



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea Magistrale in
BIOLOGIA MARINA**

**FENOLOGIA, RECLUTAMENTO E RESTAURO DI
GONGOLARIA BARBATA LUNGO LA RIVIERA DEL
CONERO**

**PHENOLOGY, RECRUITMENT AND
RESTORATION OF *GONGOLARIA BARBATA* ON
THE CONERO RIVIERA**

Tesi di Laurea Magistrale di:

Melissa Orsini

Relatore:

Chiar.mo Prof.ssa **Silvia Bianchelli**

Correlatori:

Chiar.mo Prof. **Fabio Rindi**

Dott. **Francesco Martini**

Sessione estiva

Anno accademico 2020/21

INTRODUZIONE	3
1.1. Alghe brune: <i>Phaeophyceae</i>	3
1.2. Fucales	5
1.3. <i>Cystoseira sensu lato</i>	6
1.4. Riforestazione di <i>Cystoseira s.l.</i>	9
1.5. Caratteristiche biologiche ed ecologiche di <i>Gongolaria barbata</i>	14
2. SCOPO DELLA TESI	19
3. MATERIALE E METODI	20
3.1. Area di studio	20
3.2. Fenologia vegetativa	21
3.3. Fenologia riproduttiva	22
3.4. Esperimenti di trapianto basati su reclutamento <i>in situ</i>	24
3.5. Esperimenti di trapianto basati su reclutamento <i>ex situ</i>	26
3.6. Caratteristiche dei siti utilizzati per gli esperimenti di trapianto	30
3.7. Analisi statistiche	32
4. RISULTATI	33
4.1. Fenologia vegetativa	33
4.2. Fenologia riproduttiva	35
4.3. Relazione tra sviluppo vegetativo di <i>G. barbata</i> e temperatura	39
4.4. Crescita dei talli giovanili in laboratorio	41
4.5. Trapianto delle mattonelle in terracotta	43
4.6. Crescita delle reclute <i>in situ</i> su substrati naturali	45
5. DISCUSSIONE	47
5.1 Fenologia vegetativa e riproduttiva	47
5.2 Trapianto e restauro di <i>G. barbata</i> con reclutamento <i>ex situ</i>	53
5.3 Trapianto e restauro di <i>G. barbata</i> con reclutamento <i>in situ</i>	59
6. CONCLUSIONI	66
7. BIBLIOGRAFIA	67
8. RINGRAZIAMENTI	72

INTRODUZIONE

1.1. Alghe brune: *Phaeophyceae*

Le Phaeophyceae, comunemente dette alghe brune, includono circa 2060 specie suddivise in 21 ordini e sono quasi esclusivamente marine, con pochi rappresentanti nelle acque dolci (Bringloe et al., 2020; Guiry e Guiry, 2021).

La maggiore diversità delle alghe brune si ha nei mari freddi, sia dell'emisfero australe che boreale. La morfologia dei talli delle Phaeophyceae varia da microscopici filamenti ramificati a talli parenchimatici lunghi molti metri e con una complessa anatomia (fino a 80 m in *Macrocystis*).

La parete delle alghe brune è molto robusta ma al contempo flessibile. Consiste di una componente strutturale formata da fibrille di cellulosa immerse in una matrice amorfa formata da alginati e fucani che conferiscono al tallo resistenza ma allo stesso tempo flessibilità per limitare possibili danneggiamenti causati dal moto ondoso. Le sostanze di riserva sono la laminarina e il mannitolo (che, oltre a svolgere una funzione di riserva, è coinvolto nell'abbassamento del punto crioscopico del citoplasma e della pressione osmotica). Caratteristici

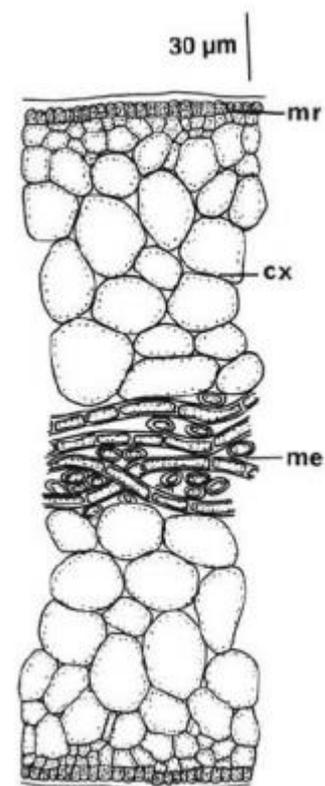


Figura 1: sezione longitudinale del tallo

delle alghe brune sono i fisodi, vescicole rifrangenti che si trovano attorno al nucleo. Questi ultimi contengono i florotannini, sostanze aromatiche che scoraggiano l'erbivoria e l'epifitismo, proteggono dai raggi UV e fungono da chelanti di ioni metallici che possono essere tossici per la cellula. Se i fisodi vengono danneggiati rilasciano il loro contenuto all'esterno, che quando ossidato, produce una sostanza marrone scuro responsabile della colorazione delle alghe brune morte. I talli possono essere filamentosi, pseudoparenchimatici o parenchimatici con un elevato grado di differenziazione. Il loro accrescimento può essere diffuso, quando tutte le cellule vanno incontro a divisione, oppure localizzato in un meristema, quando solo una o poche cellule del tallo sono in grado di dividersi. I meristemi possono essere apicali (quando si trovano all'estremità del tallo), intercalari (quando si localizzano all'interno del tallo producendo cellule in due direzioni) oppure tricotallici (quando sono situati alla base di un pelo). La riproduzione avviene per via sessuale (tramite isogamia, anisogamia o oogamia) o asessuale (tramite spore). Diverse specie sono inoltre capaci di riprodursi vegetativamente tramite frammentazione. Il ciclo vitale è solitamente aplodiplonte isomorfo/eteromorfo, mentre nell'ordine *Fucales* è diplonte (Bringloe, 2020). In alcuni casi la stessa generazione può mostrare una certa variazione morfologica in risposta a cambiamenti delle condizioni ambientali.

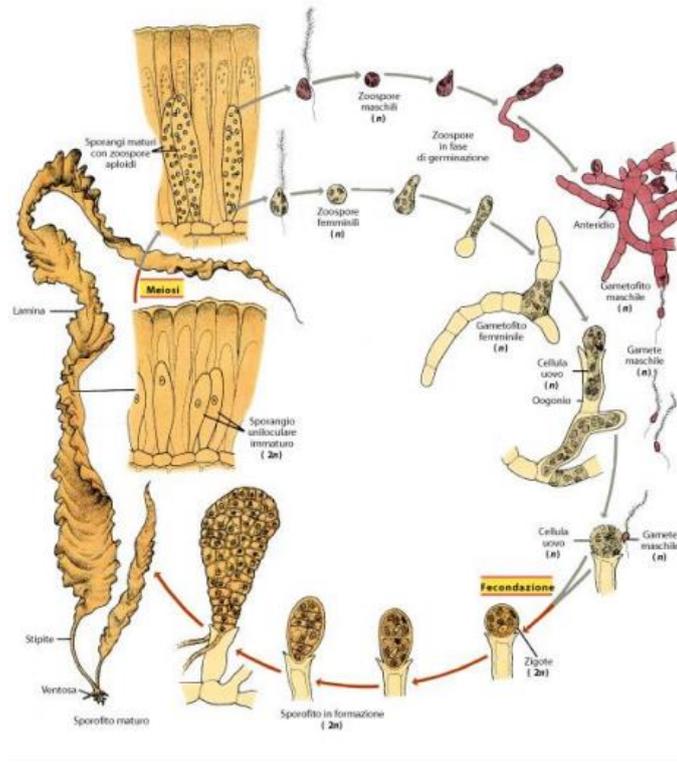


Figura 2: ciclo vitale aplodiplonte isomorfo di Laminaria (dominanza dello sporofito). Riproduzione sessuata oogama.

1.2. Fucales

Alghe brune dell'ordine *Fucales* hanno complessi talli parenchimatici con struttura simile a quella delle Laminariales (cortex e medulla) ma di dimensioni inferiori. Nel tallo delle Fucales sono presenti delle aerocisti, vescicole gassose presenti in numero variabile che lo mantengono eretto quando è sommerso. Il loro sviluppo dipende dalle condizioni ambientali e sono più abbondanti nelle popolazioni che vivono in acque calme (ISPRA, 2008).

Le Fucales presentano inoltre delle cripte pilifere contenenti peli che aumentano la superficie assorbente, specializzate nell'assorbimento di nutrienti

dall'acqua di mare. Hanno un ciclo vitale diplonte, con gametangi alloggiati in piccole cavità dette concettacoli. Queste sono raggruppate in parti fertili del tallo, definite con il termine di recettacoli, che di solito formano dei rigonfiamenti all'interno dei ramuli di ultimo ordine. Le specie di Fucales possono essere dioiche, con anteridi (gametangi maschili) e oogoni (gametangi femminili) su individui diversi, oppure monoiche, con gametangi di sesso diverso sullo stesso individuo localizzati all'interno dello stesso concettacolo o in concettacoli diversi. A maturità, i gameti vengono rilasciati all'esterno. Gli anterozoidi (gameti maschili) sono attratti chemiotatticamente dalle cellule uovo e le fecondano formando così gli zigoti. Gli zigoti aderiscono al substrato tramite la formazione di piccoli rizoidi, generando in questo modo nuovi individui.

1.3. *Cystoseira sensu lato*

Il genere *Cystoseira* (Fucales), nel senso tradizionale della sua circoscrizione, è ampiamente diffuso nel Mediterraneo (Ribera et al., 1992). La natura polifiletica di *Cystoseira* come precedentemente circoscritta è stata dimostrata da studi di filogenesi molecolare (Draisma et al., 2010). Per questo motivo, il genere è stato recentemente oggetto di una profonda revisione tassonomica che ha portato al suo smembramento in tre generi separati (Orellana et al., 2019). I nomi attualmente validi per questi tre generi sono *Cystoseira*, *Ericaria* e

Gongolaria (Molinari e Giury, 2020). Queste alghe appartengono alla famiglia *Sargassaceae* e comprendono numerose specie che caratterizzano la vegetazione fotofila di substrato duro in Mediterraneo (Perrera e Giacco ne, 1986; Marzocchi et al., 2003). In questa tesi si farà riferimento al genere *Cystoseira sensu lato* (*Cystoseira s.l.*), per indicare specie attualmente appartenenti a *Cystoseira*, *Ericaria* e *Gongolaria* (Molinari e Guiry, 2020). Il riconoscimento tassonomico delle specie di *Cystoseira s.l.* richiede per la maggior parte degli individui un'attenta osservazione dei caratteri morfologici. I caratteri utili per il riconoscimento delle specie sono caratteri morfologici sia vegetativi che riproduttivi. Una accurata osservazione macroscopica di tali caratteri è necessaria per la identificazione a livello di specie. Specie di *Cystoseira s.l.* presentano un tallo formato da un cauloide cilindrico o appiattito che può essere prostrato o eretto e aderisce al substrato tramite un disco basale grosso e carnoso o apteri. Il tallo può essere arborescente (con un singolo cauloide eretto) o cespitoso (con più assi eretti che partono insieme da un comune punto di adesione sul substrato). Gli assi e le loro ramificazioni crescono a partire da una cellula apicale e spesso portano ramuli la cui disposizione è considerata carattere tassonomico. Le specie sono quasi tutte perenni e la maggior parte ha un periodo di riposo vegetativo durante i periodi dell'anno sfavorevoli (di solito fine estate-autunno). In questi periodi tali alghe

perdono gran parte delle fronde, che vengono poi riformate durante i successivi periodi di ricrescita. Molte mostrano un'elevata sensibilità a gradienti di profondità, per lo più luce e idrodinamismo. Alcune specie sono strutturanti, formano estesi popolamenti complessi che caratterizzano la vegetazione di substrato duro della zona infralitorale. Le popolazioni di *Cystoseira s.l.* formano ecosistemi complessi e di elevato valore ecologico ma sono fortemente minacciate e in molte aree impattate da disturbi di origine antropica sono in regressione. In queste situazioni sono sostituite da feltri algali e specie a crescita più rapida. Infatti, i popolamenti a *Cystoseira s.l.* fanno parte di habitat di importanza critica per l'UE (Direttiva 92/43 / CEE; Allegato I, incluso in "Scogliere rocciose"). Da un punto di vista conservazionistico, il loro valore ecologico è stato riconosciuto dalla Convenzione di Barcellona (Mediterranean Action Plan of the United Nations), in cui numerose specie mediterranee sono protette (UNEP, 2009; Verlaque et al., 2019). Per la loro sensibilità all'inquinamento e altri disturbi di origine antropica, diverse specie mediterranee di *Cystoseira s.l.* vengono inoltre utilizzate come indicatori (Ballesteros, 2007; Pinedo et al., 2007; Orfanidis et al., 2011; Nikolic et al. 2013) per valutare lo stato ecologico nel contesto della Water Framework Directive (WFD; direttiva 2000/60 / CE) e della Marine Strategy Framework Directive (MSFD 2008/56/EC).

1.4. Riforestazione di *Cystoseira s.l.*

Numerose forme di pressione antropica, come impatti legati al cambiamento climatico, distruzione di habitat costieri, urbanizzazione, eccesso di pesca ed eccessivo inquinamento, hanno causato in molte aree del Mediterraneo la regressione delle popolazioni di *Cystoseira*, incidendo negativamente sui servizi ecosistemici che quest'ultime forniscono (Mangialajo et al., 2013; Falace et al., 2017; Orlando et al., 2021). Da un punto di vista ecologico il loro contributo alla produttività primaria nelle zone costiere è di rilevante importanza, così come nell'aumento della tridimensionalità spaziale e della biodiversità associata, fornendo habitat, risorse trofiche, rifugi e aree di nursery per numerosi organismi (pesci, invertebrati, alghe) (Verdura et al., 2018). Il recupero naturale delle popolazioni di *Cystoseira s.l.* è estremamente difficile dal momento che la capacità di dispersione degli zigoti è molto bassa a causa della rapida fecondazione delle grandi cellule uovo e al rapido affondamento degli zigoti. Per questi motivi, l'attuazione di un piano di restauro attivo emerge come opzione per garantirne la conservazione (Mangialajo et al., 2013; Verdura et al., 2018; De La Fuente, 2019). Il ripristino delle foreste di *Cystoseira* è particolarmente consigliato nei siti nei quali è documentata la presenza storica dell'alga ed in cui è stato verificato che sono cessati gli impatti che hanno portato alla sua regressione (Mangialajo et al., 2013). Tuttavia, il restauro

potrebbe essere considerato anche per quei siti nei quali la distribuzione storica non può essere documentata, ma risulta essere probabile, in base alle caratteristiche ambientali locali e regionali. L'istituzione di Aree Marine Protette può essere una soluzione fondamentale per la conservazione di queste foreste, in quanto garantiscono la protezione da vari impatti umani (ad esempio pesca eccessiva, distruzione di habitat e urbanizzazione) e possono ridurre altri attraverso un sistema integrato di gestione con aree adiacenti (Mangialajo et al., 2013). Per questo motivo le aree marine protette, o siti che rientrano nella Rete Natura 2000 (*sensu* Direttiva 92/43/CEE "Habitat"), appaiono oggi siti di elezione per gli interventi di restauro. Ad oggi, sono state proposte tre tecniche di restauro per *Cystoseira s.l.* nel Mar Mediterraneo. La prima prevede il trapianto di talli adulti su moduli artificiali, mediante degli ami di metallo oppure ricoprendo la parte basale del tallo con una schiuma poliuretana e fissando i talli con una colla epossidica (Orlando-Bonaca et al., 2021). Tuttavia, dato il critico stato di conservazione delle popolazioni appartenenti al genere *Cystoseira*, il trapianto attivo di individui adulti provenienti da popolazioni naturali in buona salute non è consigliabile. La sfida principale a questo approccio è il fissaggio appropriato degli individui, per questo motivo sono necessarie tecniche meno invasive (Verdura et al., 2018); al di là di questo, talli adulti di *Cystoseira*, una volta trapiantati, vanno incontro a una elevata

mortalità. Alcuni autori hanno quindi testato sperimentalmente l'efficacia di diverse tecniche non distruttive, finalizzate ad aumentare il reclutamento nelle popolazioni di *Cystoseira* da ricostituire. Hanno confrontato quindi, la facilità di realizzazione e i costi del restauro attivo, mediante tecniche *in situ* (utilizzando zigoti e reclute naturali generate sul campo) ed *ex situ* (tramite l'approvvigionamento di reclute generate in laboratorio) (Falace et al., 2006; Verdura et al., 2018; De La Fuente et al., 2019; Medrano et al., 2020; Orlando et al., 2021). Il primo protocollo *ex situ* per il restauro di *Cystoseira amentacea* var. *stricta* è stato proposto In Falace et al. (2018). Uno studio condotto a Minorca (Isole Baleari), invece, ha proposto due tecniche, finalizzate a produrre talli giovanili *in situ* ed *ex situ* per il ripristino di popolazioni di *Gongolaria barbata* (Verdura et al., 2018). Il successo delle due tecniche è stato successivamente valutato confrontando le popolazioni ripristinate e quelle di riferimento che hanno mostrato densità molto simili. Il reclutamento *in situ*, in questo studio, ha previsto la raccolta di recettacoli fertili dalla popolazione donatrice che sono stati poi trasportati nei siti di restauro e collocati in retine. Ogni retina conteneva approssimativamente 20 recettacoli. Le retine sono state poi fissate sopra ciottoli precedentemente puliti, per fornire agli zigoti un substrato duro per attecchire ed evitare allo stesso tempo la competizione da parte di altre alghe o organismi (Verdura et al., 2018).

