

Piano strategico per l'acquacoltura in Italia 2014-2020

**Valorizzazione della produzione di ostriche:
sperimentazione di allevamenti di ostriche
in sistema integrato vallivo e off-shore a basso impatto
Messa a punto di indicatori ambientali e protocolli di
produzione applicabili in altri siti potenzialmente produttivi**

ricerca approvata con DG Pemac Prot. 0011064 del 04/07/19



relazione finale

Periodo di svolgimento del progetto: novembre 2019 - maggio 2022



Piano strategico per l'acquacoltura in Italia 2014-2020

Valorizzazione della produzione di ostriche: sperimentazione di allevamenti di ostriche in sistema integrato vallivo e off-shore a basso impatto

Messa a punto di indicatori ambientali e protocolli di produzione applicabili in altri siti potenzialmente produttivi

ricerca approvata con DG Pemas Prot. 0011064 del 04/07/19

A cura di

Giuseppe Arcangeli, IZSVE
garcangeli@izsvenezie.it

Hanno collaborato al progetto

Musini Giovanni, AQUATEC srl
Stefano Rocchi, AQUATEC srl
Stephen Visentin, AQUATEC srl
Alessia Vetri, IZSVE
Pierfrancesco Boldini, IZSVE
Federica Tosi, IZSVE
Pietro Antonelli, IZSVE
Alessandro Lo Vasto, Consulente settore ambientale
Francesca Gargiulli, Compagnia Ostricola Mediterranea
Alessandro Gorla, Compagnia Ostricola Mediterranea

Progetto grafico

Laboratorio comunicazione della scienza, IZSVE

Crediti foto

Archivio IZSVE; Shutterstock

I edizione: giugno 2022

Riproduzione vietata ai sensi di legge (art. 171 della legge 22 aprile 1941, n° 633)

Copyright © 2022 Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

I lettori che desiderano informazioni sulle attività dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie possono visitare il sito web www.izsvenezie.it o scrivere un'email a comunicazione@izsvenezie.it

Indice

1. Introduzione	p. 5
2. Scopo della ricerca	p. 8
3. Cenni sulle diverse modalità di allevamento dell'ostrica in Italia	p. 12
4. L'ecosistema vallivo	p. 14
5. I principali patogeni dell'ostrica concava e metodologie diagnostiche	p. 21
6. La scelta delle aree vallive idonee all'allevamento e le tecnologie impiegate	p. 31
7. Risultati	p. 37
7.1 Dati di accrescimento in valle-laguna-mare	p. 37
7.2 Dati ambientali correlati alla crescita e nei diversi ambienti	p. 38
7.3 Patogeni rilevati e fitoplancton tossico	p. 64
7.4 Analisi immunoistochimica	p. 74
7.5 Caratteristiche nutrizionali del prodotto finale	p. 79
8. Considerazioni finali: punti di forza e di debolezza dell'allevamento in valle-mare	p. 82
8.1 Aspetti tecnologici	p. 82
8.2 Aspetti sanitari	p. 84
9. Appendice	p. 89



1. Introduzione

Il Programma nazionale triennale della pesca e dell'acquacoltura 2017/2019 e il Piano strategico per l'acquacoltura in Italia 2014 - 2020 (PSA), strumenti di governo per la pianificazione delle attività d'acquacoltura, quali elementi base della nuova Politica Comune della Pesca, hanno come primo obiettivo lo sviluppo di attività d'acquacoltura nei territori e nei mari italiani per creare economia, occupazione e benefici sociali. In particolare il PSA risponde all'esigenza di programmazione richiesta dalle nuove politiche europee per l'acquacoltura e finalizza gli obiettivi di innovazione e crescita "intelligente, sostenibile e inclusiva" previsti dalla Strategia Europa 2020 e nella *Blue economy*. Finalità ultima è aumentare e creare nuove economie e occupazione nei territori vocati.

In questo contesto, la molluschicoltura italiana è un settore dell'acquacoltura che in questi ultimi anni è oggetto di progetti di rilancio su vari fronti, date le varie criticità che affliggono il settore, basato essenzialmente sulla produzione di due sole specie: la cozza (*Mytilus galloprovincialis*) e la vongola verace (*Ruditapes philippinarum*).

Nel campo della mitilicoltura infatti sono presenti difficoltà a partire da costi di produzione troppo elevati che faticano ad essere concorrenziali con paesi UE limitrofi, una saturazione del mercato per l'aumento dei siti produttivi. Si aggiungono problematiche dovute ai cambiamenti climatici con imponenti mareggiate che sovente hanno comportato la perdita di interi filari oppure la presenza non costante di fitoplancton, l'alimento base delle cozze, con indebolimento e a volte la perdita delle produzioni. Anche il peggioramento sanitario delle aree produttive per l'accadere di fenomeni alluvionali imponenti con contaminazioni da materiale organico di origine antropico/zootecnica ha contribuito ad aggravare la situazione, nonchè il moltiplicarsi di fioriture algali tossiche, non più limitate a ben precisi periodi dell'anno e per questo meno gestibili. Patogeni emergenti come il protozoo del genere *Haplosporidium* complicano ulteriormente la situazione.

Nella venericoltura (allevamento di veneridi, come la vongola verace), anche se l'Italia rimane al primo posto in Europa come quantità di prodotto allevato, le tonnellate prodotte sono calate in pochi anni da 50.000 t a circa 30.000 t/anno. Questo soprattutto per l'effetto dei cambiamenti climatici che nell'ambiente lagunare salmastro, dove la vongola verace viene allevata, a causa delle elevate temperature assieme a repentini cambi di salinità e periodi di eutrofizzazione per fioriture di macroalghe, si sta assistendo ad una diminuzione di prodotto, soprattutto di stadi giovanili con gravi ripercussioni su questo comparto. Mancanza di schiuditoi artificiali ed idonee aree di primo ingrasso (nursery) non permettono ad oggi di svincolare la venericoltura dalla produttività naturale.

A questo si associa la presenza di patogeni ormai endemici (il protozoo *Perkinsus olseni*) che uniti alla presenza di predatori di seme come la noce di mare (*Mnemiopsis leidyi*) e problemi di vivificazione lagunare con miglioramento dei flussi di acqua dolce/salata, rendono problematico l'intero quadro.

Basare l'intera produzione molluschiola solo su due specie è rischioso. Lo dimostra l'esempio francese, che puntando soprattutto sulla sola specie di ostrica concava (*Crassostrea gigas*), a

seguito della comparsa una decina di anni fa di un nuovo patogeno, una variante dell'*Ostreid herpesvirus*, è passata in un poco tempo da una produzione annua di 140.000 t a 80.000 t circa, oggi fortunatamente in salita per l'adozione di misure sanitarie di mitigazione e contenimento. Per i suddetti motivi da alcuni anni sono in corso alcune iniziative per sperimentare anche in Italia la produzione di un bivalve ad oggi non allevato su scala intensiva: l'ostrica concava (*Crassostrea gigas*). Questa specie è la più allevata a livello mondiale. La scelta di *C. gigas* piuttosto che l'autoctona ostrica piatta (*Ostrea edulis*) è dovuta al fatto che per la prima il raggiungimento della taglia commerciale avviene dopo circa 12-18 mesi, mentre per l'ostrica piatta è di 24-30 mesi. Inoltre l'ostrica piatta è più impegnativa in fase di allevamento artificiale, soffre di patologie protozoarie come la bonamiosi e la marteiliosi, causa dell'abbandono dell'allevamento di questa specie in Francia già negli anni 70-80. Anche l'allevamento di ostrica portoghese (*Crassostrea angulata*) è più praticato ormai dagli inizi degli anni 70 quando, sempre in Francia, una virosi da *Iridovirus* ha causato ingenti fenomeni di mortalità. Da ultimo, la pesca a strascico di ostrica piatta selvatica, venduta a basso prezzo, rende non remunerativo l'allevamento.

