



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Relazione tecnica finale

Intervento di “Re-introduzione dell’ostrica piatta *Ostrea edulis* nella Sacca di Goro e strutture offshore”. PO-FEAMP 2014/2020 – Misura 2.47 - CUP E66B19000610007

L’intervento iniziato nel gennaio 2020 può ritenersi concluso il 31/12/2021, di seguito la descrizione delle singole operazioni previste e l’esplicitazione dei risultati conseguiti.

Operazione 2.A.1 – Riproduzione e preingrasso in avanotteria esistente

La riproduzione controllata di *O. edulis* in avanotteria (schiuditoio) rimane poco praticata a causa del particolare tipo di riproduzione e della scarsa richiesta di seme di ostrica piatta, a differenza di quello di ostrica concava (*Crassostrea gigas*), che risulta prodotto dominante.

L’ostrica piatta infatti, dopo un periodo di incubazione all’interno del mantello, emette spontaneamente larve di dimensioni tali per cui possono essere raccolte su setacci con maglia di lato 85µm.

Il periodo di incubazione è variabile in base allo stato di salute dell’animale all’inizio della fase di maturazione ed alla temperatura di mantenimento dei parentali. Questo tipo di riproduzione rende perciò scarsamente programmabile la produzione, se non sacrificando esemplari adulti per il recupero delle larve, pratica non eseguita presso lo schiuditoio di Naturedulis per motivazioni etiche.

Ai fini del progetto e per rispettare quanto più la condizione di autoctonia dei riproduttori, esemplari adulti sono stati prelevati dai banchi naturali presenti a Pescara (gennaio 2020 – 20 esemplari) e al largo di Ravenna (luglio 2020 – 25 esemplari), trovati negativi ai patogeni ricercati dall’IZSVE, sono stati mantenuti nelle vasche dello schiuditoio a temperature consone per la riproduzione (18°C – 23°C) dal loro arrivo fino al mese di ottobre 2020 e da gennaio 2021 fino a ottobre 2021. In questo modo, è stato garantito un periodo di riposo, seppur breve, nei mesi invernali, in cui le temperature nelle vasche di mantenimento erano di 10-12°C.

Una parte di organismi adulti e giovanili è comunque stata mantenuta in stato metabolico attivo a temperature di 18-20°C, al fine di ottimizzare il flusso di nutrimento e la corretta densità di stoccaggio per le successive stagioni riproduttive.

Parallelamente al piano di monitoraggio quotidiano dei parametri fisico-chimici delle acque di processo, i riproduttori sono stati nutriti con una formulazione di microalghe vive completa dal punto di vista nutrizionale, ossia con misture di diatomee e flagellati, nella misura del 4% giornaliero del peso secco stimato delle carni degli organismi riproduttori.

Nella tabella seguente viene riassunta la frequenza delle emissioni di larve ottenute.

Tabella 1 Produzione di larve di *O.edulis*

Data	Provenienza Riproduttori	Larve Emesse (Milioni)	Larve alla metamorfosi (Milioni)	Durata fase pelagica (giorni)	Note di allevamento
18/02/2020	Pescara	1,2	0,4	16	T=22°C - Sal=27 – 100,000 cell algae/ml
21/02/2020	Pescara	1,1	0,4	18	T=22°C - Sal=27 – 100,000 cell algae/ml



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

25/02/2020	Pescara	3,2	0,8	20	T=20°C - Sal=27 – 100,000 cell algae/ml
26/02/2020	Pescara	1,6	0,1	16	T=22°C - Sal=27 – 75,000 cell algae/ml – Flow-through
02/03/2020	Pescara	2	0,1	16	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml – Flow-through
03/03/2020	Pescara	2	0,4	16	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
04/03/2020	Pescara	2,3	0,2	16	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
19/03/2020	Pescara	3,7	0,3	15	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
20/03/2020	Pescara	1,9	0,1	16	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
28/03/2020	Pescara	2,7	0,2	17	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
19/06/2020	Pescara	4,8	0,4	15	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
06/08/2020	Ravenna	3,7	0,2	15	T=24°C - Sal=25 – 100,000 cell algae/ml
07/08/2020	Ravenna	4,1	0,3	15	T=24°C - Sal=25 – 100,000 cell algae/ml
10/02/2021	Pescara + Ravenna	0,8	0,1	18	T=21°C - Sal=25 – 50,000 cell algae/ml
16/02/2021	Pescara + Ravenna	1,6	0,4	20	T=21°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
24/03/2021	Pescara + Ravenna	4,9	0,8	15	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
31/03/2021	Pescara + Ravenna	2,3	0,3	16	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
02/04/2021	Pescara + Ravenna	1,2	0,3	16	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
19/04/2021	Pescara + Ravenna	0,7	0,1	15	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
26/04/2021	Pescara + Ravenna	1,8	0,4	16	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
03/05/2021	Pescara + Ravenna	1,1	0,4	15	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
31/05/2021	Pescara + Ravenna	2,7	0,6	15	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
01/06/2021	Pescara + Ravenna	3,1	0,8	14	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
18/06/2021	Pescara + Ravenna	2,8	0,2	15	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

24/06/2021	Pescara + Ravenna	1,2	0,2	15	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
28/06/2021	Pescara + Ravenna	1,8	0,4	16	T=23°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
14/07/2021	Pescara + Ravenna	1,0	0,2	15	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
31/07/2021	Pescara + Ravenna	2,1	0,6	15	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
09/08/2021	Pescara + Ravenna	2,0	0,5	16	T=24°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
13/08/2021	Pescara + Ravenna	1,6	0,3	16	T=24°C - Sal=25 – 50,000 cell algae/ml
13/09/2021	Pescara + Ravenna	0,8	0,3	17	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml
11/10/2021	Pescara + Ravenna	1,0	0,2	18	T=22°C - Sal=25 – 75,000 cell algae/ml

Le larve così generate, sono state raccolte in appositi setacci posti a valle delle vasche di mantenimento dei riproduttori. Le larve tipicamente vengono rilasciate nelle ore tardo-pomeridiane.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)



Figura 1 Setacci per la raccolta delle larve

Dopo un breve lavaggio con acqua marina filtrata, le larve venivano trasferite in vasche da 500L a forma di tronco di cono per la fase pelagica e mantenute a densità massime di 5 veliger/ml con i parametri riassunti in Tab. 1 (Note di allevamento).