Il reclutamento *ex situ* invece, prevede la raccolta di recettacoli fertili che vengono introdotti in acquari, vasche o bacinelle mantenute in condizioni controllate in laboratorio. I recettacoli vengono inseriti nell'acqua, dove avviene il rilascio dei gameti. Gli zigoti prodotti dalla fecondazione si insedieranno su mattonelle di terracotta o ciottoli posizionati sul fondo delle vasche. A distanza di settimane o mesi, quando saranno ricoperti da numerosi individui giovanili, tali substrati verranno trapiantati nei siti di restauro in mare.

Un passaggio fondamentale al fine di ottenere il rilascio dei gameti e la conseguente fecondazione è il monitoraggio della fenologia riproduttiva sul campo, necessario per conoscere il periodo di fertilità dell'alga. In entrambe le tecniche (*in situ* ed *ex situ*), il periodo adatto per raccogliere i recettacoli e ottenere la fecondazione è quello in cui l'alga raggiunge lo stadio di piena maturità riproduttiva. Soprattutto per le attività *ex situ* è fondamentale che i recettacoli raccolti siano prossimi al rilascio dei gameti. Il periodo di fertilità dell'alga varia in base alle condizioni ambientali (soprattutto la temperatura), alle caratteristiche della specie in questione e della singola popolazione donatrice. Per questo motivo il monitoraggio costante e a lungo termine della fenologia è di critica importanza.

Tra gli studi attuali pubblicati per progetti di riforestazione di *Cystoseira* in Mediterraneo, vi è quello sopracitato da Verdura et al. (2018) effettuato lungo

le coste di Minorca. In uno studio meno recente, Falace e Bressan (2006), hanno esaminato la fenologia di *Cystoseira barbata* in un'area riparata di Izola (Slovenia), compiendo anche esperimenti di trapianto di talli tra siti a profondità diverse. In Falace et al. (2018) lo scopo dello studio è stato sviluppare un protocollo *ex situ* per il restauro di *Cystoseira amentacea* var. *stricta*. Il protocollo mirava a massimizzare l'insediamento dello zigote, ridurre il tempo di sviluppo dell'embrione e generare una densa copertura di reclute. Sulla base di questi obiettivi, sono stati testati gli effetti di variabili facilmente controllabili in laboratorio come temperatura, luce e substrato. Questo ha permesso di sviluppare le migliori tecniche per l'insediamento e la crescita nelle prime fasi della vita dell'alga. Un altro studio, effettuato nella No Take Zone delle isole Medas da, Medrano et al. (2020), ha visto come obiettivo quello di valutare il potenziale successo delle tecniche di restauro attivo da sole o in combinazione con aree di mare protette (combinando quindi il restauro attivo e passivo). Questo studio; si è incentrato sulla tecnica di restauro più adeguata per poter ripopolare aree nude di fondi rocciosi formate dal grazing dei ricci di mare, denominate *barren*. Il restauro si è basato sulla rimozione meccanica dei ricci integrata con tecniche di potenziamento del reclutamento per promuovere la riforestazione di *Treptacantha elegans* (*Gongolaria elegans*) sia dentro che fuori alle No Take Zones di una area marina protetta.

In uno studio più recente, Orlando-Bonaca et al. (2021), è stata testata la fattibilità di un restauro *ex situ* di *Gongolaria barbata* nelle acque costiere slovene. In questo caso è stato valutato il tasso di sopravvivenza e la crescita dei giovani talli durante i primi quattro mesi che risultano essere i più critici dopo il trapianto. Le aree sottoposte al restauro sono state delimitate da gabbie per limitare l'erbivoria ed aumentare il successo di crescita delle nuove reclute. Tuttavia, nonostante gli sforzi di conservazione, c'è un urgente bisogno di sviluppare tecniche e strategie di restauro migliori su larga scala (Falace et al., 2017).

1.5. Caratteristiche biologiche ed ecologiche di *Gongolaria barbata*

Gongolaria barbata è una specie distribuita nel Mar Mediterraneo e sulle coste di regioni atlantiche prossime al Mediterraneo (Guiry e Guiry, 2019). Nel mare Adriatico è comune in zone caratterizzate da fondali duri come la laguna di Venezia o lungo la Riviera del Conero, in cui può formare delle vere foreste e oasi di biodiversità, promuovendo l'eterogeneità spaziale del fondale roccioso costiero, aumentando il numero di habitat e favorendo la complessità tridimensionale (Falace e Bressan, 2006).

La sua distribuzione, che di solito è in chiazze più o meno distinte che misurano da 1-10 m di diametro, è limitata ai primi metri di profondità della zona

infralitorale. La specie predilige zone riparate caratterizzate da un ridotto idrodinamismo, un basso tasso di sedimentazione e intensa irradiazione luminosa. Questi fattori sono determinanti per garantire il successo riproduttivo e l'insediamento degli zigoti (Irving et al., 2009). Inoltre, il disco basale carnoso con il quale l'alga aderisce al substrato può essere staccato con facilità durante le forti mareggiate. Per questo motivo, la sua distribuzione e la sua conservazione in piscine naturali o baie protette è di critica importanza. Dal disco basale emerge un cauloide cilindrico che di solito non presenta ramificazioni. Il cauloide ha un apice liscio e dalle sue parti apicali si formano fronde arborescenti costituite da rami primari e avventizi (Figura 3).

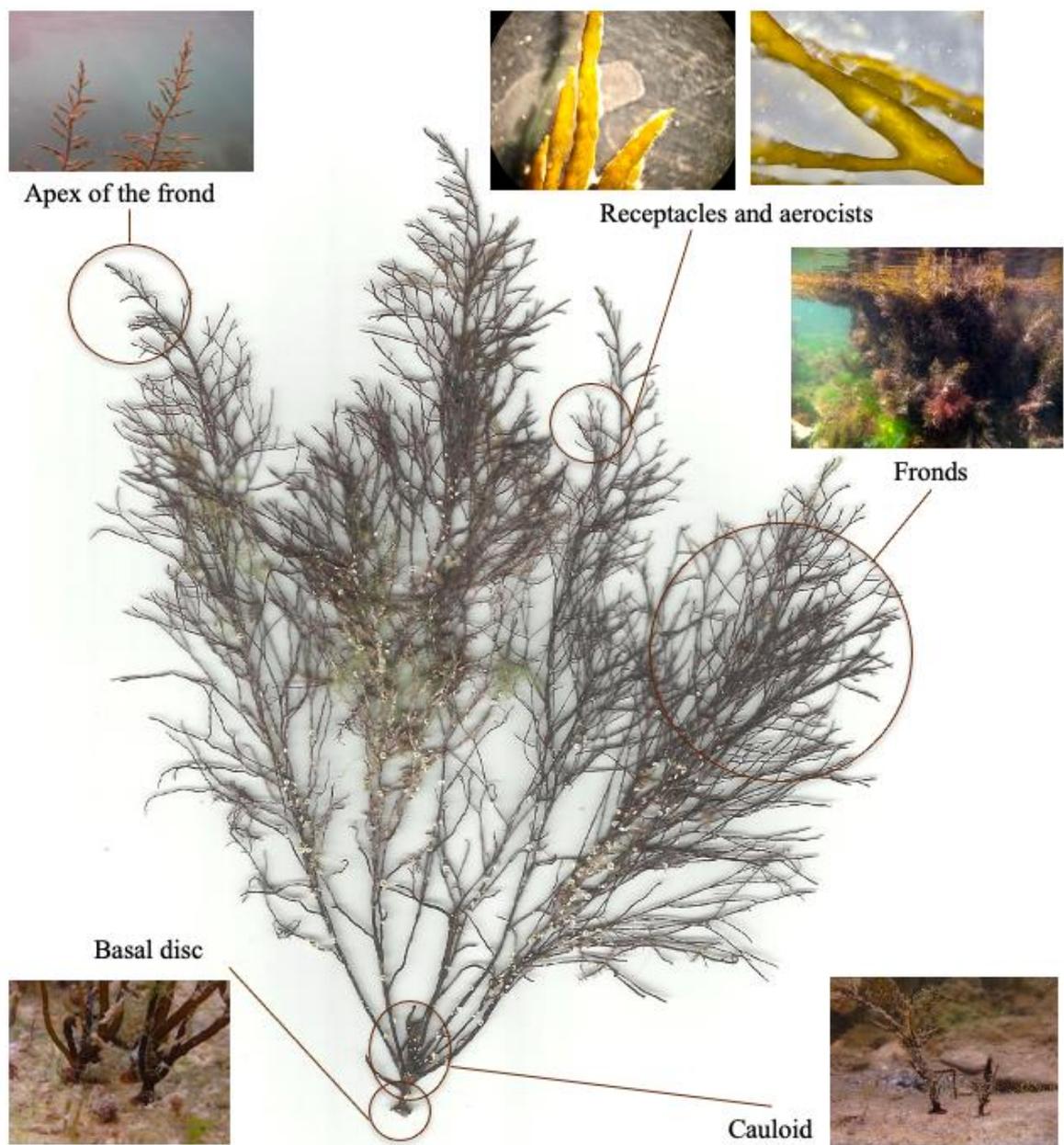


Figura 3: tallo di *Cystoseira barbata* e relative caratteristiche.

Mentre il cauloide è perennante, le fronde vengono riformate periodicamente e gran parte di esse viene persa durante il periodo fine estate-autunno. In primavera si assiste alla maggiore crescita dei rami e l'alga raggiunge il suo massimo sviluppo vegetativo nei mesi di marzo e aprile (Falace e Zanelli, 2006). All'interno del suo ampio areale la *G. barbata* può presentare notevoli variazioni morfologiche, legate alle condizioni ambientali locali (Falace e Zanelli, 2006). Durante la stagione favorevole, in tarda primavera, i recettacoli raggiungono la loro maturità e risultano essere più rigonfi, allungati e spesso con le estremità appuntite. I recettacoli sono solitamente prodotti nelle ramificazioni terminali, che appaiono di colore marrone scuro con la superficie cosparsa da noduli



Figura 4: recettacolo di *Cystoseira barbata*.

(Roberts, 1967) (Figura 4).

I gameti maschili e femminili vengono prodotti all'interno dei concettacoli tramite divisioni meiotiche e vengono rilasciati in colonna d'acqua dove tramite attrazioni chemiotattiche il gamete maschile feconda la cellula uovo, formando lo zigote che aderisce prontamente al substrato tramite piccoli rizoidi. Lo zigote si accrescerà producendo un tallo giovanile che raggiungerà una taglia visibile ad occhio nudo nell'arco di poche settimane (Irving et al., 2009) (Figura 5).

Gongolaria barbata è una specie monoica, sebbene si ritrovino in natura alcuni talli che producono solo gameti maschili (Sauvageau, 1912). La bassa capacità di dispersione dei gameti femminili e le condizioni del mare calmo aumentano le possibilità dei gameti di incontrarsi e il successo riproduttivo della specie. Inoltre, nell'ordine delle Fucales, la cellula uovo (e di conseguenza lo zigote) è di grandi dimensioni e risulta essere relativamente pesante. Si ritiene che questo riduca la dispersione di molte specie e di conseguenza contribuisca a limitare l'estensione delle popolazioni.

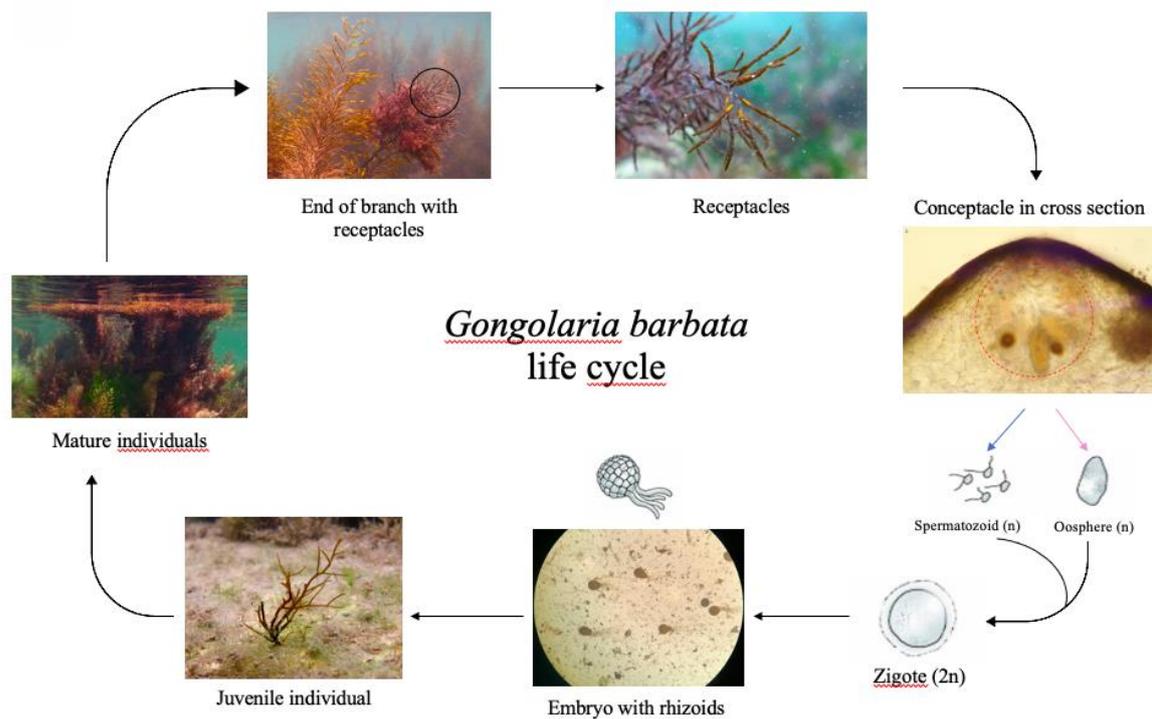


Figura 5: ciclo vitale di *Cystoseira barbata*.

2. SCOPO DELLA TESI

Gli obiettivi di questa tesi sono i seguenti:

- 1) Analizzare la fenologia vegetativa e riproduttiva di *Gongolaria barbata* nel corso di un ciclo annuale, valutando a intervalli temporali regolari diversi parametri morfologici del tallo e il suo stadio di maturità riproduttiva.
- 2) Confrontare il potenziale di reclutamento della specie tra metodi *in situ* e metodi *ex situ*
- 3) Confrontare il successo del reclutamento di *Gongolaria barbata* tra siti diversi nella Riviera del Conero.

