Recruitment Enhancement: Methods and Long-Term Success Assessment. *Frontiers in Plant Science*. 9, 1832.

8. SITOGRAFIA

AFRIMED, <http://afrimed-project.eu>.