In seguito ad alcuni tentativi di mantenimento delle larve in flow-through, ossia con un ricircolo di acqua continuo pari a 50L/h, dimostratisi fallimentari dal punto di vista della sopravvivenza, i veliger sono stati mantenuti in batch, ossia senza ricircolo d'acqua, con movimentazione delle vasche garantita da aerazione e cambi d'acqua totali ogni due giorni.

Al termine della fase pelagica, le larve venivano trattenute su setacci con maglia di 250µm e veniva verificata la competenza alla metamorfosi, ricercando al microscopio l'evoluzione ontogenetica degli esemplari, ossia la formazione del piede e la pigmentazione delle macchie oculari (eye-spot). Lo stesso comportamento delle larve, ossia la tendenza ad aggregarsi tra loro o lo stazionare attorno alle superfici delle vasche, risultava indicativo della competenza alla metamorfosi.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

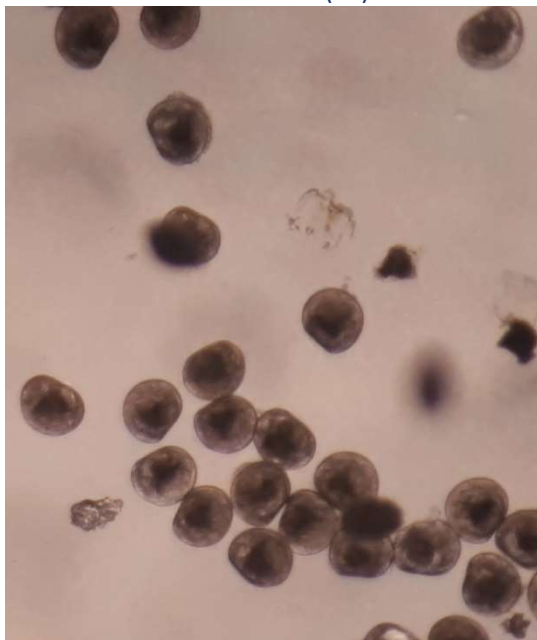


Figura 2 Pediveliger di ostrica piatta

A questo punto, le larve sono state alloggiate in setacci di 70cm di diametro e rete di fondo con maglia 125 μ m; la movimentazione dell'acqua in questa fase è garantita con un sistema di air-lift, quindi con flusso discendente (down-welling).

Come tutti gli ostreidi, anche le larve di *O. edulis* si insediano su un substrato duro, preferendo materiali carbonatici, secernendo il cemento che le manterrà adese alla superficie prescelta per il resto della loro vita. Per i primi lotti di larve prodotti, sono stati testati vari substrati, sempre a base di conchiglie di molluschi tritati più o meno grossolanamente. Per limitare il numero di larve fissate alla superficie in PVC dei setacci utilizzati, è stato steso un velo di cera d'api.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)



Figura 3 Ostriche a metamorfosi completata

Sia per rispondere alle esigenze di mercato, che per rendere più facile la lavorazione nella fase di post-metamorfosi, il substrato considerato ottimale ha una granulometria compresa tra 175 e 250 μ m. Questa dimensione permette la fissazione di una singola ostrica su un singolo granello di sabbia (single-oyster seed).

Viste le grandi trasformazioni morfologiche che avvengono in questa fase, la metamorfosi è considerata la fase più critica per la sopravvivenza larvale dalla letteratura del settore, ed effettivamente questa nozione è stata confermata anche durante questo progetto, arrivando a picchi di mortalità del 50%.



r_emiro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)



Figura 4 Vasca e setacci per la metamorfosi

A metamorfosi avvenuta, il seme trascorreva almeno 7 giorni all'interno dello schiuditoio.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Operazione 2.C.2 – Messa a punto di una strategia innovativa di preingrasso dell’ostrica piatta presso la medesima avanotteria

A metamorfosi avvenuta, si può parlare di fase di pre-ingrasso. Relativamente a questo progetto, si può parlare di un pre-ingrasso avvenuto nella struttura a terra, seguito dal pre-ingrasso delle ostriche in offshore o in Sacca di Goro.

La fase di pre-ingrasso in impianto a terra, è scandito dai passaggi delle ostriche tra i differenti tipi di vasche testati presso lo schiuditoio di Naturedulis.

In una fase precoce, ovvero con ostriche di 250-300µm come dimensione di partenza, è stato paragonato l’accrescimento su setaccio con flusso discendente con l’accrescimento in “bottiglia di Zug”, ossia con flusso ascendente.

Con il corretto apporto di microalghe vive, entrambi i sistemi si sono rivelati efficaci nel mantenimento di seme fino alla taglia di 2mm, con ritmi di crescita giornalieri medi, misurati come Daily Growth Rate, di +2,03% per le ostriche in down-welling e di +2,41% per le ostriche in bottiglia di Zug.

Il vantaggio nell’accrescimento in bottiglia di Zug ricade, oltre che su un risparmio di superfici, anche su un modellamento della conchiglia dell’ostrica già in questa fase precoce di vita.



Figura 5 Dettaglio di ostriche in crescita in bottiglie di Zug

Al raggiungimento della larghezza della conchiglia di 2,8mm, le necessità alimentari delle ostriche, sommate all’aumento del volume occupato dalle stesse, rendono sempre meno conveniente il mantenimento all’interno dello schiuditoio con microalghe coltivate, per cui il seme veniva trasferito nel sistema di vasche all’aperto dell’impianto di Naturedulis.

All’interno delle vasche all’aperto, il flusso è gestito in up-welling; tale circuito è aperto, quindi vi è una circolazione continua dell’acqua di laguna non trattata.

In questa fase, oltre ad una rilevazione continua dei parametri fisico-chimici delle acque, soprattutto per quanto riguarda la concentrazione di ossigeno disciolto durante i mesi estivi, è necessario il lavaggio quotidiano degli esemplari e delle vasche, in quanto l’acqua di processo è particolarmente fangosa e ricca di epibionti.