3. MATERIALE E METODI

3.1. Area di studio

Gli studi condotti in questa tesi sono stati effettuati lungo la Riviera del Conero, l'unica parte di costa caratterizzata da fondale roccioso dal parco del S. Bartolo al Gargano. In particolare, sono stati presi in considerazione cinque siti, due dei quali ospitano una popolazione di *Gongolaria barbata* ben sviluppata (Piscinetta e Scalaccia Nord). Negli altri tre siti (Grotta Azzurra, Scalaccia Sud e La Vela) è stata riportata la presenza storica dell'alga e nell'area della Vela la specie è ancora presente con qualche individuo sparso (Perkol-Finkel and Airoidi, 2010). Le misurazioni e la raccolta dei dati relativi alla fenologia vegetativa e riproduttiva sono stati svolti in una piccola insenatura della costa del Passetto nell'area urbana di Ancona (Piscinetta del Passetto, coordinate: 43° 37' 05.20" N; 13° 32' 01.73" E) e in un sito adiacente ma più esposto, in prossimità della scalinata del Passetto (coordinate 43°36'56" N; 13°32'05" E). La Piscinetta del Passetto è una insenatura con condizioni riparate che ospita una comunità macroalgale in cui sono presenti ampie chiazze di *Gongolaria barbata* e in misura minore di *Cystoseira compressa*. Questo sito è parzialmente riparato dalle mareggiate, in quanto è in gran parte separato dal mare da una scogliera; rimane tuttavia connesso al mare aperto tramite un piccolo canale che permette il ricircolo delle acque. Il fondo è più o meno

orizzontale e la profondità varia da mezzo metro a massimo due metri. Per la combinazione di caratteristiche geomorfologiche, la Piscinetta presenta quindi condizioni ambientali adatte per l'accrescimento di *Gongolaria barbata*. Lo sviluppo e la potenziale espansione della popolazione di questa specie sono però fortemente limitate dall'impatto del turismo estivo. In estate il sito è infatti frequentato da numerosi bagnanti, con conseguente calpestamento e distacco di molti talli, soprattutto giovanili. Una seconda popolazione di *Gongolaria barbata* è presente in un sito adiacente alla Piscinetta, denominato Scalinata, perché localizzato in vicinanza della principale scalinata del Passetto.

Quest'area è più esposta, in quanto non è delimitata da scogliere e per questo motivo le macroalghe subiscono uno stress meccanico maggiore durante le mareggiate, motivo per il quale, probabilmente, questa popolazione risulta essere più ridotta.

3.2. Fenologia vegetativa

Le due popolazioni adulte di *Gongolaria barbata* sono state monitorate con cadenza approssimativamente mensile da maggio 2020 per un intero anno. In ogni data di campionamento è stata misurata l'altezza delle fronde di 20 talli scelti random, sia per la popolazione della Piscinetta che per quella della Scalinata. Le misurazioni sono state prese con una bindella partendo dal disco basale fino alla sommità dei rami più lunghi (Figura 6). L'altezza del tallo così

misurata è stata usata come parametro indicativo delle dimensioni delle alghe, permettendo di seguire lo sviluppo vegetativo della popolazione durante le varie stagioni e determinando i periodi di massimo accrescimento.

Tabella 1: elenco delle date, dei rispettivi giorni e delle stagioni in cui sono stati effettuati i 12 campionamenti.



Campionamento	Data	Stagione
1	25/05/2020	primavera
2	26/06/2020	estate
3	22/07/2020	estate
4	03/09/2020	estate
5	01/10/2020	autunno
6	29/10/2020	autunno
7	16/12/2020	autunno
8	19/01/2021	inverno
9	18/02/2021	inverno
10	17/03/2021	inverno
11	16/04/2021	primavera
12	10/05/2021	primavera

Figura 6: misurazione dal disco basale alla sommità dei rami più lunghi.

3.3. Fenologia riproduttiva

La maturità riproduttiva dei singoli talli è stata verificata raccogliendo, dalle stesse 20 alghe per le quali è stata misurata l'altezza, 2-3 recettacoli (se presenti). Questi sono stati custoditi in bustine ziploc numerate da uno a venti. Le osservazioni in laboratorio sono state effettuate il giorno stesso della raccolta oppure il giorno successivo (nel qual caso il materiale è stato conservato durante la notte in frigorifero a 4°C). La maturità è stata verificata

facendo delle sezioni trasversali molto sottili dei recettacoli, utilizzando un bisturi. Le sezioni sono state poi osservate al microscopio ottico a ingrandimento 10x per verificare il livello di maturità. Questo è stato stabilito notando la assenza o presenza di gameti e, se presenti, la quantità e dimensione dei gameti presenti. Ogni alga esaminata è stata attribuita ad uno stadio di maturità in base alla seguente scala da 0 a 3:

- 0 rappresenta i recettacoli non maturi, all'interno dei quali non era presente alcun concettacolo;
- 1 rappresenta i recettacoli con all'interno concettacoli privi di gameti;
- 2 rappresenta i recettacoli quasi maturi con all'interno concettacoli contenenti pochi gameti maschili e femminili di piccole dimensioni;
- 3 rappresenta i recettacoli maturi con all'interno concettacoli ricchi di gameti ben sviluppati

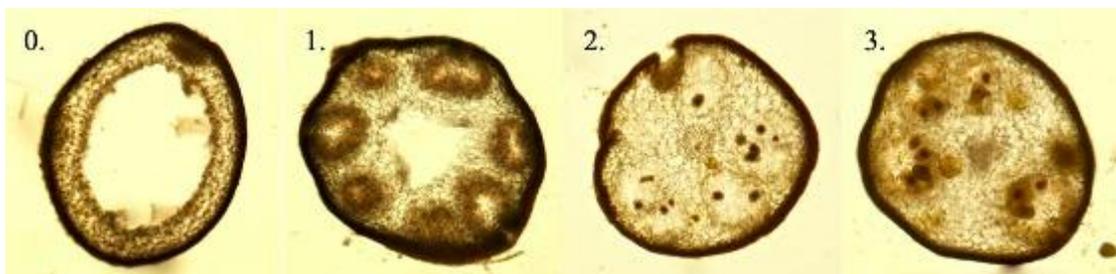


Figura 7: sezioni di concettacoli con diverse categorie di fertilità. 0) categoria 0; 1) categoria 1; 2) categoria 2; 3) categoria 3.

3.7. Esperimenti di trapianto basati su reclutamento *in situ*

Nell'approccio di reclutamento *in situ*, sono stati raccolti dei ciottoli naturali di dimensioni variabili (generalmente 20-30cm in lunghezza o diametro), sopra i quali era riconoscibile la presenza di talli giovanili con altezza variabile da 1-4 cm. I siti donatori dai quali sono stati presi i ciottoli, sono la Piscinetta e la Scalaccia Nord (E "43° 36'30.04" N;13°32'43,58" E). Quest'ultimo sito presenta una costa rocciosa esposta a Nord Est e, come nel caso della Piscinetta, è parzialmente riparato da scogli affioranti. Il fondale ha una lieve pendenza e degrada lentamente fino ad una profondità di 4-5m. Sia *Gongolaria barbata* che *C. compressa* vi si trovano in concentrazioni più o meno abbondanti con una distribuzione irregolare e a chiazze. Vicino riva domina *G. barbata* mentre nella parte più esterna prospera *C. compressa*. I ciottoli sono stati raccolti nei due siti tramite snorkeling a profondità tra 0,5 e 1,5 m. Questo metodo si basa sul presupposto che ciottoli di queste dimensioni sarebbero facilmente spostati da forti mareggiate (comuni sulla Riviera del Conero in autunno e inverno) che ne causerebbero il ribaltamento e il rotolamento, provocando così la morte dei talli giovanili ivi reclutati (Perkol-Finkel et al., 2012, Strain et al., 2015). Tre-cinque ciottoli sono stati fissati all'interno dei due siti donatori (Piscinetta e Scalaccia Nord) mentre altri sono stati trapiantati nei tre siti del restauro, ossia Grotta Azzurra, Scalaccia Sud e Vela. Da un punto di vista tecnico il trapianto

nei siti donatori viene definito rinforzo, tuttavia, per praticità parleremo di restauro anche per questi ultimi. Il trapianto è stato fatto incollando i ciottoli (4 per sito) a substrato roccioso stabile con uno stucco marino epossidico bicomponente non tossico (Veneziani subcoat). In vicinanza dei ciottoli trapiantati sono stati installati dei sensori HOBO per rilevare luce e temperatura ad intervalli regolari di un'ora. Dopo il trapianto effettuato nei giorni 12 giugno e 19 giugno 2020, i siti sono stati monitorati regolarmente per misurare l'accrescimento delle reclute presenti sui sassi.

Le misurazioni (in media cinque talli per sito) sono state effettuate in modo random usando un righello, misurando l'altezza partendo



Figura 8: restauro effettuato alla Vela.

dal disco basale fino all'apice del ramo più lungo. Inoltre, sono stati regolarmente misurati i parametri ambientali (temperatura, salinità, ossigenazione dell'acqua). Durante i monitoraggi sono state scattate foto dei ciottoli trapiantati utilizzando una fotocamera SONY DSC-RX100M6 racchiusa in uno scafandro. I monitoraggi sono avvenuti con frequenza mensile

da giugno fino ad ottobre, mentre nei mesi di novembre e dicembre sono stati sospesi in quanto in questo periodo il mare è stato quasi sempre mosso, il che non ha permesso di lavorare agevolmente nei siti di trapianto, che possono essere raggiunti solo via mare.

Da gennaio 2021 i monitoraggi sono ripresi con frequenza mensile per la Scalaccia Sud e con frequenza bisettimanale per la Piscinetta, che essendo facilmente raggiungibile da terra, ha facilitato la programmazione delle uscite. Per la Grotta Azzurra, invece, essendo l'area degli esperimenti raggiungibile solo via mare, i monitoraggi sono avvenuti solo nel mese di gennaio ed aprile.

Nel caso della Vela i monitoraggi sono stati sospesi in quanto una forte mareggiata avvenuta durante l'inverno ha strappato via i ciottoli che erano stati fissati.

3.5. Esperimenti di trapianto basati su reclutamento *ex situ*

Talli giovanili di *Gongolaria barbata* sono stati prodotti tramite una *tecnica ex situ* basata su reclutamento in vasche di laboratorio, adattata sulla base del protocollo di Verdura et al. (2018). Il giorno 26 maggio 2020, nella fase tarda del periodo di fertilità dell'alga, sono stati raccolti recettacoli da venti alghe distribuite all'interno della Piscinetta (gli stessi talli usati per le misurazioni di fenologia riproduttiva). Il campionamento è stato ritardato a causa del "lock

down” dovuto alla pandemia Covid19, che ha impossibilitato lo svolgersi delle attività nel periodo inizialmente pianificato (marzo-aprile 2020). I ricettacoli, una volta raccolti, sono stati custoditi in bustine ziploc e portati in laboratorio (circa 2 h dopo il campionamento), dove sono stati conservati in frigorifero a 4°C per 24 h. Il giorno successivo sono stati inseriti in retine di plastica a forma di tasca, sospese poco al disotto della superficie dell’acqua all’interno di sette vasche precedentemente allestite (Figura 9).



Figura 9: vasche allestite in laboratorio contenenti le tasche con i ricettacoli e i supporti di terracotta (A) e le nuove reclute nate sui substrati di terracotta a distanza di 1 mese (B).

Lo shock termico ha favorito il rilascio dei gameti. Le vasche da 10 litri erano state precedentemente preparate piazzando sul fondo 10 mattonelle circolari (\varnothing 7cm) di terracotta, per garantire un substrato adatto per l'attecchimento degli zigoti. Inoltre, negli spazi tra le mattonelle, sono stati appoggiati in ogni vasca due vetrini per poter verificare microscopicamente la presenza di talli giovanili e osservarne l'accrescimento settimanale. Le vasche erano state preventivamente riempite con acqua raccolta in mare e filtrata in laboratorio, tramite apparato di filtrazione su maglia di $0.47\mu\text{m}$. In ogni vasca era presente un aeratore e una luce a led sospesa sopra le vasche, impostata con un timer per riprodurre un fotoperiodo con giornate lunghe (16 h L:8 h D). Le vasche non avevano un apparato di controllo della temperatura. Un sistema di condizionamento è stato attivato nel laboratorio in cui le vasche erano piazzate, allo scopo di evitare un innalzamento eccessivo della temperatura. A distanza di 3 settimane è stato effettuato il passaggio a 2 led, che hanno fornito una densità di flusso fotonico pari a circa $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Giornalmente sono stati misurati tramite sonda multiparametrica i valori di temperatura ($^{\circ}\text{C}$), ossigeno disciolto (mg/L), conduttività ($\mu\text{s/cm}$), resistività (Ω/cm), TDS (g/L) e salinità (ppt) in tutte e sette le vasche. È stata misurata settimanalmente la taglia degli individui giovanili che crescevano sui vetrini. La misurazione è stata effettuata appoggiando i vetrini su un microscopio ottico con oculari provvisti di una lente

con scala micrometrica. Dopo la seconda settimana sui vetrini si potevano osservare numerose diatomee. Si è quindi intervenuti con la somministrazione nelle vasche di biossido di germanio alla concentrazione di 1.117 mg/l. Alla quarta settimana, per favorire l'accrescimento delle reclute, sono stati aggiunti gli ingredienti del

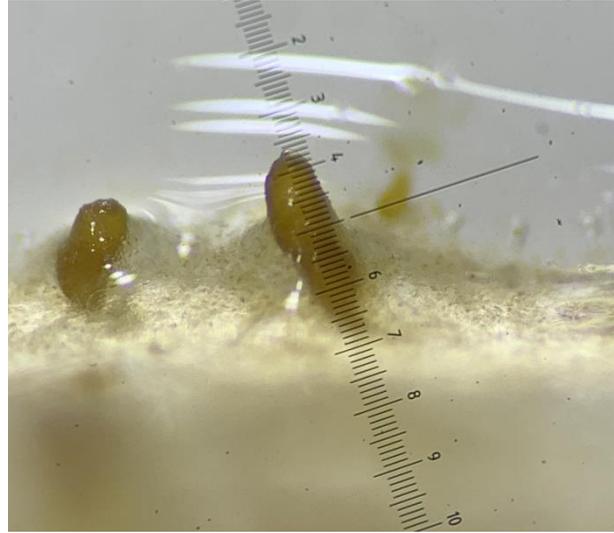


Figura 10: misurazione con scala micrometrica di un tallo durante le prime settimane di vita.

mezzo di coltura Von Stosch (Guiry e Cunningham, 1984). Il giorno 1° ottobre 2020, a quattro mesi dall'inizio dell'esperimento, le mattonelle in terracotta sono state trasferite in mare nei tre siti (Grotta Azzurra, Scalaccia Sud, Vela) ritenuti potenzialmente idonei per il restauro della popolazione di *Gongolaria barbata* e nei 2 siti donatori (Piscinetta e Scalaccia Nord) come controllo e rinforzo della popolazione preesistente. Le reclute al momento del trasferimento in mare misuravano circa 1 mm in altezza.

Dieci mattonelle per sito sono state fissate su substrato roccioso (precedentemente pulito) con lo stesso stucco bicomponente utilizzato per il fissaggio dei ciottoli durante l'esperimento *in situ*, e sono state posizionate vicino a questi ultimi. Il monitoraggio per verificare la crescita delle reclute è

stato svolto regolarmente con cadenza bisettimanale a partire da gennaio 2021.

Le misurazioni sono state prese tramite righello partendo dal disco basale fino agli apici.

3.6. Caratteristiche dei siti utilizzati per gli esperimenti di trapianto

I siti che sono stati selezionati per il restauro si trovano distribuiti lungo la Riviera del Conero, che ha uno sviluppo costiero di ca 20 km.