Allevare l'ostrica concava comporta alcuni vantaggi per il molluschicoltore, quali: la garanzia di un mercato, in quanto la domanda in Italia di tale prodotto, interamente di origine francese, supera le 10.000 t a fronte di una produzione nazionale di circa 100 t; un guadagno maggiore di 2,4 volte rispetto alla mitilicoltura; la possibilità di produrre seme in schiuditoio potendo così impiegare riproduttori selezionati nonché soggetti triploidi, con maggior sviluppo di polpa, senza la componente gonadica; minor incidenza del problema delle biotossine, in quanto l'ostrica accumula meno fitoplancton tossico rispetto ai mitili.

Di contro c'è la difficoltà di mancanza di esperienza in questo tipo di allevamento in Italia, una scarsa motivazione dei produttori, la concorrenza con altri Paesi dove l'ostricoltura è già sviluppata ed infine una minor disponibilità di siti produttivi con caratteristiche igienico sanitarie idonee, data la consuetudine di consumare l'ostrica cruda. Infine, la particolare affinità ad accumulare cadmio rispetto ad altri bivalvi ne preclude l'allevamento in alcune aree.

L'ostrica concava per le caratteristiche fisiologiche è in grado di sopravvivere anche fuori dall'ambiente acqueo, in quanto è un animale filtratore, sessile e che tollera un ampio gradiente di salinità e temperatura. Queste peculiarità consentono varie modalità di allevamento anche in ambienti molto differenti tra loro.

È infatti possibile allevare ostriche concave off-shore (a mare), in laguna e in aree intertidali (*on-bottom* e *off-bottom culture*). La tipologia *off-shore* prevede l'impiego di lanterne e ceste in rete o plastica che possono essere poste in combinata con mitilicoltura, così da diversificare la produzione dell'allevatore. L'allevamento in laguna può essere svolto in ceste, lanterne, poches, a seconda della tipologia e profondità della laguna. Anche la disposizione su fune a cui le singole ostriche sono applicate con uno specifico collante fornisce buone produzioni.

È possibile anche l'allevamento combinato, che prevede la fase iniziale di pre-ingrasso in laguna, anche con sistemi *flupsy*, per poi terminare in off-shore in modo tale da sfruttare la maggior presenza di nutrienti e fitoplancton in ambiente lagunare in alcuni periodi dell'anno.

La soluzione di allevamento in zona intertidale, è applicata prevalentemente all'estero, ad esempio in Francia, mentre in Italia sono applicate le prime due tipologie.

Bibliografia essenziale

- Buestel D., Ropert M., Prou J. e Goulletquer P., 2009. *History, status, and future of oyster culture in France*. Journal of Shellfish Research, 28(4), 813-820
- Colsohl B., Boudry P., Perez-Paralle M., Cetinic A., Hugh-Jones T., Arzul I., Merou N., Wegner K., Peter C., Merk V. and Pogoda B., 2021. *Sustainable large-scale production of European flat oyster (Ostrea edulis) seed for ecological restoration and aquaculture: a review*, Reviews in Aquaculture, 13: 1423-1468
- Pernet F., Barret J., Le Gall P., Corporeau C., Dégremont L., Lagarde F., Pépin J.F., Keck N., 2012, *Mass mortalities of Pacific oysters Crassostrea gigas reflect infectious diseases and vary with farming practices in the Mediterranean Thau lagoon, France*, Aquacult Environ Interact, 2: 215-237
- Prioli G., *Studi e sperimentazioni indirizzati allo sviluppo delle produzioni di Ostrea edulis in Italia. In: La ricerca scientifica a supporto della pesca e dell'acquacoltura. Divulgazione dei risultati delle ricerche del V e VI Piano Triennale*". MIPAAF-UNIMAR, pp: 154-156
- Tamburini E., Fano E., Castaldelli G. and Turolla E., 2019. *Life Cycle Assessment of Oyster Farming in the Po Delta*, Northern Italy, Resources, 8, 170. doi:10.3390/resources8040170
- Turolla E., 2008. *Allevamento in sospensione dell'ostrica concava su sistemi long-line al largo di Goro (FE)*, Il Pesce n.3
- Turolla E., 2012. *Tecniche di ostricoltura: problemi e prospettive. Istituto Delta. L'ostricoltura, Seminario tecnico una prospettiva per la diversificazione delle produzioni ittiche in Sardegna*. Cagliari http://www.sardegnaagricoltura.it/documenti/14_43_20120427083602.pdf
- Turolla E. e Rossi R., 2005. *Esperienze di allevamento dell'ostrica concava (Crassostrea gigas) in Alto Adriatico*, Technical Report. Dip. Biologia - Univ. Ferrara, p. 31

2. Scopo della ricerca

Obiettivo di questa ricerca è stato la messa a punto di diverse modalità di allevamento di ostrica concava, sperimentato in ambienti con caratteristiche molto diverse tra loro: la valle da pesca e l'allevamento *off-shore* (in mare), per verificarne la possibile integrazione nel ciclo produttivo e le rese finali. Intento ultimo è stato quello di identificarne le principali caratteristiche per poter proporre questo progetto come modello pilota, esportabile anche in altri potenziali siti produttivi.

Ad oggi non ci sono precedenti di allevamento di ostriche in ambiente vallivo. Tale ambiente, di cui verrà data ampia descrizione nell'apposito capitolo, è tipico delle aree costiere del nord Adriatico, legate alla presenza di acqua salmastra. Tra Friuli Venezia Giulia, Veneto ed Emilia Romagna sono presenti ben 150.000 ettari di aree vallive e zone umide.

Le valli da pesca, ambienti artificiali creati in origine con la finalità di essere dedicati all'allevamento estensivo di alcune specie di pesci come branzino, orate e cefalo, sono oggi prevalentemente oggetto di un'altra attività, la caccia agli anatidi, più remunerativa rispetto alla ittio-vallicoltura, ormai quasi abbandonata. L'ambiente vallivo, per la presenza di argini con vegetazione, basso livello dell'acqua (intorno al metro) ubicazione lontana da insediamenti umani, acqua salmastra ricca di fitoplancton e nutrienti, genera un ecosistema con una diversità biologica unica nel suo genere. Tuttavia, se venisse a mancare il continuo intervento del vallicoltore per la manutenzione e pulizia del vallum (argine) e dei canali di apporto e deflusso dell'acqua, la valle sarebbe destinata a scomparire e con essa il patrimonio ittiofaunistico e paesaggistico collegato.

Anche la caccia in generale, compresa quella di valle, negli ultimi decenni sta però diminuendo; l'età media dei cacciatori è aumentata e si aggira sui 70 anni e recenti indagini evidenziano che questo tipo di sport-passione è stato abbandonato dalle nuove generazioni. Dati Istat e Federcaccia infatti evidenziano che a livello nazionale emerge che i cacciatori italiani erano 1.701.853 nel 1980 (3% dell'allora popolazione italiana), 1.446.935 nel 1990 e 543.795 nel 2017.

In quest'ottica, l'intento della ricerca è quello di recuperare e rilanciare il patrimonio ecologico vallivo proponendo attività integrate e/o alternative all'itticoltura ed alla caccia, come l'ostricoltura intensiva.