Il seme viene vagliato settimanalmente, sia perché il passaggio tra le maglie del setaccio metallico modella la forma dell’ostrica, rendendola più regolare, sia per monitorarne l’accrescimento medio giornaliero in funzione delle variabilissime condizioni fisico-chimiche dell’acqua della Sacca di Goro.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Operazione 2.A.4 – Valutazione fisiologica e tassi di crescita

I seguenti risultati sono relativi all'azione 6, operazione 2.A.4, del progetto "Re-introduzione dell'ostrica piatta *Ostrea edulis* nella Sacca di Goro e strutture off-shore".

Il fine di questa operazione è quello di valutare la reintroduzione in base ai risultati ottenuti dal monitoraggio dei parametri di crescita degli esemplari di *O. edulis* in fase di pre-ingrasso, e rispetto a diversi parametri fisiologici, tra cui: tassi di Clearance, ingestione, assorbimento e respirazione, allo scopo di definire il budget energetico Scope For Growth (SFG).

Monitoraggio dei parametri ambientali

I parametri ambientali monitorati per valutare la reintroduzione di *O. edulis* sono stati temperatura, salinità e concentrazione di clorofilla.

In un ambiente semichiuso e dalla ridotta profondità, come quello della Sacca di Goro, le fluttuazioni di questi valori (in particolare temperatura e salinità) risultano più accentuate rispetto ad un ambiente di mare aperto, ma seguono comunque una ciclicità stagionale.

Nel biennio 2020-2021 la temperatura è stata monitorata giornalmente, individuando un valore minimo di 5,3 °C, nel mese di febbraio 2021, e un massimo di 31,4 °C nel luglio 2020 (Figura 1).

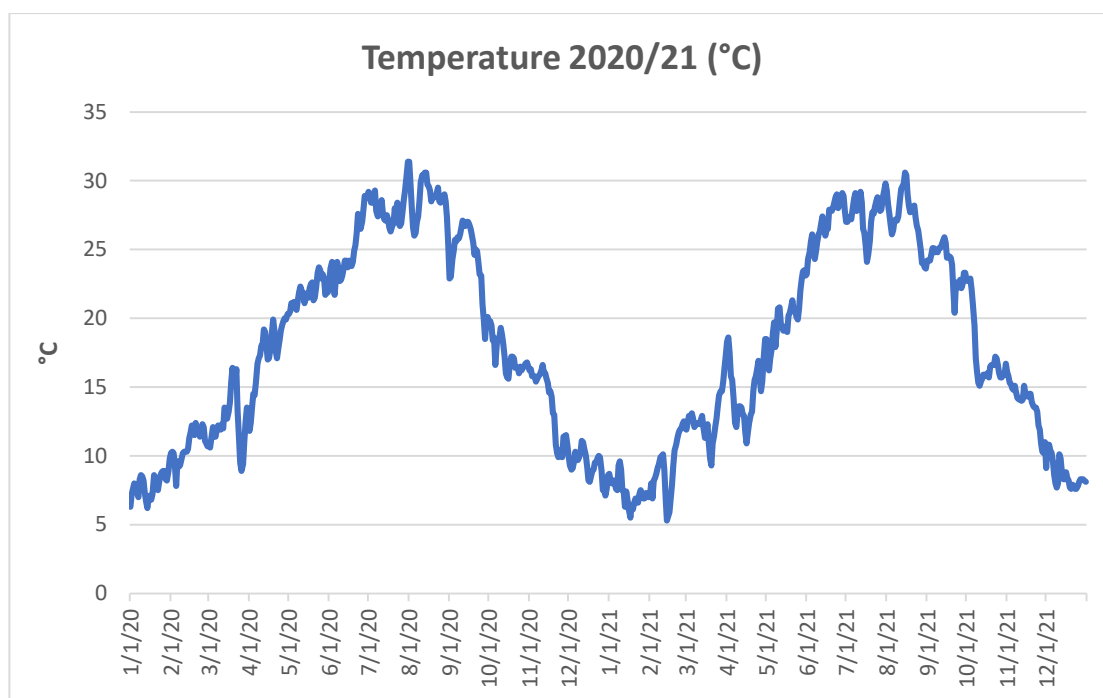


Fig.1: Grafico delle temperature relative al biennio 2020-2021.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Secondo diversi studi (i.e. Buxton & Newell, 1981)¹ che hanno monitorato la crescita di *O. edulis* al variare di alcuni parametri ambientali, tra cui quelli di nostro interesse, esiste un intervallo di valori in cui l'animale mostra una crescita maggiore.

Nel caso di Buxton & Newell, per quanto riguarda la temperatura, questo range è stato registrato tra i 15 e i 20 °C.

I risultati ottenuti dalle nostre analisi mostrano che proprio in corrispondenza di queste temperature, nel periodo di aprile-maggio (4 mesi circa dall'inizio della prima fase di "pre-ingrasso"), il peso dei molluschi registra un incremento considerevole. Nel periodo successivo, inoltre, il valore sembra aumentare quasi del doppio con tendenza mensile, fino a raggiungere una media di circa 15 grammi intorno al nono-decimo mese dalla prima fase di pre-ingrasso (Figura 2).