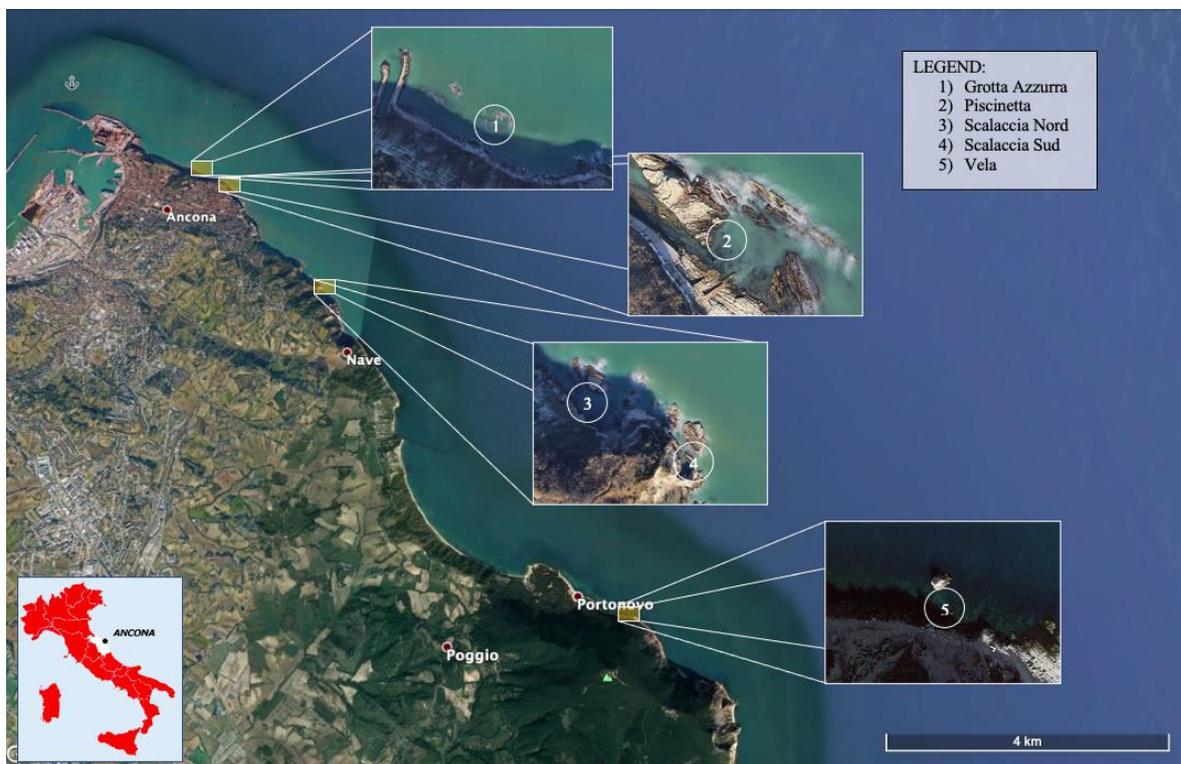


Figura 11: area di studio con i siti donatori e i siti oggetto di restauro.

I due siti usati come donatori (Piscinetta e Scalaccia Nord) presentano condizioni molto simili, sono entrambi bacini semichiusi caratterizzati da un regime idrico poco turbolento grazie a scogliere che ostacolano il moto ondoso causato dai venti provenienti da Nord Ovest (che sono quelli prevalenti sulla

Riviera). I tre siti usati per il restauro (Grotta Azzurra, Scalaccia Sud e Vela) sono stati selezionati perché ritenuti soggetti a diverse tipologie ed entità di impatto antropico. La Grotta Azzurra è un sito turistico locale, vicino al centro della città ed al porto, è stato considerato quindi come area potenzialmente impattata. La Scalaccia Sud, al contrario, è un tratto di costa poco frequentato a causa della difficoltà di accesso alla spiaggia. Si trova a ridosso del monte Conero ed è stato valutato come sito meno stressato da un punto di vista antropico. La Vela è il sito più a Sud e di conseguenza il più lontano dal centro urbano della città e dal porto. Tuttavia, nei mesi estivi, questo diventa in uno dei principali siti turistici ed è soggetto a un grande afflusso di persone e di natanti. Il trapianto alla Grotta Azzurra (coordinate: 43° 37' 19.59'' N; 13° 31' 28.10'' E) è stato effettuato sulla faccia interna di un grosso scoglio affiorante orientato parallelamente alla costa, lungo circa 20m.

La Scalaccia Sud è localizzata in prossimità della Scalaccia Nord (sito donatore). Questo sito è caratterizzato da grandi massi che emergono dall'acqua e creano un ambiente dal fondale frastagliato, la cui profondità si riduce progressivamente fino a raggiungere un'insenatura con una profondità di circa mezzo metro, nella quale è stato effettuato il trapianto.

La Vela (coordinate: 43° 33' 41.41'' N; 13° 36' 08.33'' E) è il sito più a Sud e anche il più esposto. Viene chiamato così per la presenza di un enorme scoglio

che emerge dell'acqua che ricorda la vela di una barca e si trova a pochi metri dalla costa rocciosa. Questo sito insieme alla Grotta Azzurra è l'unico a non essere colonizzato da popolazioni di *Gongolaria barbata* nelle immediate vicinanze.

3.7. Analisi statistiche

È stata svolta un'analisi permutazionale della varianza (PERMANOVA) su tutti i dati raccolti. Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando disegni sperimentali adeguati, a seconda dei dati.

Per i dati di altezza e fenologia riproduttiva sono stati testati gli effetti di due fattori, sito (fisso, due livelli: sito Piscinetta e sito Scalinata), e data di campionamento (fisso, 12 livelli), analizzati con disegno a due vie. Per i dati di crescita delle reclute in condizioni di laboratorio è stato testato anche in questo caso l'effetto del fattore data di campionamento (fisso, 6 livelli) e sito (fisso, 7 livelli: riferito al numero delle vasche). Per i dati relativi all'altezza del trapianto *in situ* ed *ex situ* sono stati testati gli effetti dei fattori sito (fisso, 4 livelli: Grotta Azzurra, Piscinetta; Scalaccia Sud; Vela) e data di campionamento. Quando la PRIMER ha rilevato differenze statisticamente significative ($P < 0.05$), sono stati svolti test pair wise per evidenziare tra quali livelli esistessero differenze significative.

4. RISULTATI

4.1. Fenologia vegetativa

La variazione dell'altezza media dei talli campionati nei siti della Piscinetta e della Scalinata è riportata nel grafico in Figura 12.

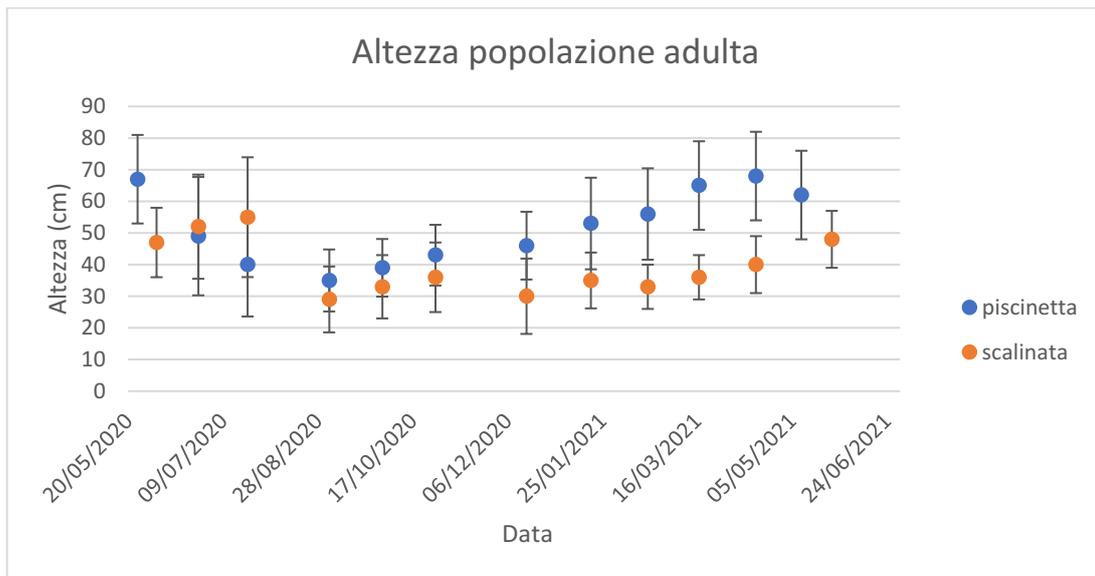


Figura 12: variazione temporale dell'altezza di *Gongolaria barbata* nei siti della Piscinetta e della Scalinata. La barra indica la deviazione standard (n= 20).

I valori massimi di altezza sono stati raggiunti nella Piscinetta nelle date di campionamento 11 e 12 (aprile e maggio 2020); a questo picco è seguita una fase di diminuzione dell'altezza fino al raggiungimento di valori minimi in estate avanzata, per poi aumentare nuovamente in autunno. L'altezza media massima raggiunta dalle alghe della Piscinetta è di 68 cm ed è stata riscontrata nel campionamento 7 (16 aprile 2021), mentre quella minima è di 35 cm, rilevata nel campionamento 4 (3 settembre 2020).

Analogamente a quanto osservato nella popolazione della Piscinetta, possiamo osservare una variazione temporale anche nella popolazione della Scalinata, ma con andamento leggermente diverso. In questo caso, l'altezza media massima risulta essere 55 cm misurata nel campionamento 3 (22 luglio), mentre quella minima è di 29 cm, rilevata nel campionamento 4 (3 settembre 2020).

Come possiamo vedere dal grafico (Figura 12), il periodo massimo di crescita per la popolazione della Scalinata è concentrato nei mesi di maggio, giugno e luglio. A questo picco segue una fase di diminuzione dell'altezza che si mantiene più o meno costante anche nei mesi invernali. L'aumento dell'altezza in questo sito diventa nuovamente rilevante in tarda primavera.

L'analisi della variazione dell'altezza in funzione del tempo nei due siti condotta tramite PERMANOVA (Tabella 2) ha confermato che l'altezza varia in modo significativo nel tempo ($p < 0.05$) in ciascun sito e che vi è una differenza significativa tra i due siti.

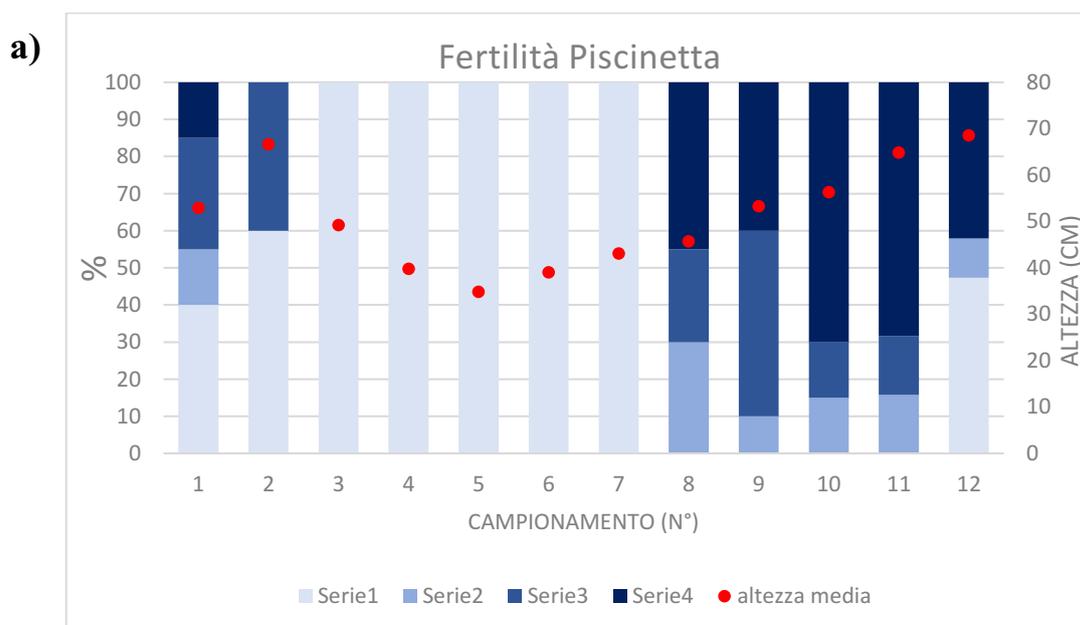
I risultati dei test pair wise, hanno mostrato che, in generale, l'altezza nei giorni di campionamento 1, 2 e 11 (maggio, giugno e aprile) è significativamente maggiore rispetto alle giornate di campionamento 4, 5, 6, 7, 8 (settembre, ottobre, novembre, dicembre, gennaio) ($p < 0,05$).

Tabella 2: risultati dei test PERMANOVA svolti sui dati di altezza nella categoria fenologia.

Varabile	df	MS	Pseudo-F	P(perm)
Sito	1	15073	95.183	0.001
Tempo	12	3586.7	22.649	0.001
Sito x Tempo	10	1007	6.3592	0.001
Residui	560	158.36		
Total	583			

4.2. Fenologia riproduttiva

Le popolazioni di *Gongolaria barbata* sono monoiche, e sia i gameti maschili che quelli femminili sono solitamente prodotti all'interno dello stesso concettacolo. L'esame dei recettacoli raccolti in ogni data di campionamento ha evidenziato forti variazioni nello stato riproduttivo di *G. barbata* nelle diverse stagioni e tra i due siti. Nei grafici della Figura 13 si può vedere lo stato di maturità delle due popolazioni, espresso in percentuale, in relazione all'altezza.



b)

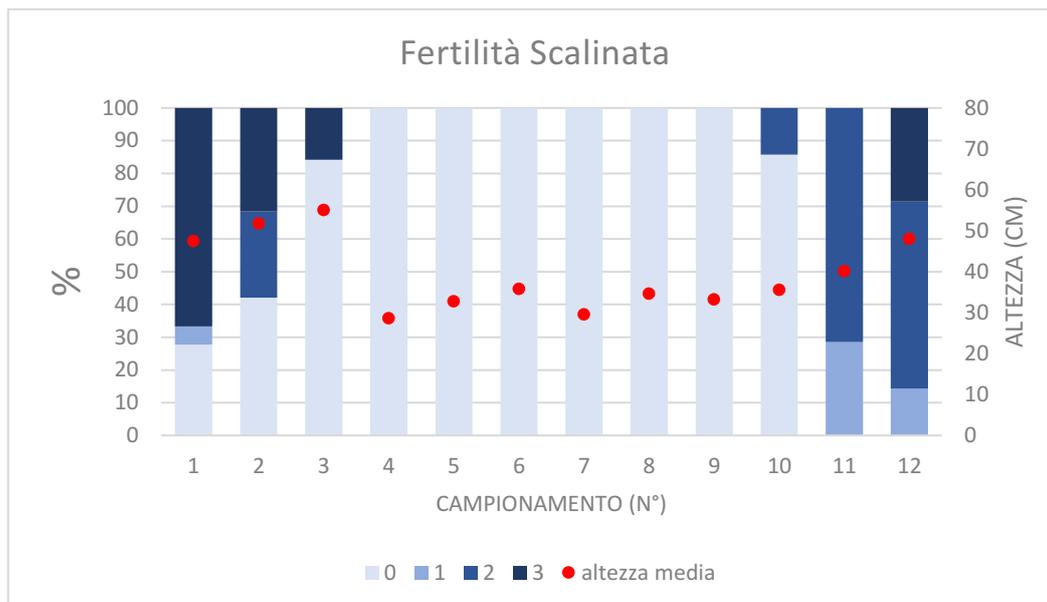


Figura 13: variazione temporale dello stato di fertilità di *Gongolaria barbata* nei siti della Piscinetta (a) e della Scalinata (b). Le categorie di fertilità descritte nella sezione Materiale e Metodi sono riportate come percentuale di talli campionati.

I risultati hanno evidenziato che, alla Piscinetta, nel campionamento del 25 maggio circa il 40% dei talli apparteneva alla categoria 0, dato che la maggior parte aveva chiaramente già rilasciato i gameti. Solo il 15% delle alghe apparteneva alla categoria 3; questi talli erano nella fase finale di maturazione.