Nelle fasi preliminari sono stati eseguiti sopralluoghi in alcuni ambienti vallivi dove è stata riscontrata la presenza di esemplari selvatici di *C. gigas*, di pezzatura riferibile ad almeno due-tre anni di vita, conferma che oggi l'areale di questa specie, naturalizzata ormai da tempo (anno 1971, prima segnalazione di Ghisotti in alto Adriatico), si è spinto fino a questi ambienti. In effetti, i valori di salinità ottimali per la crescita di *C. gigas* sono compresi tra il 20 al 25‰, anche se questa specie è in grado di tollerare salinità inferiore al 10‰ e superiore al 35‰, condizioni che tuttavia ne compromettono la riproduzione. Anche il range termico di sopravvivenza è piuttosto ampio, da -1,8°C fino a 35°C. Tutte queste caratteristiche rendono l'allevamento dell'ostrica concava compatibile con l'ambiente vallivo.

- In questi ambienti, inoltre, la presenza di pesci come le orate (*Sparus aurata*) in grado di rompere con la loro poderosa dentatura le valve di bivalvi può impedire l'allevamento di

altre specie come i mitili. D'altra parte l'ostricoltura, grazie a modalità di allevamento che prevedono l'utilizzo di strutture protettive come lanterne, gabbie o poches, non è soggetta a tale problema, nemmeno per i giovanili, con valve più fragili.

La scelta dell'ambiente vallivo offre vari potenziali vantaggi come:

- Facilità di gestione dell'allevamento: data la vicinanza alla riva, è più facile l'accesso ai filari con le ostriche, tramite natante, con un più frequente controllo dei contenitori utilizzati, degli animali ed una rimozione di fouling (incrostazioni) dalle maglie della rete
- Riparo dal vento, fenomeni alluvionali: rispetto all'allevamento a mare o in laguna, generalmente la valle, essendo posta più all'interno della costa e sovente con presenza di arbusti (salici e tamerici) sulle rive, è meno esposta ad agenti atmosferici avversi, soprattutto al vento, che invece in ambiente lagunare può causare improvvisi cambiamenti di temperature e fenomeni di torbidità per rimescolamento del fondo
- La valle, luogo confinato e controllato: come precedentemente riportato, è utilizzata per l'allevamento intensivo e la caccia, e per essere mantenuta con queste finalità necessita della presenza continua di personale, spesso con dimora nell'areale vallivo. Inoltre anche l'accesso è in genere controllato e con tratti recintati, a garanzia di sorveglianza e controllo dell'allevamento di ostriche ivi ubicato
- Conflittualità d'uso degli spazi: in valle non sono presenti limitazioni come presenza di traffico di natanti e relativi pontili di attracco, reti da pesca professionali, manufatti come idrovore. Questo facilita l'attività di ostricoltura ad ottenerne il permesso in modo più agevole
- Contaminanti di origine antropica-zootecnica: ad oggi non ci sono precedenti di classificazione sanitaria di valli da pesca ai fini dell'allevamento di molluschi, come invece ci sono per allevamenti off-shore e in laguna. L'attuale normativa sanitaria (Reg. CE n. 852 del 29 aprile 2004 in materia di igiene dei prodotti alimentari; Reg. CE n. 853 del 29 aprile 2004 relativo a specifiche norme in materia di igiene per gli alimenti di origine animale; Reg. CE 2017/625 che ha abrogato il Reg. CE 854/2004 e il Reg. CE 882/2004) è molto stringente nel controllo delle aree e del prodotto della molluschicoltura. Per le caratteristiche dell'ambiente vallivo, lontano da fonti contaminanti dirette, da luoghi abitati, da aree di balneazione, da porti, è verosimile che la situazione sanitaria sia idonea a garantire la salubrità del prodotto ed è stata oggetto di verifica nella presente indagine
- Fitoplancton: è noto che in mare sono presenti fioriture di fitoplancton tossico, produttore di biotossine tossiche per l'uomo. Anche se l'ostrica tende ad accumulare meno del mitilo tali sostanze, in ambiente lagunare e presumibilmente in valle, per la presenza di acqua salmastra, tale problema è minore. Nella fase preliminare della ricerca, in alcune valli è risultata la presenza di fitoplancton particolare, la specie *Haslea ostrearia* (ex *Navicula*), una diatomea,

con dimostrate proprietà di conferire alla polpa dei molluschi una colorazione molto apprezzata dal consumatore. Questa particolarità è stata oggetto di verifica nella ricerca

- Esposizione a patogeni per l'ostrica: intento della ricerca è stato quello di verificare la presenza e l'eventuale sviluppo di patologie specifiche per l'ostrica concava. Per questo sono stati cercati patogeni sia notificabili (Animal Health Law Regolamento EU 2016/429) sia non notificabili. La valle da pesca, ambiente confinato, senza movimentazioni di molluschi come avviene invece negli ambienti aperti lagunari e marini, potrebbe rivelarsi interessante per ottenere certificazioni di areali indenni da patologie, e fornire così prodotto sano ad altre realtà produttive

Il progetto ha previsto un'integrazione dell'allevamento in valle ed *off-shore*, in modo da sfruttare le diverse caratteristiche valutando il momento migliore per sfruttare la valle, piuttosto che il mare, in sinergia con il clima, la stagione, e la presenza in certi periodi di patogeni per l'ostrica, al fine di ottenere un prodotto con caratteristiche morfologiche e bromatologiche migliori.

Infine, sono state sperimentate modalità diverse di allevamento, utilizzando contenitori come: poches fisse, flottanti, ceste, così da verificare il sistema più idoneo ed efficiente, in ambiente vallivo ed *off-shore*, anche in riferimento ad una maggiore o minore resistenza alla presenza di patogeni.

Bibliografia essenziale

- Chang G.O.J.L., Inn L.V., Hwai A.T.S., Yasin Z., 2016, *The effects of salinity on the filtration rates of juvenile tropical oyster Crassostrea iredalei*. Tropical Life, Sciences Research, 27, 45-51
- Curiel D., Boscolo N. e Marzocchi M., 2008. *Il macrofitobenthos delle valli da pesca della laguna di Venezia*, Lavori - Soc. Ven. Sc. Nat. - Vol. 33: 59-70
- FAO, 2019 - tratto da FAO: <http://www.fao.org/fishery/en>, accesso al sito 18 luglio 2021
- Ghisotti F., 1971. *Molluschi del genere Crassostrea nell'Alto Adriatico. Conchiglie*, 7(7-8): 113-124
- Rallo G., 1996. *Guida alla natura nella laguna di Venezia. Itinerari, storia e informazioni naturalistiche*, Ed. Franco Muzzio, pp. 233
- Ravagnan G., 1988. *Vallicoltura moderna*, II ed., Edagricole
- Ravagnan G., 1992. *Vallicoltura integrata*, Edagricole
- Šegvić-Bubić T., Grubišić L., Karaman N., Tičina V., Mišlov Jelavić K. and Katavić I., 2011. *Damages on mussel farms potentially caused by fish predation—Self service on the ropes?*, Aquaculture, 319, 3–4, Pages 497-50
- Verza E. (a cura di), 2019. *“Le Valli da pesca e da caccia venete: straordinario esempio di gestione ambientale a sostegno della fauna e della biodiversità. Guida alla gestione delle Aziende faunistico venatorie vallive”*. Ente Produttori Selvaggina Sezione Veneta. Regione del Veneto
- Verza E. e Trombin D., 2012. *Le valli del Delta del Po*, Ente Parco Regionale Veneto del Delta del Po. Apogeo Editore

3. Cenni sulle diverse modalità di allevamento dell'ostrica in Italia

Nel corso dell'ultimo ventennio, in Italia, si è assistito ad un certo fermento nel campo dell'allevamento di *Crassostrea gigas*. In effetti è lecito, in un paese con 8.000 chilometri di coste e nel quale sono ampiamente diffuse le colture di altri molluschi bivalvi, chiedersi il perché dell'assenza di tale pratica che invece è consolidata in molti paesi nel mondo, compresi quelli ad esso limitrofi. In questo periodo diverse esperienze hanno cercato di rilanciare l'ostricoltura italiana. Si può parlare di rilancio in quanto dal passato, più o meno remoto, ci giungono notizie di forme di allevamento diffuse anche nel nostro paese. Seppure a macchia di leopardo, a volte con poca convinzione o con determinazione insufficiente, si sono succedute prove di allevamento in diverse regioni italiane. Naturalmente le aree interessate sono state principalmente quelle dove si allevavano già altre specie di bivalvi e quelle dove le caratteristiche ambientali apparivano più adatte.