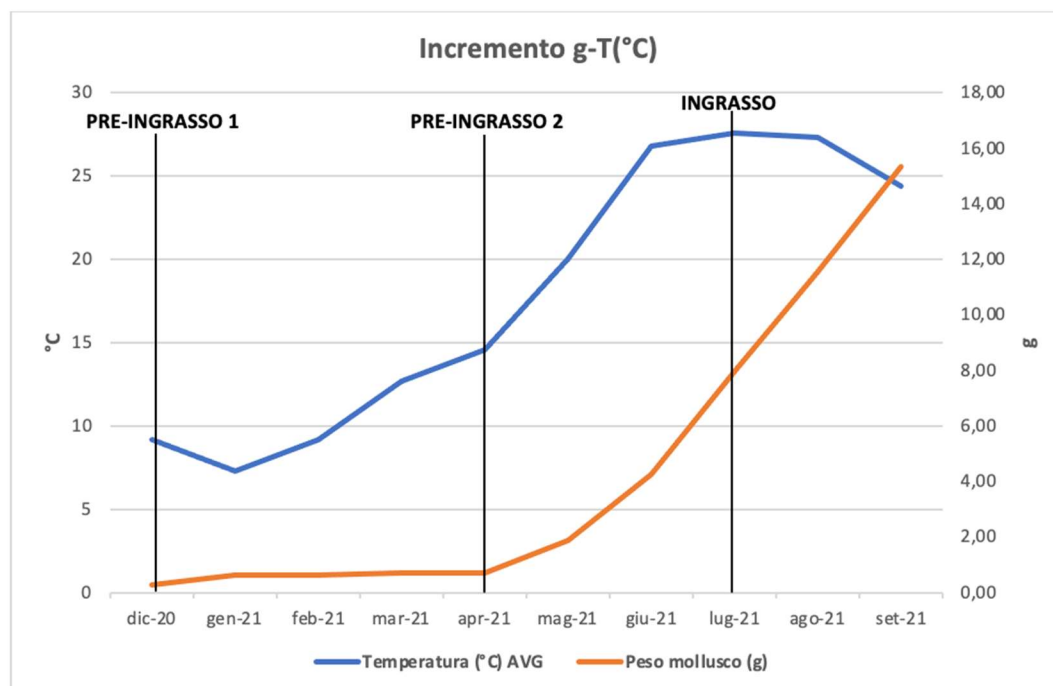


Fig.2: il grafico mostra l'aumento di peso dei molluschi, mese per mese, in relazione alla variazione di temperatura avvenuta all'interno della sacca di Goro, nello stesso arco di tempo.

Anche i valori di salinità sono stati riportati periodicamente, anche se con una frequenza minore. La vicinanza al delta del Po fa in modo che tutto l'ambiente della sacca sia caratterizzato da una salinità minore rispetto a quella del bacino Adriatico.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Il picco minimo di salinità si è verificato nell'agosto 2021 con un valore mensile medio di 18,6 ‰, mentre valore massimo di salinità è stato registrato nel gennaio dello stesso anno ed è pari a 29,6 ‰ (Figura 3).

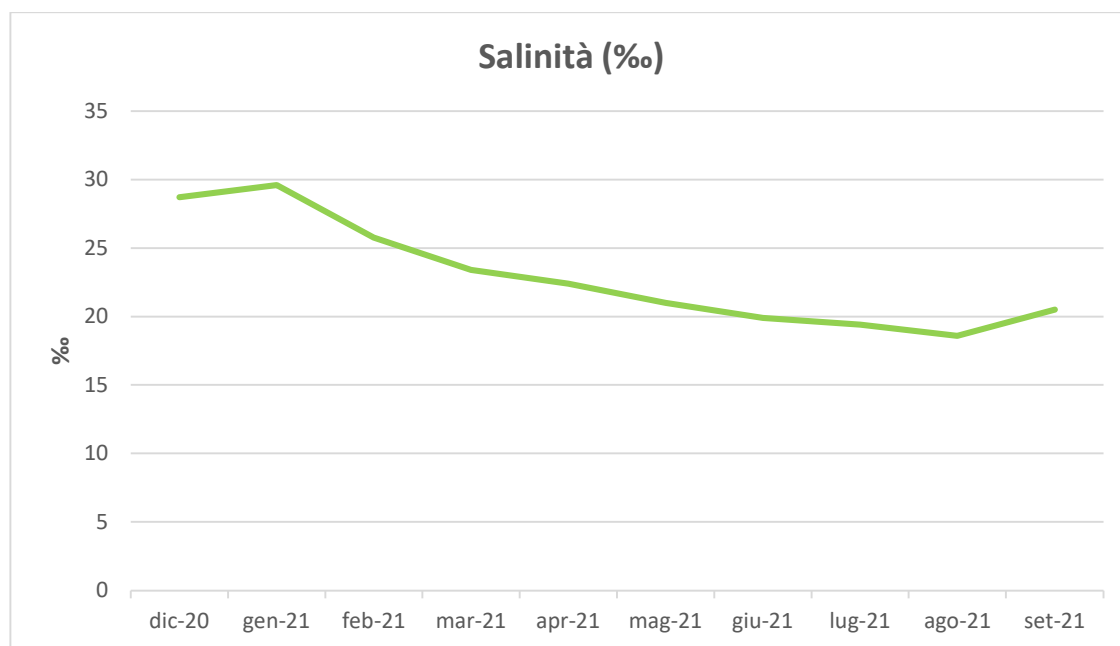


Fig.3: variazione di salinità all'interno della sacca di Goro durante i primi 9 mesi del 2021.

Per quanto riguarda la concentrazione di clorofilla *a*, è un diretto indicatore della quantità di biomassa algale presente nell'area monitorata, che a sua volta ne definisce il grado trofico. Un ambiente marino risulta eutrofizzato se la concentrazione di clorofilla *a* è superiore ai 10 mg/L.

I valori relativi alla sacca di Goro risultano di diversi ordini di grandezza inferiori a questa soglia. La media mensile massima misurata nell'arco del 2021 risulta infatti essere 8,5 µg/L (Figura 4).



r_emiro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

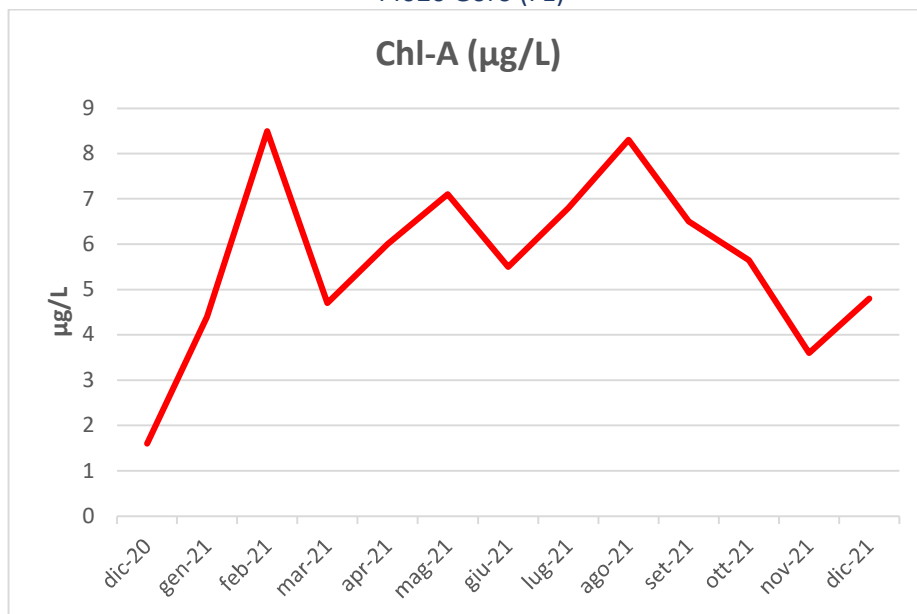


Fig.4: variazione dei livelli di chl a all'interno della sacca di Goro nel 2021 (i dati raccolti dal personale di ricerca sono stati integrati con quelli del sito arpae)².