Nell data di campionamento del 26 giugno 2020 il rilascio dei gameti era avvenuto in gran parte della popolazione (70% dei talli campionati); le alghe apparivano prive di concettacoli o con concettacoli in cui non si osservavano gameti. Nei mesi da settembre a dicembre 2020 la popolazione della Piscinetta che nel periodo estivo aveva perso le fronde, ha iniziato a riformarle e ha seguito un accrescimento regolare e lineare nel tempo. La popolazione in questo periodo risultava ancora immatura e del tutto priva di concettacoli. A

gennaio 2021 l'alga iniziava ad entrare nella fase riproduttiva: il 30% comprendeva talli appartenenti alla categoria 1, il 25% era in fase di maturazione (categoria 2) mentre il 45% risultava già essere pienamente fertile (categoria 3). Nei campionamenti effettuati a marzo e aprile 2021 sono stati riscontrati i massimi livelli riproduttivi: l'85% delle alghe totali comprendeva talli appartenenti alle categorie 2 o 3.

La popolazione della Scalinata appariva pienamente riproduttiva nella prima data di campionamento (Figura 13b). In questo campionamento (4 giugno 2020) la popolazione raggiungeva i suoi massimi livelli riproduttivi e il 67% dei talli campionati risultava pienamente maturo (categoria 3). Nella data del 22 luglio 2020 il rilascio dei gameti era avvenuto per gran parte della popolazione. Solo il 15% dei talli campionati risultava essere ancora fertile e, una volta perse le fronde, la popolazione è rimasta spoglia fino al mese di febbraio 2021. A partire dal mese di marzo 2021 l'alga ha iniziato ad entrare nella fase riproduttiva, ma con la maggior parte dei talli ancora non maturi (il 25 marzo 2021 l'85% apparteneva ancora alla categoria 0. Nel campionamento del 21 aprile il 100% dei talli campionati era in fase di maturazione e il 26 maggio 2021 il 30% risultava essere completamente fertile.



Figura 14: popolazione adulta di *Gongolaria barbata* alla Piscinetta e alla Scalinata rispettivamente nei mesi di dicembre e gennaio.

L'analisi multidimensional scaling (MDS) in Figura 15, evidenzia come le popolazioni di *G. barbata* nei due siti analizzati siano caratterizzati da livelli di maturità differenti in ogni periodo, nonostante la loro prossimità spaziale. L'unico periodo nel quale le due popolazioni sono allo stesso stadio riproduttivo è la stagione estiva nei mesi di luglio, agosto e settembre, dopo che le alghe hanno perso le fronde ed entrano in una fase di riposo vegetativo. Mentre per la Piscinetta questo periodo termina con la fine dell'estate, in quando a partire dal mese di ottobre l'accrescimento del tallo riprendere lentamente, nel caso della Scalinata, come spiegato in precedenza, il riposo vegetativo si estende da luglio a febbraio e quindi per quasi tutto l'inverno (Figura 14).

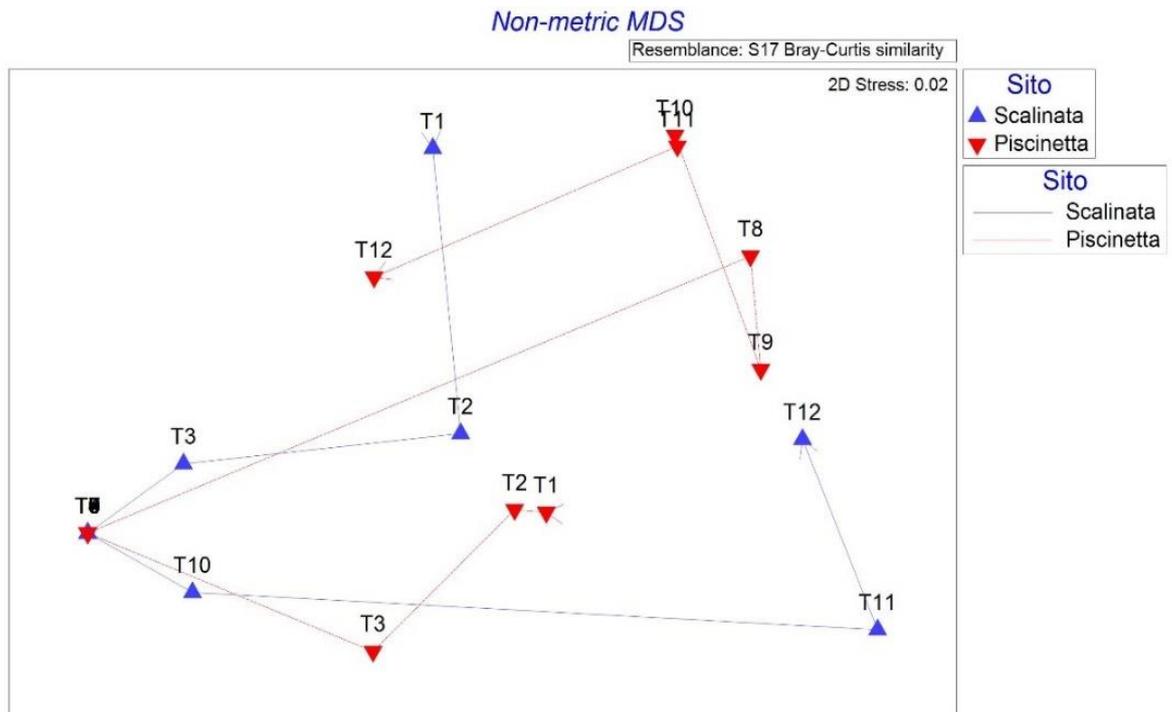
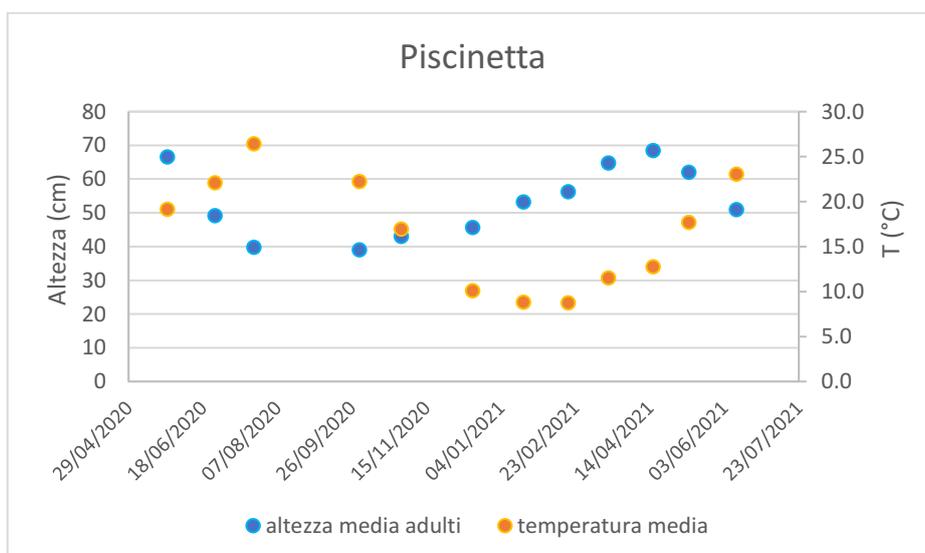


Figura 15: analisi MDS svolta sui dati di fertilità raccolti per le popolazioni della Piscinetta e delle Scalinata nelle 12 date di campionamento.

4.3. Relazione tra sviluppo vegetativo di *G. barbata* e temperatura

I grafici in Figura 16 mostrano la variazione dell'altezza in relazione alla temperatura in entrambi i siti.

a)



b)

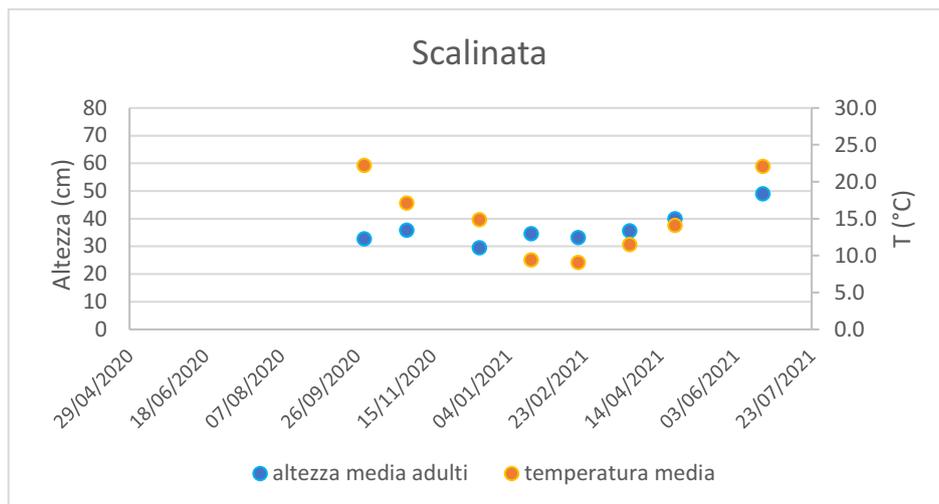


Figura 16: variazione nell'altezza media degli individui di *Gongolaria barbata* in relazione alla temperatura. n=20.

Tendenzialmente, per entrambi i siti nel periodo da gennaio a marzo la relazione tra temperatura e altezza è diretta, al contrario, con l'arrivo dell'estate e la soglia dei 25°C la relazione diventa inversa. Nel sito della Piscinetta, durante la stagione autunnale, quando le temperature iniziano ad abbassarsi, l'alga inizia ad accrescersi, mentre per la Scalinata questo avviene durante l'inverno, quando l'alga inizia a riformare le fronde. L'unico momento in cui si osserva contemporaneamente un aumento di temperatura e di altezza sono i mesi di marzo, aprile e maggio. Con l'arrivo della stagione calda, a partire dal mese di luglio, le alghe iniziano a decrescere e la relazione tra temperatura e altezza torna ad essere inversa. Nel sito della Piscinetta, inoltre, l'andamento tra temperatura e altezza risulta essere più marcato perché le alghe raggiungono altezze maggiori.

4.4. Crescita dei talli giovanili in laboratorio

Nelle vasche allestite in laboratorio si è potuta osservare una crescita delle reclute costante e lineare nel tempo. Il grafico mostra l'andamento più o meno sincrono per tutte e sette le vasche nelle quali sono state effettuate le misurazioni.

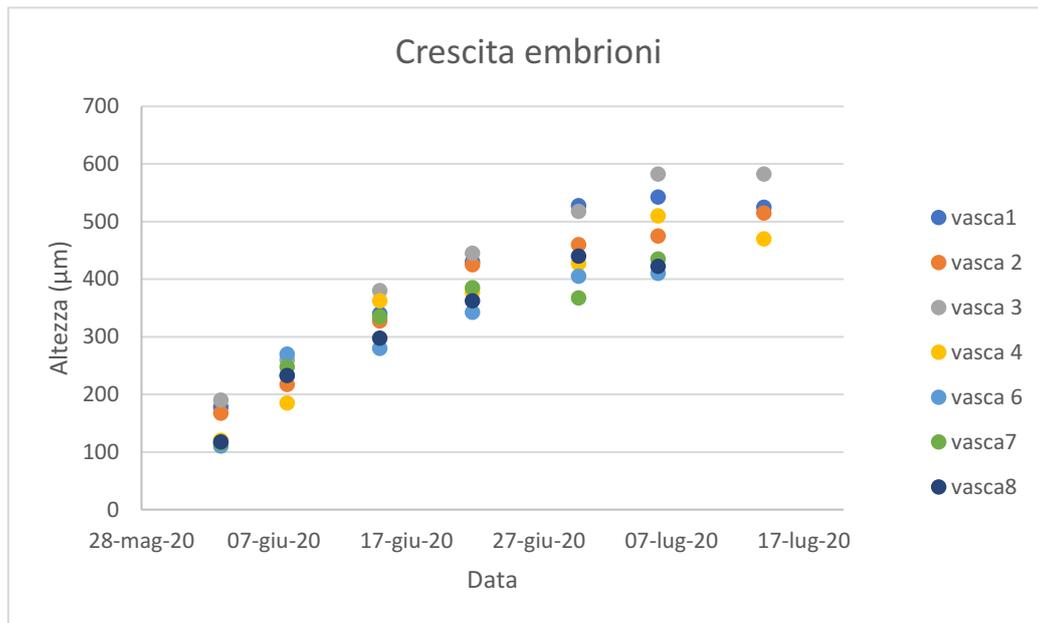


Figura 17: variazione dell'altezza di 10 talli giovanili scelti a random in ogni vasca.

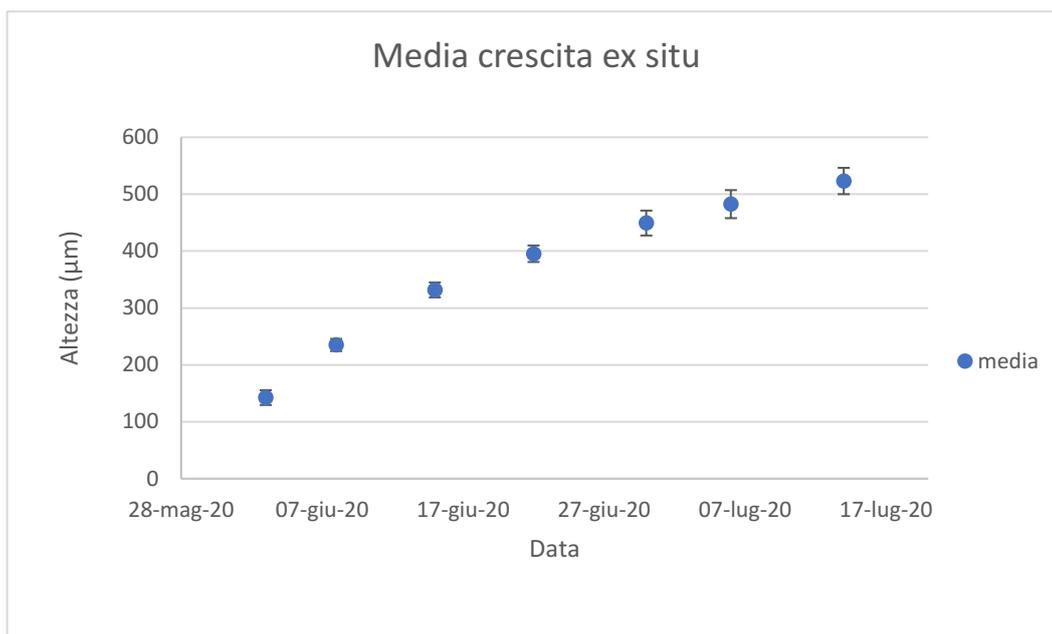


Figura 18: altezza media dei talli giovanili di tutte le vasche in ogni data di campionamento. Le barre indicano l'errore standard (n=7).

La crescita media è stata di 63 micron a settimana, anche se i dati dimostrano un aumento lineare nelle prime tre settimane (90 micron a settimana) con un successivo rallentamento.

Le analisi PERMANOVA hanno mostrato che l'altezza delle reclute varia in modo significativo nel tempo, e mostra differenze significative tra alcune delle vasche numero 4, 5, 6, 7.

Tabella 3: risultati della PERMANOVA svolta sui dati di altezza in relazione ai fattori vasca e data di campionamento.

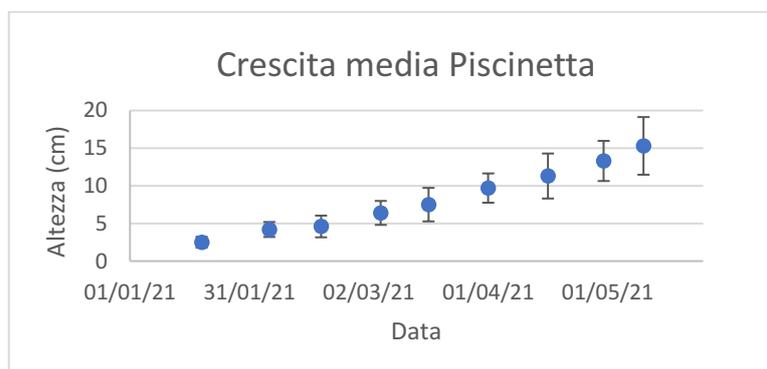
Source	df	MS	Pseudo-F	P(MC)
Vasca	6	82090	23.516	0.001
Tempo	6	1.13E+06	324.63	0.001
Vasca x Tempo	33	9446.3	2.706	0.001
Residui	407	3490.8		
Total	452			

4.5. Trapianto delle mattonelle in terracotta

L'intervento di restauro avvenuto nei siti: Grotta Azzurra, Piscinetta, Scalaccia Nord, Scalaccia Sud e Vela ha avuto successo solo in due di questi ultimi, la Piscinetta e la Scalaccia Nord (entrambi siti donatori).