Oltre venti anni fa un'esperienza interessante è stata condotta nella laguna di Orbetello, senza purtroppo avere un seguito stabile così come negli impianti off-shore di cozze a Cattolica. Tuttavia, poco dopo si è iniziato ad allevare questa specie con più costanza in Sardegna e in Liguria, dove i primi allevamenti sono tuttora in esercizio. Ad oggi, altre attività si svolgono in Veneto, Emilia-Romagna, Puglia e Marche con attenzione e successo crescenti in tutto il territorio nazionale.

Per quanto concerne le tecniche adottate si può assistere a un campionario alquanto variegato. Infatti si deve tener presente che la tecnica più diffusa in altri Paesi, che consiste nel sistema a sacchi ostricoli (pôches, oyster bags) poggiati su cavalletti in zona intertidale su spiagge oceaniche esposte a forti escursioni di marea, in Italia non è applicabile. Pertanto risulta impossibile a livello nazionale replicare questa particolare tecnica che consente di raggiungere ingenti volumi di produzione con lavoro relativamente limitato.

Unico esempio di tecnica ben replicata è l'allevamento presente in Sacca di Scardovari. In questo areale infatti, è stata replicata la modalità di allevamento a palafitta (table) tipica dello Stagno di Thau, un sito lagunare della costa mediterranea della Francia. Si tratta di un sistema di pali infissi su un fondale di alcuni metri di profondità, generalmente da 4 a 12, che sostengono delle traverse alle quali sono appese lanterne o cime con ostriche cementate. La particolarità consiste nella possibilità di far avvolgere le cime che sostengono gli animali sulle traverse. Essendo queste ultime tubolari a sezione circolare, con una semplice rotazione possono sollevare gli animali fuori dell'acqua simulando le escursioni di marea e ottenendo così gli effetti benefici dell'emersione.

Le altre tecniche utilizzate nel nostro Paese sono naturalmente correlate alle condizioni ambientali in cui gli operatori si trovano a lavorare. Negli impianti *off-shore* si utilizzano in genere contenitori appesi ai long-line per la mitilicoltura. La lanterna di tipo cinese a più piani è lo strumento più comunemente utilizzato, ma alcuni allevatori adottano sistemi alternativi o anche complementari quali lanterne di tipo rigido, cestini di tipo australiano impilati, pôches in gabbioni o altri contenitori. Nel caso degli impianti *off-shore* risulta difficile realizzare i cicli di emersione per gli animali.

In ambiente lagunare, caratterizzato da fondali meno profondi e idrodinamismo ridotto, soprattutto in termini di moto ondoso, si utilizzano prevalentemente sistemi a filo sotteso tra pali (tipo australiano) con appesi attrezzi vari quali ceste di forme diverse oppure sistemi di p^ôches galleggianti in filari. In questo caso, salvo alcune rare eccezioni, le lavorazioni ricorrenti in allevamento, come l'emersione periodica, vengono svolte prevalentemente a mano.

I diversi ambienti, come le diverse tecniche adottate, presentano in ogni caso dei pro e dei contro. Durante la ricerca si è cercato di approfondire l'analisi e la conoscenza di questi aspetti come descritto nelle apposite sezioni.

4. L'ecosistema vallivo

Data la stretta interconnessione tra il sistema vallivo ed il sistema lagunare, questo capitolo considera in premessa il sistema lagunare, per trattare quindi in modo più specifico il sistema vallivo.

Le lagune

Le lagune rappresentano uno degli ecosistemi di transizione tra terra e acqua più diffusi nel mondo. Esse si formano dove i grandi fiumi sfociano in mare, in ampi delta ed estuari. La configurazione geografica del litorale veneto deriva infatti dall'equilibrio instabile tra le forze operanti dei fiumi, apportatori di detriti erosi a monte e trasportati alla foce, e dal mare, che accoglie i materiali fluviali e li distribuisce lungo la costa.

L'ambiente lagunare è uno dei più produttivi di biomassa del mondo, questo è dovuto alle condizioni fisiche della laguna che sono uno dei presupposti per la ricchezza di vita che ospita. La morfologia delle lagune è caratterizzata da acque laminari, con una profondità da 1 a 2 m; le acque poi, trovandosi in aree riparate, sono soggette a scarso moto ondoso, mentre i fondali sono costituiti da sabbia, limo e argilla.

La materia organica appare legata alla granulometria del sedimento ed a particolari condizioni idrodinamiche locali. I valori di concentrazione massimi (5-8%) si riscontrano infatti su silt e argille, in corrispondenza a bassi valori delle correnti di fondo, mentre quelli minimi (0,5-1%) nei sedimenti molto sabbiosi prossimi alle bocche di porto e ad aree interessate da canali con elevata velocità di corrente. La concentrazione di sostanza organica è soggetta a variazioni stagionali con valori massimi in corrispondenza al periodo estivo e minimi in corrispondenza a quello invernale.

Le condizioni di illuminazione sono ottimali, poiché acque così poco profonde sono attraversate da tutte le bande della luce solare. Questo è un importante presupposto per una piena attività fotosintetica che si estende all'intero strato d'acqua, permettendo un'abbondante produzione primaria vegetale. La conformazione praticamente chiusa del bacino fa sì che l'apporto nutritivo in sali minerali provenienti dagli affluenti, resti "intrappolato" nel bacino stesso per i deboli scambi con il mare aperto.

Altro fattore ecologico importante è la concentrazione dei sali marini il cui andamento varia, a causa sia della variabilità delle maree, che dell'entità delle precipitazioni e dell'evaporazione, da un minimo nella zona dove sboccano gli affluenti di acqua dolce, a un massimo nelle aree circostanti le connessioni con il mare aperto. I valori più alti si riscontrano in corrispondenza dei periodi di magra dei corsi d'acqua (estate, inverno). Le acque lagunari presentano inoltre una stratificazione verticale della salinità causata dall'incunarsi, durante la fase di marea entrante, delle acque marine più fredde e più salate sotto quelle lagunari più calde e più dolci.

Per questa ragione gli ambienti lagunari vengono colonizzati da specie particolari che sono adattate ad una ampia tollerabilità a questo fattore. Ciò tuttavia non influisce sulla produttività totale, ma implica soltanto che nelle lagune vi sia un minor numero di specie presenti con numerosi individui.

Anche la temperatura delle acque della laguna è notevolmente variabile in quanto il riscaldamento delle acque lagunari avviene principalmente ad opera della radiazione solare e che il loro volume, piuttosto esiguo, presenta un'inerzia termica relativamente bassa cosicché gli scambi termici con l'atmosfera e con il fondo risultano estremamente veloci.

La temperatura gioca un ruolo importante: l'acqua della laguna tende ad essere più calda di quella del mare o dei corsi fluviali, in quanto si trova nella condizione di riscaldarsi più rapidamente. Una temperatura più elevata fa sì che le reazioni biologiche avvengano più velocemente e quindi la produttività aumenti.