2: <https://www.arpae.it/it/temi-ambientali/mare>



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Monitoraggio dei parametri fisiologici

Per valutare le capacità di assimilazione dell'ostrica, e di conseguenza la sua crescita, sono stati analizzati dal personale dell'Università degli Studi di Ferrara diversi parametri fisiologici, utilizzati successivamente per definire il budget energetico dell'animale (Scope For Growth). Le variabili prese in considerazione per il calcolo di questo valore sono state: tasso di clearance, tasso di respirazione, tasso di ingestione e tasso di assorbimento.

Le analisi condotte hanno mostrato risultati incoraggianti per quanto riguarda la possibilità di allevamento in sacca di Goro.

Il calcolo finale dello Scope for Growth, eseguito utilizzando gli altri parametri fisiologici, ha infatti fornito solo risultati positivi, suggerendo che il budget energetico di ogni animale sia favorevole alla crescita in questo particolare ambiente (Tabella 1), nonostante le marcate oscillazioni delle caratteristiche ambientali mostrate precedentemente.

Inoltre, risultati simili sono osservabili su uno studio condotto da Hutchinson & Hawkins, nel 1992³, riguardante proprio la risposta delle medesime variabili fisiologiche alle variazioni di temperatura e salinità. l'unico parametro che sembra influire negativamente sul bilancio energetico di *O. edulis*, e dei bivalvi in generale, sembra essere la concentrazione di particolato organico (POM) (Figura 5). Un valore troppo elevato tende a inibire il tasso di filtrazione (clearance) e di conseguenza un calo drastico nei valori di Scope for Growth.

3: Hutchinson, S., & Hawkins, L. E. (1992). Quantification of the physiological responses of the European flat oyster *Ostrea edulis* L. to temperature and salinity. *Journal of Molluscan Studies*, 58(2), 215-226.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

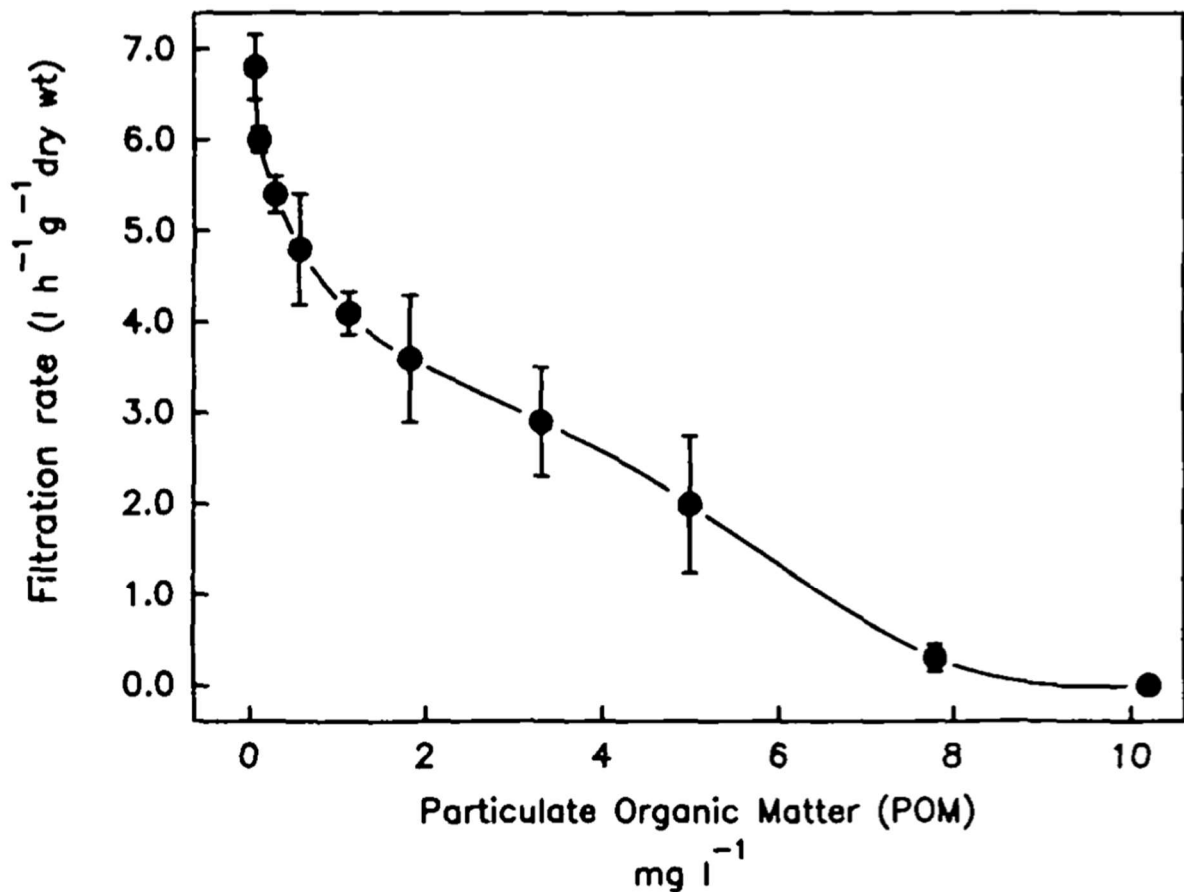


Fig.5: relazione tra concentrazione di POM (Particulate Organic Matter) e tasso di filtrazione (clearance) di *O. edulis*, calcolata da Hutchinson & Hawkins (1992).