Al momento del trapianto le reclute misuravano non più di 1mm. Dopo il primo monitoraggio, effettuato a distanza di 3 mesi, l'alga più alta (misurata alla Piscinetta) misurava 3.4 cm. La figura 4.7 illustra l'accrescimento delle reclute sui substrati di terracotta nel periodo gennaio-giugno 2021 alla Piscinetta e alla Scalaccia Nord.

a)



b)

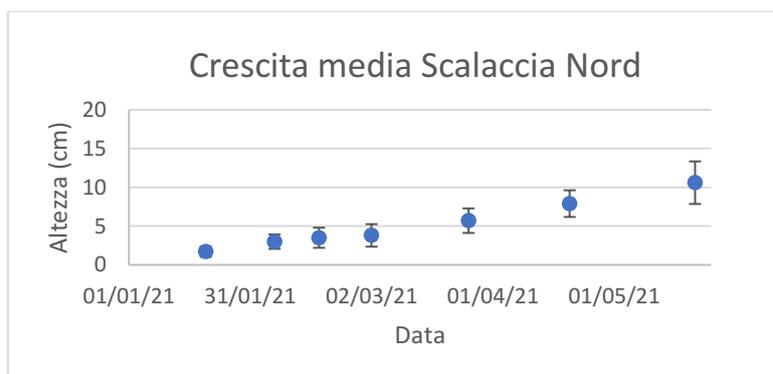


Figura 19: crescita media delle reclute presenti sulle mattonelle di terracotta trapiantate nel restauro *ex situ*.

Tabella 4: risultati dei test PERMANOVA svolti sui dati di altezza in relazione ai fattori sito e data di campionamento.

Source	df	MS	Pseudo-F	P(perm)
Sito	1	21.623	5.8895	0.019
Tempo	8	66.204	18.033	0.001
Sito x tempo	5	0.6345	0.17283	0.973
Residui	30	3.6713		
Total	44			

La PERMANOVA svolta sui dati per questi due siti ha mostrato che l'altezza delle reclute è variata in modo significativo nel tempo. I test pair wise mostrano differenze tra i primi e gli ultimi tempi di campionamento in entrambi i siti. Di fatto, le reclute sono cresciute in entrambi i siti e non è stata rilevata una differenza significativa tra i due siti.

Tabella 5: analisi pair wise condotta sull'altezza delle reclute per testare i tempi di campionamento.

Scalaccia			Piscinetta		
Groups	t	P(MC)	Groups	t	P(MC)
T0, T4	4.0544	0.015	T0, T5	6.4571	0.004
T0, T5	5.9568	0.006	T0, T6	4.9478	0.013
T1, T5	4.4122	0.017	T0, T7	6.7065	0.004
T3, T5	3.1323	0.037	T0, T8	5.7377	0.01
			T1, T5	4.6264	0.007
			T1, T6	3.8888	0.018
			T1, T7	5.4743	0.005
			T1, T8	4.8928	0.01
			T2, T5	3.8737	0.027
			T2, T6	3.5053	0.024
			T2, T7	4.9546	0.009
			T2, T8	4.5764	0.011
			T3, T7	3.8693	0.024
			T3, T8	3.7733	0.031

4.6. Crescita delle reclute in situ su substrati naturali

La figura 4.8 mostra l'accrescimento delle reclute attecchite su substrato naturale nei vari siti selezionati per il trapianto.

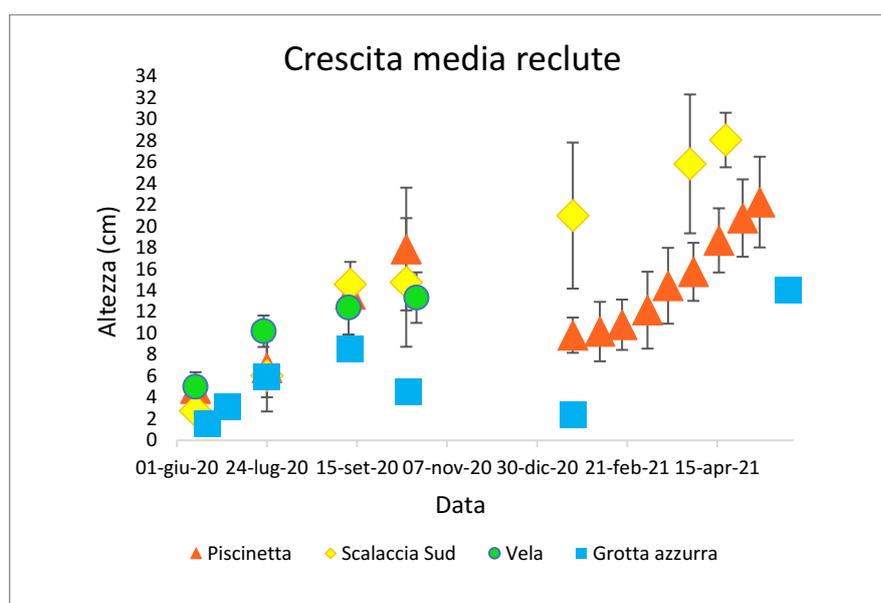


Figura 20: altezza media delle alghe cresciute sui ciottoli trapiantati nei siti di restauro. Le barre indicano la deviazione standard (n~5).

Per i siti della Scalaccia Sud e della Piscinetta le misurazioni hanno coperto la maggior parte di un ciclo annuale e mostrano un graduale aumento in altezza. La Scalaccia Nord non è riportata nel grafico perché il trapianto è stato erroneamente effettuato in un punto caratterizzato da un'ampia escursione di marea. Qui, dopo un mese dal trapianto (in piena estate), i ciottoli reclutati si trovavano fuori dall'acqua.

Le reclute del sito della Vela hanno mostrato una crescita nei primi cinque mesi dopo il restauro, tuttavia, con l'arrivo dell'inverno e le forti mareggiate (che, data la natura molto esposta del sito, hanno un impatto maggiore che sugli altri siti) i ciottoli sono stati rimossi nel dicembre 2020. Per le reclute del sito della Grotta Azzurra, l'accrescimento è stato osservato nei primi tre mesi. Successivamente, le forti mareggiate invernali hanno probabilmente provocato il distacco di alcune fronde, che è risultato in una decrescita dell'alga. A gennaio le alghe sui ciottoli trapiantati misuravano solo 2-3cm. Con la primavera l'unica alga rimasta ha ripreso la crescita e in pochi mesi ha raggiunto i 14 cm.

L'analisi della variazione dell'altezza in funzione del tempo e dello spazio condotta tramite PERMANOVA (Tabella 4.4) ha mostrato che l'altezza è variata in modo significativo nel tempo ($p < 0.05$) ed è stata rilevata una differenza significativa anche tra i siti. Anche l'interazione tra data di campionamento e sito è risultata significativa. I risultati dei test pair wise hanno mostrato differenze in ciascun tempo di campionamento in tutti e cinque i siti.

Tabella 6: risultati della PERMANOVA svolta sui dati di altezza in relazione ai fattori sito e data di campionamento.

Source	Df	MS	Pseudo-F	P(perm)
Sito	3	376.59	35.895	0.001
Tempo	12	157.63	15.025	0.001
Sito x Tempo	14	69.987	6.6709	0.001
Residui	60	10.491		
Total	89			

5. DISCUSSIONE

5.1 Fenologia vegetativa e riproduttiva

Le grandi alghe brune svolgono il ruolo di “ecosystem engineer” nelle acque temperate e fredde poco profonde. La loro distribuzione è solitamente strettamente dipendente dalla profondità e dall'intensità dell'azione delle onde (Sauvageau,1912). Nel Mar Mediterraneo, le foreste marine sono principalmente originate da Fucales del genere *Cystoseira s.l.* che svolgono un importante ruolo funzionale nel sostenere reti trofiche complesse e mantenere un'elevata biodiversità (Mangialajo, et al., 2013). La complessità morfo-strutturale delle specie appartenenti a questo gruppo, dovuta alla particolare struttura dello stipite e delle fronde aumenta la tridimensionalità del sistema, fornendo rifugio per numerosi organismi e contribuendo all'aumento della diversità e dell'abbondanza della comunità associata (Falace e Zanelli, 2006), oltre a fornire ossigeno e risorse trofiche. Tuttavia, le specie di *Cystoseira s.l.* sono particolarmente sensibili alle pressioni antropiche, e come molte altre grandi alghe brune nel mondo, stanno regredendo a causa di diversi impatti, tra cui: l'inquinamento, l'urbanizzazione, la proliferazione degli erbivori e a volte come effetto indiretto della pesca eccessiva (Mangialajo et al., 2013; Fabbrizzi et al., 2020).

Sebbene le specie di *Cystoseira s.l.* siano elencate come minacciate nelle convenzioni internazionali, non sono ancora protette in modo efficace (Thibaut et al., 2015). Inoltre, per le loro caratteristiche biologiche, necessitano di anni affinché una popolazione possa riprendersi, nel momento in cui la sorgente dell'impatto termina. Emerge quindi la necessità di intervenire attivamente con progetti di riforestazione atti a ripristinare quelle popolazioni che si trovano in regressione o nelle quali l'alga è completamente scomparsa. Questo ha portato allo sviluppo di diverse tecniche non distruttive (*in situ ed ex situ*), finalizzate ad aumentare il reclutamento nelle popolazioni di *Cystoseira* da ricostituire.

Per poter realizzare progetti di restauro è fondamentale conoscere la biologia della specie e la fenologia vegetativa e riproduttiva della popolazione che si deve ripristinare. Questo può essere ottenuto solo con un monitoraggio dettagliato e svolto su un periodo esteso, di almeno un anno.

In questo lavoro è stato condotto uno studio sulla fenologia vegetativa e riproduttiva delle due popolazioni di *Gongolaria barbata* presenti nei siti della Piscinetta e della Scalinata nel periodo dal maggio 2020 al maggio 2021. Le due popolazioni presentano una notevole plasticità morfologica dovuta al ciclo stagionale di crescita e riproduzione. Il tallo si modifica nella taglia e nell'aspetto in relazione ai principali parametri ambientali e, in particolare, in rapporto all'idrodinamismo, alla luce e alla temperatura (Falace e Zanelli,

2006). I campionamenti svolti hanno rivelato infatti una notevole differenza tra le due popolazioni, sia dal punto di vista delle dimensioni e della ramificazione, che dal punto di vista riproduttivo. Nella popolazione della Piscinetta, all'inizio della primavera, l'alga raggiunge il suo massimo sviluppo vegetativo, raggiungendo un'altezza media di 68 cm. Successivamente, con l'arrivo dell'estate e la soglia dei 15°C l'alga subisce un cambiamento nella morfologia causato dalla perdita quasi totale dei rami primari e secondari, che avviene successivamente al rilascio dei gameti. Il cauloide persiste in uno stato di riposo vegetativo durante tutta l'estate e da ottobre, quando la temperatura comincia ad abbassarsi, l'alga inizia a riformare i rami avventizi dalle parti apicali dello stipite.

Nel caso della Scalinata, una volta perse le fronde nel periodo estivo, l'alga entra in una fase di riposo vegetativo che durerà fino alla primavera successiva. In questo periodo il tallo è costituito quasi esclusivamente dallo stipite. Solo dal mese di marzo, con l'aumento della temperatura e del fotoperiodo, a partire dal cauloide perennante iniziano a svilupparsi i nuovi rami. Il periodo di massimo accrescimento verrà raggiunto nel mese di giugno insieme alla piena fertilità. Come scritto precedentemente, *Gongolaria barbata* mostra marcate variazioni stagionali nella morfologia, che sono conseguenza delle differenze nella crescita e nella riproduzione determinate dalle condizioni ambientali.

Questo si trova in accordo con quanto osservato in uno studio condotto nelle Aree Marine Protette di Strunjan e Miramare da Bevilacqua et al. (2019). Questi autori hanno riportato che nel 2019 le popolazioni di *G. barbata* di queste aree sono entrate nel periodo riproduttivo 3 mesi in anticipo rispetto al normale ciclo riproduttivo. A questo fenomeno sono seguiti due anni in cui l'alga risultava non essere più fertile. Questa anomalia è stata provocata da episodi ricorrenti di riscaldamento durante la stagione fredda con un'anomalia termica di 2,65°C superiore alla media che ha colpito l'intero bacino. Poiché la temperatura è una delle principali variabili che regolano la fenologia riproduttiva e vegetativa nelle alghe, episodi precoci ed estremi di riscaldamento potrebbero svolgere un ruolo decisivo nell'influenzare la sopravvivenza nelle successive fasi di vita (Bevilacqua et al., 2019; Verdura et al., 2021). Tuttavia, l'effetto delle *heat waves* non è destinato a essere uniforme, ma varierà su scala locale. Alcuni siti con condizioni favorevoli potranno funzionare da rifugi climatici e le popolazioni, ivi presenti, dovrebbero ricevere una particolare attenzione dal punto di vista della conservazione (Verdura et al., 2021). È stato dimostrato da Irving et al. (2009) che non ci sono differenze significative nel tasso di crescita e nel tasso di mortalità di reclute di *G. barbata* della Riviera del Conero alle temperature di 10 °C e di 16 °C. Questo corrisponde con i parametri ottimali per la crescita di *G. barbata* riportati anche

da Ercegović (1952), che definisce *G. barbata* un'alga euriterma che predilige temperature che variano da 8 °C a 17 °C. Questi dati sono in sostanziale accordo con quanto osservato in questo lavoro per le popolazioni della Piscinetta e della Scalinata, in cui la fase di accrescimento si osserva proprio nel range delle suddette temperature. Anche nello studio di Falace e Bressan (2006) svolto nelle coste slovene, i talli hanno mostrato un andamento stagionale caratterizzato da una marcata variazione fenologica delle fronde, sia per dimensione che per forma. In questo caso è stata riscontrata un'alternanza tra una fase in attiva crescita vegetativa con fronde più grandi in primavera-estate e una ridotta, quiescente, in autunno-inverno.

Lo stesso andamento è stato descritto da Perkol-Finkel e Airoidi (2010) per alcuni siti lungo la Riviera del Conero e questi risultati si prestano particolarmente per un confronto con quanto osservato nello studio di questa tesi per la popolazione della Scalinata. Questi intervalli di tempo sono tuttavia leggermente diversi rispetto a quelli riscontrati nella Piscinetta, in cui la fase di crescita vegetativa si colloca nel periodo invernale-primaverile, e quella di parziale riposo nel periodo estate-inizio autunno. Questa differenza è probabilmente legata al fatto che la Piscinetta rappresenta un ambiente relativamente riparato, chiuso e poco profondo (*rock pool*). Costituisce il tipo di ambiente ideale per la crescita di popolazioni di *Gongolaria barbata*, dove

l'alga è meno sottoposta a stress meccanico da parte del moto ondoso. In condizioni di tempo soleggiato le temperature sono qui più calde per via del parziale isolamento dal mare aperto. Anche Jódar-Pérez et al. (2020) hanno riportato nel loro studio effettuato a Cabo de las Huertas (Alicante, Spagna) come il grado di esposizione alle onde condizioni la distribuzione delle popolazioni di *Cystoseira s.l.* In termini generali, è più abbondante e ampiamente distribuita nelle zone con grande esposizione al moto ondoso ma nel caso di altre specie (ad es. *G. barbata*, *T. sauvageauana*, *C. foeniculacea*) sono distribuite preferenzialmente in ambienti più riparati dove l'idrodinamismo è minore.