La morfologia lagunare caratterizza l'ecosistema incidendo sia sulla produttività biologica, sia sull'autodepurazione e sulla circolazione delle acque. All'interno della conterminazione lagunare sono compresi bassifondi, velme, barene, isole, canali e valli arginate.

Tra le strutture morfologiche più caratteristiche dell'ecosistema lagunare vi sono le barene che sono costituite da terreni sopra il livello medio delle maree che, solo in certe circostanze, vengono sommersi completamente dalle acque. Si tratta di ambienti altamente dinamici, soggetti ad erosione, per i quali le fluttuazioni del livello di marea costituiscono il principale fattore di controllo. Le maree controllano la salinità e il grado di saturazione del suolo e sono responsabili del trasporto di sedimenti. Questi fattori associati alla topografia irregolare della superficie ed alla presenza di particolari elementi morfologici (chiari, ghebi), fa sì che ciascuna barena presenti un complesso mosaico di microhabitat nei quali si insediano, in modo variegato, le diverse specie di piante.

Le barene hanno un'importanza fondamentale per l'ecosistema lagunare in quanto svolgono specifiche e diversificate funzioni che possono essere distinte in due tipologie:

Funzione morfologica. Moderano l'azione del moto ondoso, catturano i sedimenti messi in sospensione e ne limitano la dispersione in laguna e la perdita a mare;

Funzione naturalistica. Ospitano la massima produzione organica, vegetale e batterica, rappresentano habitat favorevoli all'insediamento di comunità bentoniche e sono importanti aree di passaggio, di riproduzione e di stazionamento per numerose specie di uccelli, alcune delle quali rare o, addirittura, localmente minacciate di estinzione (fraticelli, avocette, chiurli, piovanelli, garzette, aironi, ecc.).

In questi ultimi tempi si è assistito ad una notevole riduzione delle superfici a barena, sintomo di una generale trasformazione che sta interessando la morfologia e l'idrodinamica dell'intero bacino lagunare.

Le valli da pesca

Le valli da pesca sono aree separate dalla laguna aperta mediante arginature che ne determinano l'esclusione dai flussi e riflussi di marea. Sono bacini poco profondi di acque salse e salmastre e costituiscono ambienti molto particolari che, fin da tempi antichissimi, sono stati attrezzati per l'itticoltura e talvolta per la caccia. Al loro interno racchiudono specchi d'acqua, canali artificiali o naturali, barene e strutture per gestire gli apporti di acqua dolce o salata.

Le valli del Veneto, dal latino "*vallum*", ovvero "barriera", derivano dalla chiusura di tratti di zone umide costiere, dapprima mediante graticci, poi via via mediante argini sempre più solidi. Questa modifica di tratti di lagune e paludi della costa veneta ha generato immediatamente la necessità di un controllo funzionale dei movimenti dell'acqua. Osservando una valle dall'alto è possibile notare la presenza di grandi canali, serpentine di corsi d'acqua più piccoli e argini sinuosi (ghebi), o addirittura antichi rami di fiumi, come il Po, intrappolati all'interno del sistema vallivo, e mantenuti per la loro caratteristica fondamentale di collettori d'acqua. È possibile notare piccoli laghi incastonati tra canali e aree più grandi: sono i "chiari" che in passato si aprivano tra i canneti costieri, i "bonelli". Insieme a morfologie naturaliformi, le valli mostrano geometrie rettilinee decisamente di natura antropica. Al fine di potenziarne la produzione, i vallicoltori hanno modificato alcuni aspetti delle valli primigenie, aggiungendo casoni, di servizio e nobiliari, "colaùri" e "vignùe", ovvero grandi canali rettilinei per la migrazione del pesce e per lo sgrondo delle acque, aprendo piccoli laghi o chiudendo vaste superfici. La natura plastica di questo ambiente fa sì che tutto sia reversibile, grazie all'acqua e ai sedimenti fini; valli salate possono essere dolcificate, argini distrutti possono essere ricostruiti, canneti scomparsi rigenerati, ecc.

La dimensione media di una valle veneta è di alcune centinaia di ettari, con valli della laguna veneta mediamente più grandi e valli del Delta del Po più piccole. Le valli abbracciano tre province, Venezia, Padova e Rovigo, e sono tutte dichiarate sia Siti d'Importanza Comunitaria (SIC) che Zone di Protezione Speciale (ZPS) ai sensi della normativa europea; inoltre, circa un terzo della superficie di ogni Valle è Oasi di protezione come previsto dalla normativa.

Ne emerge, dunque, una grande importanza ambientale e paesaggistica riconosciuta alle valli dalla società e dagli organismi nazionali e internazionali.

La vallicoltura si è diffusa con successo nelle lagune dell'alto Adriatico, in particolare in veneto, dove elementi favorevoli come l'azione rivitalizzante delle maree e allo stesso tempo la protezione dagli elementi marini, ne hanno permesso uno sviluppo razionale. Se praticata correttamente secondo le tecniche tradizionali caratteristiche degli allevamenti estensivi, l'industria valliva si configura come un'attività compatibile con l'ecosistema lagunare, non alterandone la configurazione ma assecondando le naturali tendenze.

La distribuzione diversificata delle correnti ha portato alla creazione di zone a diverso grado di ricambio idrologico e quindi ad una strutturazione a mosaico che ha reso più facile l'isolamento delle valli da parte dell'uomo. Le valli venete si differenziano tra loro in relazione al grado di autonomia idraulica. Oggi la maggior parte delle valli sono "chiuse", circondate cioè da argini di terra o macigno continui, mentre fino a poco più di mezzo secolo fa esistevano valli non idraulicamente isolate dal sistema lagunare che si distinguevano in base al diverso tipo di recinzione: valli "semiarginate" in cui gli argini erano interrotti e completati da graticci di canne palustri ("grisiolo"); valli "a serraglia" limitate da reti e graticci; valli "aperte" prive di ogni protezione. Le valli chiuse si sono dimostrate le più efficienti poiché permettono un maggiore controllo da parte dell'uomo. La regolazione e il corretto ricambio delle acque vengono effettuati tramite chiaviche che generalmente mettono in comunicazione la valle con la laguna e con canali di acqua dolce. È possibile così variare il regime termico e alino nonché il tenore di ossigeno a

seconda delle diverse condizioni, mantenendo così un ambiente ottimale.

Un allevamento di tipo estensivo dipende da una serie di fattori, soprattutto di carattere ambientale, così numerosi e mutevoli da essere difficilmente controllabili da parte dell'uomo. Temperatura e salinità sono i due elementi maggiormente condizionanti la produttività di una valle: a causa delle ampie oscillazioni del tenore dei sali e delle temperature. L'acqua infatti, dati i bassi fondali, risente molto degli sbalzi di temperatura dell'aria ed è quindi soggetta a grandi variazioni termiche. Si può perciò verificare un eccessivo riscaldamento estivo o il gelo invernale; quindi le valli, che hanno una profondità media di 70 cm, sono solcate da canali che arrivano fino ai 2 m. In caso di basse temperature si irriga con acqua dolce in modo da facilitare la formazione di uno strato superficiale di ghiaccio protettivo. In estate l'acqua dolce attenua invece l'aumento della salinità dovuto all'evaporazione eccessiva. Anche la salinità è variabile con le stagioni (dipende in particolare dall'evaporazione, dall'entità degli afflussi meteorici e dalle portate dei fiumi che sversano in laguna) e presenta un gradiente che aumenta verso il mare portando alla diversificazione delle valli a seconda della loro posizione: valli oligoaline (salinità 0,5-5‰), mesoaline (5-18‰), polialine (18-30‰), eurialine (30-40‰) e iperaline (> 40‰).