Analogamente alla POM, un'eccessiva concentrazione di biomassa algale, e quindi chl a, provoca nei bivalvi la formazione di pseudofeci da parte dell'animale e un conseguente calo nel tasso di clearance (Widdows & Staff, 2006)⁴.

Anche da questo punto di vista, considerando i livelli di chl a che la caratterizzano, la sacca di Goro rappresenta un ambiente ideale per l'allevamento della specie *O. edulis*.

4: Widdows, J., & Staff, F. (2006). Biological effects of contaminants: measurement of scope for growth in mussels.



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

	Peso (g)	Tasso di clearance (L/h/gDW)	Tasso di respirazione (J/h/gDW)	Tasso di ingestione (J/h/gDW)	Tasso di assorbimento (J/h/gDW)	Scope For Growth (J/h/gDW)
Ex1	1,25	1,80	5,74	434,58	79,73	74,00
Ex2	0,98	1,62	29,70	357,45	179,62	149,92
Ex3	1,80	0,88	19,22	154,42	58,20	38,98
Ex4	1,28	1,91	8,24	420,71	42,45	34,21
Ex5	1,58	0,74	13,35	163,50	88,70	75,35
Ex6	1,31	0,67	17,07	132,41	78,26	61,20
Ex7	0,70	3,71	15,67	489,63	163,86	148,20
Ex8	1,16	0,37	5,08	32,97	8,27	3,18
Ex9	1,08	1,04	2,35	205,33	178,16	175,81
Ex10	0,54	1,84	3,12	364,56	40,83	37,71
Ex11	1,34	1,22	0,94	268,61	134,98	134,03
Ex12	0,60	1,52	7,73	233,98	100,68	92,95
Ex13	0,51	1,26	16,65	305,27	189,51	172,86
Ex14	1,17	1,23	10,81	297,44	203,51	192,70
Media	1,09	1,42	11,12	275,77	110,48	99,36

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com - PEC: naturedulis@lamiaptec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Operazione 1.A.1 – Adozione di sistemi di movimentazione verticale di contenitori di ostriche mediante azione della marea



Figura 6 Contenitori cilindrici in bassa marea



Figura 7 Contenitori Hexcyl con galleggiante

Gli esemplari giovanili di ostrica piatta nati presso lo schiuditoio sono stati posizionati nei contenitori flottanti precedentemente assemblati e posti a dimora nelle aree messe a disposizione dai soci del Consorzio Filiera Gorino a partire dal mese di ottobre 2020.

Sono stati paragonati due tipi di contenitori:

- Il primo di forma cilindrica, progettato dai tecnici di Naturedulis, basa la sua azione sulla rotazione attorno ad una corda in base alla fase di marea, tale per cui, senza l'intervento dell'operatore, durante la bassa marea le ostriche alloggiate all'interno rimangono esposte all'aria, mentre durante l'alta marea vengono sommerse. Questo sistema si presta all'utilizzo in impianti composti da pali di ancoraggio e funi.
- Il secondo a profilo esagonale, brevettato dall'azienda neozelandese Hexcyl è multifunzionale, cioè può essere dotato di apposito galleggiante per avere lo stesso effetto del primo tipo di contenitori, oppure dotato di apposito sistema di aggancio può essere mantenute totalmente immerso. Questo tipo di contenitore si presta sia ad essere utilizzato in sistema a long-line con corpi morti di ancoraggio, sia in impianti composti da pali di ancoraggio e funi.

A parità di densità di animali e di tempo di immersione, non sussistono differenze nella crescita delle ostriche cresciute nell'utilizzo delle due tipologie di contenitore, tuttavia il sistema Hexcyl risulta più versatile negli utilizzi e di semplice e più rapida costruzione, oltre ad essere composto di materiali robusti. Il principale vantaggio invece nell'utilizzo dei contenitori a forma cilindrica è la possibilità di stoccaggio di maggiori quantità di ostriche, viste le più grandi dimensioni.

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com – PEC: naturedulis@lamiaptec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



r_emi.ro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)



Figura 8 Seme di *O.edulis* in Hexcyl



Figura 9 Primo prodotto finito: Novembre-Dicembre 2021

Operazione 2.C.1 – Ingrassio di *O.edulis* in strutture off-shore

A seguito di adattamento tecnico, le ceste contenenti le ostriche sono state posizionate presso il long-line normalmente adibito a mitilicoltura in concessione al Sig. Boscolo Giuseppe.

In data 25 marzo 2021 è iniziato il monitoraggio dei parametri ambientali e le misurazioni morfo-gravimetriche presso tali strutture, in modo da valutare soprattutto la profondità a cui posizionare i contenitori per ottimizzare la resa produttiva.

Le manutenzioni, quali la pulizia delle lanterne, sono state effettuate ogni dieci giorni, mentre i campionamenti per i rilievi morfo-gravimetrici hanno rispettato la cadenza mensile, dimostrando una tendenza di crescita leggermente maggiore rispetto alle ostriche allevate all'interno della Sacca di Goro.

Tuttavia, alla fine del mese di luglio 2021 si è verificato un episodio di mortalità anomala e totale su tutte le lanterne presenti in impianto. Non è stato possibile effettuare indagini istologiche approfondite per determinare la causa della mortalità, in quanto all'evidenza dell'episodio, le carni degli animali risultavano già decomposte.

Questo episodio ha di fatto vanificato questo intervento e non è stato possibile rimpiazzare all'istante i lotti perduti.

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com - PEC: naturedulis@lamiaptec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)



Figura 10 Lanterne utilizzate per la prova di allevamento offshore

Operazione 2.A.5 – Analisi parassitologiche

Patologia animale

Per verificare lo stato di salute delle ostriche allevate, sono state inoltre eseguite analisi istologiche e citologiche per la ricerca di patologie sostenute da protozoi, quali la Bonamiosi sostenuta da *Bonamia ostreae* e la Marteiliiosi sostenuta da *Marteilia refringens*, ambedue inserite nell'attuale normativa nazionale come malattie notificabili (D.Lsg 148/08). A partire da giugno 2020 fino a dicembre 2021, sono stati effettuati un totale di 7 campionamenti di 30 esemplari ciascuno, i quali sono stati processati secondo protocollo IZSve per l'analisi citologica e istologica. Nessuno dei 210 esemplari analizzati ha evidenziato la presenza dei parassiti in esame. Infine, l'analisi istologica ha permesso di escludere anche la presenza di patogeni emergenti (i.e. *Haplosporidium* spp. e *Mikrocytos* spp.) e di verificare la corretta maturazione e conservazione di tessuti/organi degli animali.