Nel presente studio è stata osservata anche una corrispondenza tra l'altezza dell'alga e il grado di fertilità. Per entrambe le popolazioni è stata indagata la fenologia riproduttiva rilevando la presenza-assenza di recettacoli e descrivendone lo stadio di maturità. Si è potuto così constatare che i periodi di massimo accrescimento, nei mesi di marzo e aprile per la Piscinetta e giugno per la Scalinata, corrispondono con il massimo livello di fertilità dell'alga, poiché la quasi totalità dei rami possiede recettacoli maturi. Osservazioni simili sono state riportate anche da Valiante (1883), il quale afferma che gli assi che portano i rametti su cui si formano i concettacoli possono raggiungere fino a 75 cm in altezza. Le osservazioni e le valutazioni preliminari della fenologia

vegetativa e riproduttiva effettuate in questo studio ci hanno permesso di definire il periodo più adatto per la raccolta di recettacoli fertili al fine di realizzare anche un esperimento di restauro *ex situ*.

5.2 Trapianto e restauro di *G. barbata* con reclutamento *ex situ*

Nell'ambito del progetto AFRIMED, il lavoro di questa tesi si è incentrato sulla realizzazione di un progetto di restauro basato su metodi *in situ ed ex situ* per ripristinare la popolazione di *G. barbata* estinta localmente in alcuni siti lungo la Riviera del Conero. La tecnica che prevede il reclutamento *ex situ* è già stata dimostrata come efficace in altri esperimenti condotti in diverse zone del Mar Mediterraneo. La prima esperienza di trapianto *ex situ* di *Cystoseira amentacea var. stricta* (= *Ericaria amentacea*) è stata effettuata nell'Area Marina Protetta delle Cinque Terre (Mediterraneo nordoccidentale) nell'ambito del Progetto UE ROCPOP-Life (De La Fuente et al., 2019). La realizzazione concreta di questa tecnica innovativa consiste in una serie di delicati passaggi, partendo dalla raccolta di materiale fertile, alla coltura dei giovani in laboratorio fino al trasporto dei giovani in campo e al loro trapianto. Questi passaggi sono stati seguiti nella parte di lavoro *ex situ* svolta con *G. barbata* per questa tesi. La fase di coltura in laboratorio ha previsto la realizzazione di un ambiente idoneo con condizioni appropriate di temperatura e intensità luminosa per massimizzare il successo di sopravvivenza delle nuove reclute. Nei primi giorni

non è stato possibile vedere ad occhio nudo se gli zigoti avessero attecchito sulle mattonelle di terracotta. Tuttavia, il rilascio dei gameti è stato confermato osservando i vetrini sotto uno stereomicroscopio.

Il reclutamento in condizioni controllate di laboratorio ha prodotto talli giovanili la cui crescita ha mostrato un andamento esponenziale nel primo mese. A cinque giorni dall'avvenuto rilascio dei gameti, gli individui giovanili misuravano in media $143 \pm 34 \mu\text{m}$ in altezza e dopo sei settimane $523 \pm 46 \mu\text{m}$. Questi risultati si presentano bene per un confronto con quanto descritto nel lavoro di Verdura (2018) in cui le reclute a distanza di un mese mostravano dimensioni di 200–400 μm e dopo sei settimane 400–600 μm . Risultati simili sono stati ottenuti anche da Orlando-Bonaca et al. (2021) nelle coste slovene per *G. barbata*.

Il trapianto dei supporti con le reclute è avvenuto ad ottobre 2020, a distanza di 4 mesi dall'inizio dell'esperimento. I supporti reclutate sono state quindi trasferite in mare in 5 siti: Grotta Azzurra, Piscinetta, Scalaccia Nord, Scalaccia Sud e Vela. Il primo monitoraggio è avvenuto a gennaio, a distanza di tre mesi, e solo per le reclute trapiantate alla Piscinetta e alla Scalaccia Nord si sono potute osservare persistenza e crescita.

Nel sito della Grotta Azzurra, le reclute erano completamente scomparse dalle mattonelle di terracotta. Probabilmente il sito si è rivelato non essere idoneo in quanto soggetto a forti risacche che si creano a cavallo della barriera a causa delle onde che riescono in parte a scavallare la scogliera. Tuttavia, non possiamo escludere che la presenza di grazers come ad esempio le patelle, abbia negativamente influenzato il successo del restauro in questo sito.

Inoltre, nel periodo estivo questa zona è regolarmente frequentata dai grottaroli, che contribuiscono ad un importante aumento della balneazione. Alla Scalaccia Sud, la piccola insenatura in cui è avvenuto il trapianto è delimitata verso terra da una ripida falesia. Durante i monitoraggi è stato osservato che questo sito è soggetto a frane durante le giornate di tempesta. È probabile che la caduta di massi dall'alto abbia influenzato negativamente il successo del restauro in questo sito, che risulta stressato naturalmente in modo stocastico. Tuttavia, eventi di restauro *in situ* (che verranno descritti più avanti) hanno mostrato un grande successo di crescita in questo sito, dimostrando che gli impatti biotici possono determinare il successo o l'insuccesso dei trapianti su microscala.

Il restauro effettuato alla Vela, invece, ha subito un grande impatto dalle mareggiate e si è visto adatto solo fino ad un certo livello di stress ondoso. Dopo un'importante mareggiata avvenuta a dicembre 2020 tutte le mattonelle erano state rimosse. Per ovviare a questo problema si potrebbe tuttavia

utilizzare una tecnica alternativa di fissaggio delle mattonelle al substrato roccioso. Nello studio effettuato da De La Fuente et al. (2019), l'utilizzo di viti inserite nel centro delle mattonelle (che sono state fissate alla roccia trapanandole), si è dimostrato aumentare l'efficacia del fissaggio, riducendo la capacità di distacco delle mattonelle da parte del moto ondoso e allo stesso tempo riducendo il tempo speso per l'attaccamento. Un'alternativa potrebbe essere quella di fissare le mattonelle a maggiore profondità (4-5 m), per ridurre l'impatto del moto ondoso.

Tuttavia, altri autori che hanno effettuato studi dedicati al reclutamento proprio nel sito della Vela, hanno dimostrato come la sopravvivenza delle giovani reclute sia negativamente influenzata dal forte idrodinamismo oltre che dall'elevato apporto di sedimento (Perkol-Finkel et al., 2012; Strain et al., 2015). Quest'ultimo fattore, tuttavia, non è stato preso in considerazione nel lavoro di questa tesi.

Al contrario, alla Piscinetta e alla Scalaccia Nord nei monitoraggi avvenuti a gennaio 2021, l'altezza media delle giovani alghe è risultata essere rispettivamente 2.5 cm e 1.7 cm, e a maggio, dopo un periodo di 7 mesi in mare, 15.3 cm e 10.6 (Figura 21)

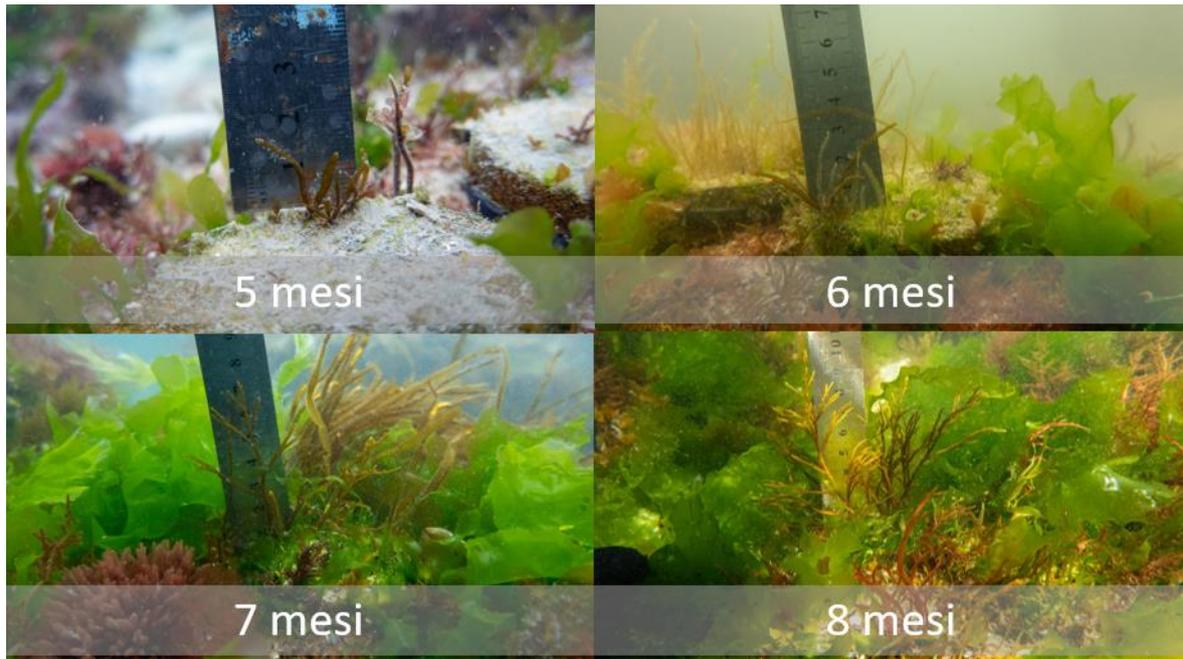


Figura 21: crescita del restauro effettuato alla Scalaccia Nord.

Questo accrescimento repentino nell'ambiente naturale è stato piuttosto inaspettato, soprattutto se confrontiamo i risultati di questo studio con quelli ottenuti da altri autori. Infatti, nel trapianto effettuato nel Golfo di Trieste (Orlando-Bonca et al, 2021), dopo circa quattro mesi in mare, l'altezza media dei giovani era di $6.2\text{cm} \pm 0.56$ mentre durante la prima coltivazione di Savonitto et al. (2021) questa altezza era stata raggiunta dopo sei mesi ($6.2\text{ cm} \pm 0.4\text{ SE}$). Nonostante i diversi vincoli sperimentali, l'esperimento di restauro per *G. barbata* lungo la riviera del Conero ha prodotto risultati promettenti, confermando che in alcuni siti, il trapianto di *G. barbata*, è un approccio praticabile. In questo specifico caso, il restauro ha avuto successo nei due siti donatori, costituendo un rinforzo della popolazione preesistente.

Il nostro esperimento lungo la Riviera del Conero ha fornito preziose informazioni per ottimizzare la coltivazione in laboratorio e le prime fasi del restauro. I risultati degli studi effettuati da De La Fuente et al. (2019) e Orlando-Bonaca et al. (2021) hanno evidenziato che durante la fase di coltura in laboratorio l'utilizzo di antibiotici e nutrienti in aggiunta all'acqua delle vasche è altamente raccomandata per limitare la contaminazione batterica (soprattutto cianobatteri), garantire elevate densità di embrioni sani e aumentare il potenziale successo del restauro. La mancata somministrazione di antibiotici nel caso del nostro studio potrebbe aver provocato la copertura completa delle piastrelle da parte del biofilm. Inoltre, la mancanza di un adeguato sistema di termoregolazione non ha permesso di mantenere le reclute nel loro range ottimale di temperatura a 20°C (Verdura 2018; Orlando-Bonaca 2021). Questo potrebbe aver inciso negativamente sulla crescita negli ultimi mesi di coltura. Tuttavia, l'esito positivo della fase di laboratorio non costituisce ancora una garanzia per il successo dell'impianto in mare. Anche in aree geografiche dove vengono raggiunti alti livelli di qualità ambientale, il successo della reintroduzione delle specie di *Cystoseira s.l.* con l'approccio *ex situ* è influenzata da altri fattori quali; eventi sporadici di riscaldamento delle acque (*heat waves*), eventi meteorologici eccezionali o la pressione da parte di grazers (Orlando-Bonaca et al.,2021).

Infatti, in molti casi di restauro in Mediterraneo, uno dei problemi maggiori è rappresentato dal grazing di animali erbivori, che vengono considerati un grande ostacolo all'ecologia del restauro. Pertanto, il pascolo è uno dei fattori principali da tenere sotto controllo durante la prima crescita dei giovani talli. Esperimenti che hanno fatto uso di gabbie anti-grazing effettuati da Orlando-Bonaca et al. (2021) lungo le coste slovene, hanno dimostrato come l'isolamento degli erbivori contribuisca significativamente ad aumentare il successo del restauro. Tuttavia, sulla Riviera del Conero, il successo del reclutamento sembra essere influenzato maggiormente dal livello del moto ondoso e dall'apporto sedimentario. Studi condotti nel sito della Vela da Strain et al. (2015) si sono concentrati su due fattori di stress locali di particolare interesse: la sedimentazione da erosione delle spiagge e l'arricchimento di nutrienti da parte di acque reflue e dilavamento agricolo. Questi fattori si sono rivelati essere cruciali nel successo di crescita di giovani reclute di specie formanti canopy. Di conseguenza, la riduzione dei fattori di stress antropogenici locali potrebbe senz'altro contribuire a migliorare la resilienza delle popolazioni di queste alghe.

5.3 Trapianto e restauro di *G. barbata* con reclutamento *in situ*

Parallelamente all'attività di restauro *ex situ* è stata svolta anche un'attività di trapianto utilizzando l'approccio basato sul reclutamento *in situ*. Ciottoli

ricoperti di reclute sono stati raccolti nei siti donatori e sono stati trapiantati negli stessi siti selezionati per il restauro *ex situ*. Questo metodo si è basato sulla traslocazione attiva di reclute di *G. barbata* attecchite su substrato naturale e il loro fissaggio in siti ritenuti sicuri e stabili, per facilitare il recupero delle popolazioni. Un intervento analogo di restauro è stato effettuato da Perkol-Finkel et al. (2012) per alcuni siti lungo la Riviera del Conero, in quanto precedenti studi hanno dimostrato che le reclute in habitat particolarmente esposti, come nel caso della Vela, hanno una bassa probabilità di sopravvivenza a causa della grande instabilità del substrato (Perkol-Finkel e Airoidi 2010; Strain et al., 2015).

Nello studio svolto per questa tesi, il fissaggio dei giovani talli è stato fatto sia nei siti naturali dai quali sono stati prelevati i ciottoli che su fondali rocciosi stabili localizzati in altri siti. Al momento del trapianto le reclute misuravano da 1-5 cm. Nei primi cinque mesi (giugno-ottobre) si è potuto osservare per tutti i siti un accrescimento esponenziale delle reclute, in cui la più alta, misurata alla Piscinetta il 14 ottobre, misurava 24.5 cm. Durante il periodo invernale i monitoraggi hanno evidenziato una regressione delle altezze in quasi tutti i siti, ad eccezione della Scalaccia Sud. Questa riduzione è stata probabilmente provocata dal danneggiamento meccanico causato da forti mareggiate invernali, che ha causato il distacco di alcune fronde. Per il sito

della Vela, come descritto per il restauro *ex situ*, i ciottoli trapiantati sono stati rimossi completamente da una violenta mareggiata.

Successivamente, con il ritorno della stagione favorevole, a partire dal mese di febbraio, si è potuta osservare una ripresa della crescita dei talli anche per le popolazioni della Piscinetta e della Grotta Azzurra. A distanza di 11 mesi dal trapianto, le alghe hanno qui raggiunto rispettivamente un'altezza media di 22.3 ± 4.2 cm e 14 ± 0.3 cm. Le alghe che erano state trapiantate alla Scalaccia Sud invece, misuravano 28.1 ± 2.5 cm e i loro apici apparivano già fertili nel mese di marzo (Figura 22). Per questo motivo, l'area sottostante al restauro è stata pulita con delle spatole di metallo per permettere ai futuri zigoti di attecchire meglio al substrato e ridurre la competizione da parte di altri organismi. Anche Perkol-Finkel et al. (2012) hanno potuto osservare che durante la primavera successiva al trapianto dei talli, le alghe si erano accresciute fino a raggiungere la taglia adulta e anch'esse presentavano già strutture riproduttive.



Figura 22: rappresentazione dell'alga a 10 mesi dal restauro *in situ* effettuato alla Scalaccia Sud.