L'azione delle maree è importante per provvedere all'irrigazione dei bacini sfruttando i dislivelli che si creano tra laguna e valle, mentre l'aumento della radiazione solare (che precede nel tempo l'aumento di temperatura) favorisce la produzione primaria. La qualità e la quantità del *benthos* sono determinanti per la produttività e per la densità del novellame da seminare per ottenere risultati migliori. Ultimo ma non meno importante fattore condizionante per l'acquacoltura in laguna è la presenza di inquinanti, purtroppo sempre più massicci. Scarichi urbani, consumo di detergenti, dilavamento dei fertilizzanti usati in agricoltura, determinano ingenti apporti di sostanze nutritive, mantenendo molto elevato lo stato di trofia della laguna. In estate, data anche l'elevata temperatura, si possono così verificare fenomeni di eutrofizzazione, causati da un eccesso di produzione primaria, che, per il consumo dell'ossigeno disponibile, può creare uno stato di generale anossia delle acque. È perciò fondamentale l'introduzione di acque pulite per non compromettere lo sviluppo degli animali; il controllo della qualità delle acque risulta senza dubbio più facile nelle valli chiuse a regimazione controllata rispetto a quelle semiarginate o aperte dove i flussi avvengono liberamente. Quindi il mantenimento di un ambiente ottimale, presupposto indispensabile per il successo dell'allevamento, è compito difficile, viste le numerose variabili in gioco.

Precauzioni importanti per lo sviluppo di un habitat in costante equilibrio sono il ricambio idrico attivo, l'introduzione di acque non inquinate e ben areate, che permettano livelli di temperatura e salinità ottimali e, assieme all'asportazione dell'eccesso di macroalghe e la rimozione dei sedimenti superficiali, prevengano fenomeni di anossia.

La vallicoltura di tipo estensivo, quindi, oltre ad essere ecologicamente compatibile, ha reso economicamente possibile il mantenimento dell'ambiente lagunare, con la sua peculiare vegetazione (notevolmente diversificata a seconda del grado di salinità, dello stato di emersione e dello spessore del suolo, ecc.) e la ricca avifauna, che vi trova luogo ottimale anche per nidificare. L'uomo ha cercato di mantenerla il più possibile inalterata dal punto di vista chimico e biologico, inserendosi nei cicli vitali degli animali come un attento catalizzatore, senza mo-

dificarne le caratteristiche, al fine di aumentare la produttività; la vallicoltura rappresenta comunque un'importante risorsa per la zona; essa deve perciò essere mantenuta e in alcuni casi riattivata, nel rispetto non solo della locale tradizione, ma di un ecosistema altrimenti destinato alla scomparsa per semplificazione: un esempio di come una naturalizzazione per abbandono economico dell'area produca a volte un peggioramento delle condizioni ambientali in senso naturalistico. Lo sviluppo dell'attività valliva, estensiva ed integrata, dovrà a tal fine necessariamente porsi nell'ambito di un'azione coordinata a livello regionale di supporto all'attività di acquacoltura, che, attraverso la definizione di un marchio di qualificazione del prodotto vallivo, ne valorizzi la commercializzazione.

Paesaggi vallivi, fauna e flora persistono nel tempo grazie ad un indirizzo produttivo che garantisce la continuità di azioni di gestione attiva.

Queste "buone pratiche" gestionali sono essenziali per l'acquacoltura e per l'esistenza stessa della biodiversità e della morfologia vallive.

Quindi innumerevoli sono le azioni che i gestori delle valli da pesca mettono in campo durante tutto il corso dell'anno, tra cui l'assoluto controllo dei flussi d'acqua che rendono di fatto questi luoghi una sorta di intricato sistema di laghi sospesi e comunicanti, in cui l'acqua gioca in infiniti flussi e dislivelli. Non vi sono due punti uguali, all'interno della stessa valle, per profondità o salinità o temperatura o velocità dell'acqua. Questa declinazione di possibilità crea uno straordinario mosaico di variabilità ambientale.

Il mosaico liquido di queste "acque di transizione" è ancora una volta generato dalla mano dell'uomo: dai corsi d'acqua circostanti viene fatta entrare acqua dolce, dalle lagune la preziosa acqua salata. Per chilometri queste acque in entrata vengono fatte scorrere nell'alveo di appositi canali perimetrali, cosicché possano depositare, rallentando, il loro carico di sedimenti, e le floride piante acquatiche le rendano più pulite per fitodepurazione.

Il deposito di sedimenti causato dalle acque in entrata, nonché della biomassa vegetale di valle, porta ad un rapido interrimento dei canali. Vitali per la circolazione idrica, essi devono essere quasi annualmente riscavati. A partire da febbraio gli scavatori meccanici procedono estraendo dal fondo dei canali il sedimento in eccesso, posizionandosi sia su argini che su pontoni galleggianti. Il materiale dragato viene subito depositato lateralmente, sia su strutture emerse già esistenti, sia creandone di nuove. Forme, ampiezza e geometria di tali isole vengono attentamente progettate in base alle esigenze di ogni settore vallivo. Ecco dunque che vanno a formarsi le indispensabili zone emerse di valle: barene, ponsaùre, tomboli, isole, argini.

Per separare laghi e settori vallivi vengono creati argini più massicci, larghi alla base alcuni metri, i quali si elevano in altezza più di tutte le altre strutture emerse. Su di essi spesso vengono piantate siepi di tamerici, mediante talea; la funzione di tali alberature è duplice: in inverno proteggono dai venti dominanti, in estate permettono alla fauna di rifugiarsi all'ombra durante le ore più calde.

Uno degli aspetti di maggior rilievo che possiamo riscontrare nelle valli è la presenza di folte praterie di piante acquatiche sommerse, visibili in trasparenza appena sotto il pelo dell'acqua. Composizione, densità e associazione vegetale di tali tappeti erbosi dipendono strettamente, anche in questo caso, dalla gestione che ogni vallicoltore attua all'interno della propria valle.

Una prima grande distinzione va fatta tra le piante acquatiche considerate "buone" o "di valore", e quelle considerate dannose. Nel primo caso trattasi della cosiddetta "grisa", termine vallivo che sta ad indicare un insieme di tre specie di fanerogame acquatiche (generi *Zostera*, *Ruppia* e *Stuckenia*) che, tra le varie funzioni, ossigenano l'acqua; i raggruppamenti di specie "dannose" sono costituiti invece da alghe (*Chlorophyta* e *Rhodophyta*), che sottraggono luce e ossigeno sia alla preziosa "grisa" che alla zoocenosi, in particolare gamberetti e fauna ittica, generando spesso fenomeni di marcescenza dei fondali vallivi.

Da un punto di vista prettamente tecnico, le fanerogame sommerse delle valli dipendono sostanzialmente da tre aspetti: la profondità dell'acqua dev'essere mediamente compresa tra 30 cm e 1 metro; in base al tasso di salinità, alla profondità e al passaggio da sabbia a limo vi è una progressiva sostituzione dell'associazione vegetale presente; l'acqua dev'essere sufficientemente ossigenata e limpida, senza strati algali in superficie.

Il tasso di salinità determina la tipologia di piante presenti: i laghi da pesca, con acque mediamente più profonde, presentano una salinità elevata, superiore al 20‰, che favorisce le formazioni a *Zostera noltii*; i laghi intermedi, con una salinità media del 10‰, favoriscono la crescita di dense praterie di *Ruppia cirrosa*; infine, i laghi dolci da caccia con acqua bassa, in espansione presso tutte le valli venete, sono tappezzati da dense formazioni di *Stuckenia (Potamogeton) pectinata*, in grado di crescere anche in acqua prettamente dolce.