Sicurezza alimentare

Al termine del progetto, quindi su esemplari adulti e pronti al consumo, sono state eseguite presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie analisi per verificare l'eventuale presenza di patogeni (virus enterici e batteri fecali). In particolare tra i virus è stato ricercato il Norovirus, nei suoi genotipi GI e GII, responsabile di episodi di infezione nell'uomo in Europa. La tecnica diagnostica biomolecolare utilizzata è la recente qPCR, secondo il metodo UNI EN ISO 15216-1:2017, che è risultata negativa per entrambi i genotipi. È stata inoltre riscontrata l'assenza del virus dell'Epatite A, anch'esso ricercato tramite analisi molecolare eseguita su pool di epatopancreas.

Per quanto riguarda la presenza di patogeni fecali, la ricerca di *Salmonella* spp. (ISO 6579-1:2017) ha dato esito negativo mentre è stata riscontrata la presenza di 45MPN/100g di Coli β -glucuronidasi positivi (UNI EN ISO 16649-3:2015). Infine, è stata eseguita analisi microbiologica per la ricerca di *Vibrio parahaemolyticus*



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

potenzialmente patogeno, *Vibrio cholerae* e *Vibrio vulnificus* secondo ISO 21872-1:2017, anche questa con esito negativo.

Operazione 2.A.3 – Caratterizzazione nutrizionale

La determinazione delle componenti alimentari in un campione di ostrica piatta si è stata effettuata mediante la procedura sinteticamente di seguito riportata:

Preparazione del campione:

Circa 1 kg di campione è stato privato della parte non edibile ottenendo in media 33,36 g. La parte edibile ricavata è stata omogeneizzata. Il campione è stato successivamente liofilizzato e infine ridotto in polvere con l'ausilio di un mortaio. Le pesate effettuate prima e dopo la liofilizzazione hanno permesso di determinare la percentuale di acqua presente nel campione.

Determinazione contenuto proteico totale

La determinazione del contenuto proteico è basata sul titolo di azoto presente nel campione, quest'ultima è stata ottenuta applicando metodo kjeldahl ad un'aliquota del campione liofilizzato. (<https://www.velp.com/it-it/metodo-kjeldahl-1.aspx>).

Determinazione delle ceneri

Le ceneri sono state determinate in base al valore percentuale di residuo di una aliquota nota di campione sottoposto a trattamento termico.

Determinazione della sostanza grassa

Il contenuto in lipidi viene ottenuto in base alla percentuale di sostanza estraibile in solvente organico di una quantità nota di campione. Il profilo lipidico è stato ottenuto mediante GC/MS.

Risultati

In *tabella 1* sono riportati i risultati nutrizionali ottenuti riferiti all'alimento fresco edibile, i valori medi percentuali e scarto tipo (deviazione standard) sono stati ottenuti sulla base dei risultati di tre replicati.

Tabella 1: INFORMAZIONI NUTRIZIONALI	
	Valore percentuale $\pm$ scarto tipo
% Acqua	81,23% $\pm$ 0,09
% Proteine	7,99% $\pm$ 0,01
% Carboidrati	7,6541% $\pm$ 0,0005
% Ceneri	2,009% $\pm$ 0,008
% Lipidi	1,113% $\pm$ 0,008

In *tabella 2* sono riportati i valori medi per 100 g di prodotto rispetto ai valori di riferimento da dati di letteratura [1]

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com – PEC: naturedulis@lamiappec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Tabella 2: confronto tra i dati ottenuti e valori di riferimento

	Valori medi di riferimento (g)	**OSSERVATO (g)
Acqua	85,7	81, 23
Proteine	10, 2	7,99
Carboidrati	5,4	7,65
Ceneri	1,23	2,01
Lipidi	0,9	1,11

Come si può osservare i dati risultano abbastanza allineati anche se significativamente diversi. Occorre tuttavia considerare che la composizione delle ostriche presenta variazioni in funzione della stagionalità, dello stato di crescita oltre che dalla tipologia di alimentazione [2]. Le ostriche contengono pochi lipidi, e una buona quantità di proteine ad alto valore biologico; l'apporto energetico è ridotto rendendole quindi un alimento con ottime caratteristiche nutrizionali. Inoltre, pur essendo presenti grassi saturi si è riscontrata in esse anche la presenza di acidi grassi insaturi che a differenza dei primi esercitano un'azione benefica sulla salute.

Bibliografia

[1] <https://www.alimentinutrizione.it/tabelle-nutrizionali/127130>

[2] B. Pogoda, B.H. Buck, R. Saborowski, W. Hagen, Biochemical and elemental composition of the offshore-cultivated oysters *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*, *Aquaculture*, Volumes 400–401, 2013, Pages 53-60,

Attività di pubblicizzazione del progetto

In data 30/06/2020 sono state acquistate no. 2 targhe su Forex formato A3. Una targa è stata affissa all'ingresso esterno della struttura di Naturedulis srl e l'altra in locale interno, in ottemperanza all'art.115, comma 3 del Reg. UE n.1303/2013 e del Reg. UE n.821/2014.

A causa della evidenziata lentezza nella crescita di *O. edulis* rispetto alla *C. gigas*, che non ha permesso di ottenere dati ripetibili e solidi per una rigorosa esposizione scientifica e a causa del protrarsi dello stato emergenziale dovuto alla pandemia da Covid-19, non è stato possibile organizzare l'evento pubblico previsto dal progetto.