Questo approccio *in situ* si è dimostrato essere particolarmente efficace nei casi in cui le foreste sono altamente frammentate e isolate (Medrano et al., 2020) o nel caso in cui il substrato su cui attecchiscono le reclute sia particolarmente instabile (Perkol-Finkel & Airoidi 2010). La traslocazione attiva delle reclute potrebbe quindi contribuire ad estendere localmente la distribuzione di questa specie ed evitare che piccoli ciottoli reclutati vengano ribaltati dalle mareggiate, aumentando in questo modo il successo di sopravvivenza (Strain et al., 2015). Di fatto, l'esperimento di trapianto di ciottoli naturali (*in situ*) si è rivelato essere una valida strategia alternativa alla crescita delle reclute in

laboratorio (*ex situ*). Infatti, le alghe attecchite sui substrati naturali, presentavano dimensioni maggiori al momento del trapianto, permettendo di evitare le fasi critiche dei primi mesi di vita dell'alga e la laboriosa procedura di allestimento e mantenimento delle vasche. In questo modo il successo del restauro è stato possibile anche in quei siti (Grotta Azzurra e Scalccia Sud) nei quali la *G. barbata* era assente. In aggiunta, i risultati ottenuti dal restauro *in situ* hanno mostrato come questa sia più promettente anche in termini di costi, di tempi e di sforzo sperimentale. Inoltre, lo studio condotto da Perkol-Finkel et al. (2012) suggerisce che il trapianto di individui giovanili di *G. barbata* è tecnicamente realizzabile sia su substrato roccioso naturale che su substrato artificiale, promuovendo il potenziale di infrastrutture costiere al fine di fornire un habitat idoneo per la crescita di questa specie.

La tecnica *ex situ*, al contrario è più indicata per specie a bassa capacità di dispersione, come *C. amentacea* (Mangialajo et al., 2012). Un vantaggio di questa tecnica è sicuramente la riduzione degli alti tassi di mortalità durante le prime settimane di vita, evitando di esporre le reclute alla competizione e al grazing (Benedetti-Cecchi e Cinelli, 1992). Secondo Verdura et al. (2018) maggiore è il tempo di coltura, maggiori saranno le probabilità che il restauro avrà successo, in quanto le piccole reclute avranno superato i primi mesi critici di vita. Inoltre, secondo le osservazioni di Bevilacqua et al. (2019), il trapianto

di individui giovanili di *Cystoseira s.l.* cresciuti in coltura potrebbe rappresentare una valida strategia per selezionare popolazioni con maggiore tolleranza alle temperature elevate, cercando di ovviare al problema di periodi riproduttivi precoci e aumentando le possibilità di successo di restauro per questi preziosi formatori di habitat marini. Tuttavia, Falace et al. (2018) spiegano come la necessità di ottenere un gran numero di reclute per il trapianto possa rappresentare un collo di bottiglia nella progettazione di interventi di restauro su larga scala. Emerge quindi la necessità di pianificare un efficiente sistema in termini di costi e fattibilità per la produzione di reclute che rispetti le necessità di crescita di ogni singola specie. Per questo motivo, ulteriori esperimenti e studi incentrati sulla capacità di dispersione di *Cystoseira s.l.* e sull'ecologia delle loro reclute sono necessari al fine di poter pianificare azioni di riforestazione sostenibile su larga scala.

Infine, è essenziale sottolineare che l'intervento principale è quello di mitigare su scala locale e globale gli impatti antropici che provocano la perdita di questi importantissimi ecosistemi marini. Il miglioramento della qualità dell'acqua (riducendo il carico di sedimenti e le concentrazioni di nutrienti) è un intervento locale efficace per prevenire uno shift da foreste macroalgali a comunità di alghe che formano feltri o i letti di mitili.

A questo riguardo la Commissione Europea ha sviluppato diverse raccomandazioni per il monitoraggio e il controllo delle concentrazioni di nutrienti nelle acque costiere. Tuttavia, attualmente non esistono linee guida per i test in situ o la gestione degli input sedimentari. Le potenziali iniziative per ridurre gli apporti di sedimenti comprendono la limitazione o la riduzione dei ripascimenti e dei dragaggi (in particolare durante l'intero periodo riproduttivo di *G.barbata*), la stabilizzazione dei substrati e l'installazione di trappole sedimentari in prossimità di bacini idrografici (Strain et al., 2015). Interventi di questo tipo meritano di essere considerati con grande attenzione per una area come la Riviera del Conero, in cui l'elevato carico di sedimento è certamente uno dei problemi maggiori per il reclutamento di *G. barbata*.

6. CONCLUSIONI

Nella decade UN dedicata all'Ecological Restoration e alla Ocean Science for Sustainable Development da questo studio possiamo concludere che:

- Differenze nella fenologia vegetativa e riproduttiva si possono osservare tra popolazioni su piccola scala spaziale
- La tutela delle popolazioni donatrici è essenziale almeno durante il periodo riproduttivo dell'alga
- L'intervento di reclutamento *in situ* si è dimostrato essere quello più promettente in termini di tassi di accrescimento della *G. barbata* ma anche in termini di costi, di tempi e di sforzo sperimentale.
- Il rinforzo delle popolazioni donatrici si è dimostrato avere il massimo successo rispetto ai trapianti effettuati in altri siti.
- Sul trapianto agiscono fattori biotici che influenzano il successo del restauro su microscala spaziale
- Il potenziamento di reclutamento è un approccio promettente per interventi di restauro su grande scala, permettendo un upscaling del restauro.

7. BIBLIOGRAFIA

- A., E. (1952). adranske cistozire. Njihova morfologija, ekologija i razvitak. 191.
- Ballesteros, Pinedo, S., García, M., Mangialajo, & M. Torres, (2007). A new methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Water Framework Directive. 172-80.
- Bevilacqua, G. Savinotto, P.M. Marina Lipizer, S. Ciriaco, M. Srijemsi, & A. Falace, (2019). Climatic anomalies may create a long-lasting ecological phase shift by altering the reproduction of a foundation species.
- Bringloe, (2020). Phylogeny and Evolution of the Brown Algae. 281-321.
- Cavallo, X, Torras, O. Mascaró, E. Ballesteros, (2015). Effect of temporal and spatial variability on the classification of the Ecological Quality Status using the CARLIT Index.
- De La Fuente, Mariachiara Chiantore, Valentina Asnaghi, Sara Kaleb & Annalisa Falace, (2019). First ex situ outplanting of the habitat forming seaweed *Cystoseira amentacea var. stricta* from a restoration perspective.
- Fabbrizzi et al., (2020). Modeling Macroalgal Forest Distribution at Mediterranean Scale: Present Status, Drivers of Changes and Insights for Conservation and Management.
- Falace & Zanelli (2006). Studio morfo-funzionale, analisi della complessità e trapianto di habitat forming species.
- Falace et al., (2017). Ex situ cultivation protocol for *Cystoseira amentacea var. stricta* (Fucales, Phaeophyceae) from a restoration perspective.

Guiry and Guiry, 2. (2021). *Algaebase*.

Guiry & Cunningham, (1984). Photoperiodic and temperature responses in the reproduction of north-eastern Atlantic *Gigartina acicularis* (Rhodophyta: Gigartin. 357-367.

Irving, A. D., Balata D., Colosio F., Ferrando G. A., & Airoidi L. (2009). Light, sediment, temperature, and the early life-history of the habitat-forming alga *Cystoseira barbata*.

ISPRA. (2008). Quaderno Metodologico sull'elemento biologico MACROALGHE e sul calcolo dello stato ecologico secondo la metodologia CARLIT.

Iveša L., Djakovac T. & Devescovi, M. (2016). Long-term fluctuations in *Cystoseira* populations along the west Istrian Coast (Croatia) related to eutrophication patterns in the northern Adriatic Sea. 162-173.

Jana Verdura, J. S. (2021). Local-scale climatic refugia offer sanctuary for a habitat-forming species during a marine heatwave.

Jódar-Pérez, A., Terradas-Fernández, López-Moya F., Asensio, L., & López-Llorca L., (2020). Phylogeny of *Cystoseira* sensu lato from SE Spain suggests a complex colonization of the Mediterranean.

Lisandro Benedetti-Cecchi, F. C. (1992). Effects of canopy cover, herbivores and substratum type on patterns of *Cystoseira* spp. settlement and recruitment in littoral rockpools . 183-191.

Mangialajo, L., Gianni, F., LAURA, A., F, B., Francour, P., Meinesz, A., Ballesteros, E. (2013). Conservation and restoration of *Cystoseira* forests in the Mediterranean sea: the role of marine protected areas.

- Marzocchi, M., Curiel, D., Dri, C., & Mario, S. (2003) Fenologia morfologica e riproduttiva di *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C.Agardh var. *barbata* (Fucales, Fucophyceae) nella laguna di Venezia (Nord Adriatico). 21-23.
- Medrano, A., Hereu, B., Cleminson, M., Pagès-Escolà, M., Rovira, G., Solà, J., & Linares, C. (2020). From marine deserts to algal beds: *Treptacantha elegans* revegetation to reverse stable degraded ecosystems inside and outside a No-Take marine reserve. 632–644.
- Molinari, & Giury, (2020). Reinstatement of the genera *Gongolaria* Boehmer and *Ericaria* Stackhouse (Sargassaceae, Phaeophyceae)
- Orellana, S. (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. 447-465.
- Orlando-Bonaca, M., & al, e. (2021). First Restoration Experiment for *Gongolaria barbata* in Slovenian Coastal Waters. What Can Go Wrong?
- Perkol-Finkel, S., & Airoidi, L. (2010). Loss and Recovery Potential of Marine Habitats: An Experimental Study of Factors Maintaining Resilience in Subtidal Algal Forests at the Adriatic Sea.
- Perkol-Finkel, S., Ferrario, F., Nicotera, V., & Airoidi, L. (2012). Conservation challenges in urban seascapes: promoting the growth of threatened species on coastal infrastructures. 1457-1466.

- Roberts, M. (1967). Studies on marine algae of the British Isles. 3. The genus *Cystoseira*. 345-366 .
- S.Orfanidis, P.Panayotidis, & N.Stamatis. (2003). An insight to the ecological evaluation index (EEI). 27-33.
- Sauvageau. (1912). A propos des *Cystoseira* de Banyuls et Guéthary. Bulletin de la Station biologique d'Arcachon . 133-556.
- Savonitto, G.; De La Fuente, G.; Tordoni, E.; Ciriaco, S.; Srijemsi, M.; Bacaro, G.; Chiantore, M.; Falace, A. Addressing reproductive stochasticity and grazing impacts in the restoration of a canopy-forming brown alga by implementing mitigation solution.
- Sfriso, A. (2011). *Ochrophyta (Phaeophyceae e Xanthophyceae). Ambienti di transizione italiani e litorali adiacenti.*
- Strain, E. M., Belzen, J. v., Dalen, J. v., Bouma, T. J., & Airoidi, L. (2015). Management of Local Stressors Can Improve the Resilience of Marine Canopy Algae to Global Stressors.
- Thibaut, T., Blanfune, A., Boudouresque, C.-F., & Verlaque, M. (2015). Decline and local extinction of Fucales in French Riviera: the harbinger of future extinctions?
- UNEP. (2009). Report of the 16th ordinary meeting of the contracting parties of the convention for the protection of the. 1-132.
- Valiante, R. (1883). Le *cystoseirae* del Golfo di Napoli. Fauna und flora des Golfes von .

Verdura, J., Sales, M., Ballesteros, E., Cefalì, M. E., & Cebrian, E. (2018). Restoration of a Canopy-Forming Based on Recruitment Enhancement: Methods and Long-Term Success Assessment.

Verlaque, M., Boudouresque, C.-F., & Perret-Boudouresque, M. (2019). Mediterranean seaweeds listed as threatened under the Barcelona Convention: A critical analysis.

36.

8. RINGRAZIAMENTI

Un grazie speciale alla mia relatrice e ai miei correlatori di tesi per essere stati così disponibili e pazienti durante l'intero anno di percorso insieme.

Grazie a te Silvia per tutto il tempo che mi hai dedicato e per aver scatenato in me una vera passione per le nostre piccole Gongolarie, rendendo questo lavoro di tesi un piacere e perfino un divertimento.

Grazie al Prof. Rindi dal quale durante quest'anno ho imparato davvero moltissimo e soprattutto grazie per l'accuratezza con la quale si è dedicato ai miei risultati.

Un enorme grazie a Francesco che ha reso la mia tesi un'esplosione di dati. Grazie per avermi aiutato nei monitoraggi, per esser morto di freddo durante i campionamenti invernali, per aver scattato foto eccezionali delle nostre piccole reclute e soprattutto GRAZIE per avuto la santissima pazienza di insegnarmi ad utilizzare excel e di gestire la mia pessima abitudine di inserire dieci spazi tra le frasi! Sei stato un correlatore fantastico!

Grazie a Francesca che hai iniziato con me il progetto di tesi AFRIMED. Ti ringrazio per tutti i bei momenti che abbiamo passato a monitorare le nostre piccole Gongolarie. Ma soprattutto ti ringrazio per tutti gli appunti, tutte le

informazioni e tutti i consigli che mi hai sempre dato prima di un esame!

Senza il tuo aiuto non ce l'avrei mai fatta...GRAZIE!

E poi a te Francy che hai seguito la staffetta dei miei esami prima della laurea! Grazie per aver ripetuto con me ogni singolo esame, per avermi ascoltata anche per ore e per avermi sempre incoraggiata! Sei stata la mia salvezza ogni volta e mi hai permesso di raggiungere questo traguardo con grandi risultati che da sola difficilmente sarei riuscita ad ottenere! Davvero grazie con tutto il cuore!

Un immenso grazie va alla mia seconda famiglia. A Lolita, Marco e Corinna per avermi fatto sentire a casa dal primo giorno che si siamo incontrati.

A te Loli per avermi sempre accolta con un sorriso, grazie per i tuoi inviti a cena che nei momenti di stanchezza mi hanno ricaricata e distratta dagli esami.

A Marco per la grande simpatia che hai ogni volta che ci vediamo e per le chiacchierate sul mondo marino.

E grazie a te Cori per essermi venuta incontro tantissime volte, che fosse per lo studio o per il lavoro! Grazie per avermi accolta come una sorella e per aver condiviso insieme l'emozione di ogni singolo esame.

Grazie al mio grande amore Mattia, per essere stato la mia motivazione!

Grazie per avermi sopportato durante quest'ultimo anno così inteso di studio, per il tuo sostegno, il tuo aiuto e la tua pazienza ogni giorno prima di un esame. Questo traguardo lo devo a te e a tutti i sacrifici che abbiamo fatto insieme! E poi...un grazie a Thomas e alle nostre serate al Baffo che ci hanno permesso di approfondire l'anatomia dei pesci dell'Adriatico! Senza, non saremmo mai diventati dei veri BIOLOGICI MARINI 🐟

E poi c'è Orietta, la mia migliore amica. Anche se fisicamente lontana sei sempre stata presente e mi hai dato la forza di affrontare qualsiasi situazione. Sei stata un esempio da seguire!

Grazie a Lalli per essere l'amica perfetta che ognuno di noi vorrebbe! Per esserci stata nei momenti belli ma anche in quelli difficili, per avermi sempre ospitata, per avermi portato il pranzo in qualsiasi situazione perché sapevi che io non avrei avuto il tempo di prepararlo e infine grazie per l'infinita pazienza che hai nell'aspettare che mi prenda un pomeriggio libero dallo studio per vederci! Sei fantastica.

Infine, il ringraziamento più grande lo dedico alla mia famiglia, a Mamma e Papà che mi hanno sempre sostenuto in ogni situazione e in ogni decisione.

Grazie per essere i migliori genitori che un figlio possa desiderare, per aver condiviso i miei sogni e per avermi accompagnata in ogni traguardo. Grazie per il grande sostegno che mi avete dato quest'ultimo anno e per essere sempre presenti anche se fisicamente lontani. Vi voglio bene.

Ein letztes dankeschön geht an dich Omi, ohne deine finanzielle Unterstützung wäre der Weg viel anstrengender gewesen. Danke, dass du an mich geglaubt hast und gemeinsam mit mir das Ziel erreicht hast!