Dal punto di vista fitosociologico, queste comunità macrofitiche possono essere definite nel seguente modo: l'associazione *Zosteretum noltii* è inquadrata nell'alleanza *Zosterion marinae*, ed è tipicamente paucispecifica, tendente al monofitismo; l'associazione *Ruppietum cirrhosae*, rispetto all'associazione precedente, predilige substrati meno profondi, meno alini e con un maggior tenore in limo; infine, il raggruppamento a *Stuckenia pectinata*, inquadrato nell'alleanza *Potamion pectinati*, è più affine alle associazioni vegetali fluviali e di lago.

Contrariamente a quanto si può essere portati a pensare, le valli da pesca del Veneto non sono ambienti naturali: esse, difatti, sono state plasmate dall'uomo, in secoli di gestione finalizzata al controllo delle acque e alla raccolta dei prodotti della costa. Esse rappresentano uno dei più straordinari esempi di simbiosi tra uomo e natura, tra esigenze produttive e conservazione della biodiversità.

Bibliografia essenziale

Boatto e Signora, 1985. *"Le valli da pesca della laguna di Venezia"*; Padova

Bullo G., 1940. *"Le valli salse da pesca e la vallicoltura"*

Minio M., 1938. *I naturalisti che studiarono la laguna*. In: G. Brunelli, G. Magrini, L. Miliani, P. Orsi, *"La laguna di Venezia"*. Monografia, vol. III, parte V, tomo IX, Carlo Ferrari, Venezia

Nasci et al., 1982. *"Laguna tra fiumi e mare"*

Ravagnan G., 1992. *Vallicoltura Integrata*. Edagricole, Edizioni Agricole della Calderini s.r.l., Bologna

Rismondo R. e Visentini Romanin M., 1995 – 1996. *"Le componenti abiotica e biotica dei sedimenti come indicatori della qualità dell'ambiente lagunare negli studi del Consorzio Venezia Nuova, Parte prima: La componente abiotica."* In: *"Quaderni Trimestrali"*, Consorzio Venezia nuova, anno III – IV, Venezia

Verza E., Trombin D. (a cura di), 2012. *"Le valli del Delta del Po"*. Ente Parco Regionale Veneto del Delta del Po. Apogeo Editore

5. I principali patogeni dell'ostrica concava e metodologie diagnostiche

Introduzione

A partire dagli anni '60, in seguito a gravi eventi di mortalità che decimarono gli allevamenti di specie autoctone, fu introdotta per la prima volta in Europa una nuova specie di ostrica concava giapponese (*Crassostrea gigas*). La prima introduzione avvenne lungo le coste francesi e, da subito, riscontrò un notevole apprezzamento da parte del consumatore. Oggi la maggior parte della produzione europea di ostriche è rappresentata da questa specie che ha di fatto "soppiantato" le autoctone *Ostrea edulis* e *Crassostrea angulata*, le quali già dalla prima metà degli anni '60 avevano subito gravi eventi di mortalità causati rispettivamente da protozoi (*Marteilia refringens* e *Bonamia ostreae*) e da virus ("gill virus").

Ad oggi, gli agenti patogeni maggiormente segnalati tra le cause di eventi di mortalità in *C. gigas* sono *Ostreid herpesvirus-1 μvar* (*OsHV-1 μvar*), *Vibrio aestuarianus* e, sempre più frequentemente, alcune specie di *Haplosporidia*. Altri patogeni, con impatti minori sulle produzioni, sono *Mikrocytos mackini*, *Vibrio splendidus* e alcuni *Iridovirus*.

OsHV-1 μvar

Ostreid herpesvirus-1 μvar è un virus a DNA lineare a doppio filamento, dotato di capside icosaedrico di dimensioni pari a 150 nm. La prima segnalazione di mortalità probabilmente causata da *OsHV*, conosciuta inizialmente come infezione tipica del periodo estivo o "Summer mortality", avvenne nel 1940 in Giappone, dove *C. gigas* rappresenta una specie autoctona. Seguirono altre segnalazioni ancora in Giappone nel 1974 presso allevamenti a conduzione industriale e contemporaneamente nella costa americana occidentale, in particolare nello Stretto di Puget, in Alaska (1990) e nel nord-est del Messico (1997). Anche se ad oggi non è possibile confermare con certezza che questi eventi siano stati causati da *OsHV-1 μvar*, è da subito apparso evidente che non fosse possibile attribuire l'aumento di mortalità unicamente a una serie di elementi stressanti (incremento anomalo della temperatura dell'acqua, inquinamento). Inoltre le prime indagini al microscopio elettronico confermarono la presenza di *virus simil-herpes* ed *herpesvirus* associati ad aumenti di mortalità presso schiuditoi, giovanili e in ostriche adulte in assenza di lesioni istologiche. Solo a partire dai primi anni 2000 i ricercatori dell'Istituto inglese del Fish Health Inspectorate e dell'Institut Français de Recherche pour la Mer (Ifremer), pur valutando aggravante il concorso di fattori ambientali, attribuirono un ruolo certo all'*Ostreid herpesvirus*, compreso un suo genotipo identificato come *OsHV-1 μvar* (2008).

Dopo un periodo durante il quale si è ritenuto che questa malattia emergente che colpiva *C. gigas* fosse collegata a una crescita elevata della temperatura dell'acqua di allevamento, ricercatori di varie nazionalità iniziarono ad indagare altre possibili concause. Fra queste, le più accreditate sono variazioni di salinità, un'alterazione più o meno brusca della disponibilità del nutrimento, carenza di ossigeno, e la caduta delle resistenze fisiologiche associata alla fase della maturazione sessuale.

Le infezioni da *Ostreid herpesvirus* possono portare a mortalità molto elevate (100%) soprat-

tutto di larve e giovanili, non solo di ostriche concave ma anche di *Ruditapes philippinarum*, *Ruditapes decussatus*, *Ostrea edulis* e *Pecten maximus*. Le larve infette mostrano diminuzione nell'alimentazione, ridotta capacità di nuoto e mortalità totale in pochi giorni. Generalmente la mortalità inizia quando la temperatura dell'acqua supera i 16°C. Numerosi studi hanno dimostrato che *OsHV-1 μvar* è in grado di resistere nelle ostriche sopravvissute e senza sintomi di malattia. Queste stesse ostriche possono comportarsi come portatrici e come riserva del patogeno trasmettendo direttamente il contagio a molluschi sani. La stessa acqua di trasporto può esercitare questo ruolo così come le ostriche morte e quelle in fin di vita possono addirittura rilasciare nell'ambiente un'altissima carica virale. In altri studi, inoltre, è emersa l'importanza che possono assumere i contagi diretti e non con materiali infetti. È stato confermato, per esempio, che i macchinari adoperati in queste attività, anche se vengono tenuti fuori dall'acqua marina per moltissimo tempo, possono veicolare il contagio. Ciò si verifica tanto nel caso di attrezzi o di equipaggiamenti precedentemente infetti, quanto ad opera di acqua marittima introdotta in qualche modo dalle aree colpite. In una ricerca del 2009 condotta da ricercatori Ifremer (La Tremblade) è stata ribadita la possibilità che il virus *OsHV-1 μvar* sia in grado di persistere nelle ostriche sopravvissute e senza sintomi di malattia (Arzul I. et al., 2002; Sauvage C. et al 2009). Queste stesse ostriche possono comportarsi come portatrici e come riserva del patogeno concretizzando la possibilità di una trasmissione diretta del contagio in molluschi sani.