Il progetto è stato comunque pubblicizzato sui siti internet e di Naturedulis s.r.l. e dell'Università degli Studi di Ferrara. Di seguito i links:

<https://sites.google.com/naturedulis.com/naturedulisbio/introduzione-dellostrica-piatta-ostrea-edulis?authuser=0>

<http://scf.unife.it/it/ricerca-e-terza-missione/ricerca/ricerca/ecologia/po-feamp-2014-2020-misura-247>

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com - PEC: naturedulis@lamiapec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



r_emi.ro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Risultati

In termini di conformità a quanto esposto in fase di presentazione della domanda, i risultati possono essere schematizzati come segue.

Risultati attesi	Risultati ottenuti
Recupero e valorizzazione della specie autoctona <i>Ostrea edulis</i>	Esemplari rinvenuti nel Mar Adriatico sono stati avviati con successo alla riproduzione, pur in condizioni differenti dal punto di vista chimico-fisico dall'ambiente di prelievo, dimostrando una certa adattabilità di <i>O. edulis</i> , fattore non trascurabile nell'ottica del recupero di una specie considerata difficile da allevare. Avendo completato la filiera produttiva e continuando a generare nuovi esemplari in schiuditoio, anche di seconda generazione in cattività, il recupero della specie può considerarsi avviato. Allevando poi le ostriche piatte nei contenitori flottanti, il prodotto assume caratteristiche idonee alla commercializzazione.
Allevamento offshore dell'ostrica piatta in ambiente naturale	In una fase precoce si è notato come l'ostrica piatta abbia ottenuto ottimi ritmi di crescita nei long-line normalmente adibiti a mitilicoltura. Purtroppo però la perdita totale del seme in pre-ingrasso nel mese di luglio 2021 per motivi sconosciuti, ha vanificato la prova di allevamento offshore.
Creazione di una filiera produttiva per l'ostrica piatta, dall'avanotteria alla vendita	È stata conseguita con successo la riproduzione in avanotteria (schiuditoio) e sono stati mantenuti con discreto successo lotti di <i>O. edulis</i> nella Sacca di Goro. I primi esemplari di taglia commerciale sono stati campionati nel mese di dicembre 2021 ai fini di valutare l'indice nutrizionale e lo stato sanitario del prodotto, che risulta idoneo. La filiera quindi può dirsi completa e ben si presterebbe ad essere qualificata secondo le normative esistenti.
Certificazione della salubrità e sostenibilità ambientale del prodotto	Le analisi istologiche condotte nel corso del periodo di sperimentazione escludono la presenza di parassiti nei lotti di animali dislocati presso la Sacca di Goro. Anche le analisi microbiologiche sul

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com - PEC: naturedulis@lamiapec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



r_emi.ro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

	prodotto finito risultano nei limiti della norma, seppur condotte su un singolo campione. La fattibilità dell'allevamento può quindi avviare, con progettazioni future, l'accreditamento a certificazioni ambientali o di prodotto.
Incremento produttivo delle risorse acquicolturali in Emilia-Romagna in maniera naturale e non impattante per l'ambiente	Le attività inerenti al progetto sono state realizzate nell'ottica di non depauperare i pochi banchi naturali ancora esistenti nel Mar Adriatico ed evidenziando come l'allevamento di questa specie possa generare un prodotto più accattivante rispetto al selvatico, soprattutto grazie alla forma che assume la conchiglia in seguito alla lavorazione continua ed al tipo di contenitori flottanti utilizzati. Gli stessi contenitori flottanti possono mimare l'azione delle maree, garantendo un benefico periodo di emersione alle ostriche, senza l'utilizzo di energia elettrica. I materiali utilizzati per l'ingrasso ed il pre-ingrasso nella Sacca di Goro, essendo progettati per resistere ai raggi UV e quindi per resistere maggiormente alla fotodegradazione, hanno dimostrato scarsi o nulli segni di usura nel periodo di utilizzo per il progetto.
Diversificazione delle produzioni uscendo dalla logica della monocultura offshore (mitilo) e della venericoltura	La riproduzione di <i>O. edulis</i> ha già permesso all'avanotteria di diversificare le specie allevate presso la struttura, generando già un certo numero di potenziali nuovi clienti. Il monitoraggio effettuato durante il periodo di crescita in laguna, non esclude la possibilità di incrementare la produzione dell'ostrica piatta e l'allevamento nella Sacca di Goro. Rimane da considerare comunque l'elevata mortalità che si verifica nell'allevamento di questa specie e, date le varie situazioni trofiche presenti in Sacca, occorrerebbe testarlo in zone quanto più diversificate, così da determinarne una veramente vocata al mantenimento di <i>O. edulis</i>. La relativa lentezza nella crescita (rispetto per esempio all'ostrica concava) e la necessità di ottenere molluschi più grandi, ovvero più pregiati, è da considerare nel caso di avvio di nuovi impianti e nelle relative valutazioni economiche sull'investimento.

Naturedulis s.r.l. – Sede legale ed amministrativa: Piazzale Leo Scarpa, 45 – 44020 Goro (FE)

Tel. +39.348.402.3110 - www.naturedulis.com - e-mail: info@naturedulis.com - PEC: naturedulis@lamiapec.it

P. Iva e C.F. e N° Iscriz. Reg. Imprese: 01959620384 - Capitale Sociale € 19.000 I.V. - N° REA: FE 213632



r_emiro.Giunta - Prot. 10/05/2022.0455263.E



Naturedulis s.r.l.

Piazzale Leo Scarpa, 45
44020 Goro (FE)

Conclusione del progetto

Le attività in schiuditoio riferite al progetto (operazione 2.A.1) possono ritenersi concluse il 10/12/2021, le attività inerenti alle analisi nutrizionali del prodotto finito (operazione 2.A.3), le analisi microbiologiche/parassitologiche (operazione 2.A.5) e le attività inerenti al pre-ingrasso delle ostriche (operazione 2.C) si ritengono concluse il 31/12/2021.

Si sottolinea che l'attività di Naturedulis s.r.l. riguardante la riproduzione dell'ostrica piatta in schiuditoio e le relative fasi di pre-ingrasso ed ingrasso continuano tutt'oggi e continueranno in futuro anche grazie alle competenze acquisite dal personale durante il progetto finanziato.

Goro, 05 maggio 2022

Dott. Leonardo Aguiari
Referente tecnico – scientifico del
Progetto

Sig. Enrico Bertaglia
Amministratore Unico
Naturedulis s.r.l.