Ne deriva l'esigenza di monitorare questi molluschi nelle varie zone geografiche, al pari del prodotto di schiuditoi e di vivai prima di effettuare il loro trasferimento nella pratica dell'allevamento.

Metodologie diagnostiche

La tecnica di biologia molecolare impiegata per la rilevazione di *OsHV-1 μvar* consiste in una real-time PCR SYBR Green con target una regione conservata del genoma virale di *Ostreid herpesvirus* localizzata sull'ORF 100. Di seguito vengono descritte le modalità operative applicate per la ricerca del patogeno.

Preparazione dei campioni

I campioni possono essere costituiti da ostriche vive, o preferibilmente morenti o appena morte (non decomposte), congelate immediatamente dopo il prelievo o conservate in etanolo. La processazione varia a seconda delle dimensioni delle ostriche:

- a. per le larve, pools di 50 mg di animali interi (compresa la conchiglia) vengono frantumati mediante forbici o bisturi sterili e centrifugati a 1000g per un minuto, unitamente a 200 μl di acqua distillata
- b. per le ostriche giovani, di dimensioni inferiori a 6 mm, i pools di 300 mg di animali interi (compresa la conchiglia) vengono frantumati e centrifugati a 1000g per un minuto, unitamente a 1200 μl di acqua distillata

c. per le ostriche giovani di dimensioni comprese tra 6 e 15 mm, dopo apertura mediante bisturi sterile, tutti i tessuti molli di ogni singolo esemplare vanno omogeneizzati mediante forbici o bisturi sterili ed analizzati in singolo

d. per gli animali di dimensioni superiori a 15 mm, dopo apertura mediante bisturi sterile o coltello apriostriche, vengono isolate porzioni di branchie e mantello di ogni singolo esemplare ed analizzati in singolo

Dopo il prelievo il campione deve essere immediatamente processato oppure conservato a una temperatura $\leq -18^{\circ}\text{C}$.

Estrazione DNA

L'estrazione viene eseguita mediante l'impiego di kit di estrazione commerciale "QIAamp DNA Mini (Qiagen)" seguendo le specifiche del protocollo "DNA Purification from Tissue". Il DNA estratto è mantenuto a temperatura $\leq -18^{\circ}\text{C}$ fino all'esecuzione della PCR.

Successivamente la qualità del DNA estratto e l'efficacia dell'estrazione vengono valutate misurando l'assorbanza (o densità ottica, DO) a 260 nm e a 280 nm. Il rapporto A260/280 viene comunemente utilizzato per valutare la contaminazione del DNA estratto.

Predisposizione dei controlli/materiali di riferimento

In aggiunta ai campioni incogniti la procedura prevede l'inclusione di:

- **Controllo negativo di processo (NPC):** un campione privo di acido nucleico target, processato in parallelo ai campioni in esame a partire dalla fase di estrazione
- **Controllo reagenti di PCR (NTC):** aliquota contenente tutti i reagenti necessari alla reazione di amplificazione ad esclusione dell'acido nucleico sostituito da acqua MBG
- **Controllo positivo di PCR (PTC):** sospensione di DNA plasmidico recante il frammento HVDP-F - HVDP-R di OsHV-1 (preparato e fornito dall'EURL for Molluscs Diseases, Ifremer)

Amplificazione del DNA mediante Real Time PCR

Il DNA estratto è testato per la presenza di *OsHV-1* con real-time PCR SYBR Green, impiegando i seguenti primer:

Primer forward: HVDP-F: 5' ATTGATGATGTGGATAATCTGTG 3' (OIE-2014)

Primer reverse: HVDP-R: 5' GGTAATACCATTTGGTCTTGTTC 3' (OIE-2014)

Espressione dei risultati

La prova di amplificazione viene considerata conforme se i controlli predisposti danno i risultati attesi:

- Controllo positivo di PCR: dopo l'elaborazione dei dati deve presentare una curva di amplificazione regolare, di tipo sigmoidale-esponenziale. Inoltre deve presentare una curva di melting con un singolo picco corrispondente ad una T_m compresa tra $79,5^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$
- Controllo negativo di processo e controllo negativo reagenti di PCR: non deve presentare una curva di melting con picchi corrispondenti a una T_m compresa tra $79,5^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$

Il campione viene definito "positivo" se, dopo l'elaborazione dei dati, presenta una curva di amplificazione regolare, di tipo sigmoidale-esponenziale e presenta una curva di melting a singolo picco con una T_m compresa tra $79,5^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Il risultato viene espresso nel rapporto di prova come "positivo".

Il campione viene definito "negativo" se, dopo l'elaborazione dei dati, non presenta una curva di amplificazione regolare, di tipo sigmoidale-esponenziale e/o non presenta una curva di melting con picchi corrispondenti a una T_m tra $79,5^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Il risultato viene espresso nel rapporto di prova come "negativo".

Il campione viene definito "dubbio" se, dopo l'elaborazione dei dati, presenta una curva di amplificazione non sigmoidale e con un valore di T_m prossimo al limite di positività. In tal caso l'analisi viene ripetuta facendo una nuova diluizione a 5 ng/ μl dell'estratto.

Bibliografia essenziale

Davison A.J., Trus B.L., Cheng N.Q., Steven A.C., Watson M.S., Cunningham C., Le Deuff R.M. and Renault T., 2005. *A novel class of herpesvirus with bivalve hosts*. J. gen. Virol., 86, 41-53

OIE (2014). *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*, Chapter 2.4.9

Pépin J.F., 2013. *Short Technical Report for OsHV-1 detection and quantification by Real Time Polymerase Chain Reaction using OsHV-1 DNA polymerase sequence*. IFREMER (<http://www.eurilmollusc.eu/SOPs>)

Pépin J.F., Riou A., Renault T. 2008. *Rapid and sensitive detection of Ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR*. Journal of Virological Methods 149, 269–276

Segarra A., Pépin J.F., Arzul I., Morga B., Faury N., Renault T., 2010. *Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, Crassostrea gigas, in France*. Virus Research 153: 92–99

Webb S.C., Fidler A. and Renault T., 2007. *Primers for PCR-based detection of Ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): Application in a survey of New Zealand molluscs*. Aquaculture, 272, 126-139

Vibrio aestuarianus

Negli ultimi anni le segnalazioni di fenomeni di mortalità di ostriche giapponesi che vedono *Vibrio aestuarianus* come agente eziologico in presenza o assenza di *OsHV-1 μvar* sono in rapido aumento. *V. aestuarianus* è un batterio Gram negativo, asporigeno e acapsulato, appartenente alla famiglia delle *Vibrionaceae*. Isolato per la prima volta nel 1983 (USA) in granchi, vongole, ostriche e acqua di mare, è stato segnalato per la prima volta in Europa come causa di mortalità in ostriche francesi nel 2001. Dopo alcuni anni di segnalazioni saltuarie e di scarso interesse epidemiologico, a partire dal 2012 è stato indicato come patogeno "riemergente" e i casi di mortalità sono diventati sempre più frequenti. Recenti studi hanno evidenziato la presenza di diversi gradi di virulenza correlati filogeneticamente a differenti ceppi (Vir+, Vir-, intermedio). Tra i fattori di virulenza è stato segnalato il gene *varS*. L'infezione avviene generalmente in tre fasi:

- Fase iniziale: *V. aestuarianus* localizzato esclusivamente nelle branchie dell'ostrica; 2 tipi di lesioni istologiche: lisi del tessuto connettivo subepiteliale del mantello e infiltrazione emocitaria
- Fase intermedia: localizzazione di *V. aestuarianus* in più tessuti; 3 tipi di lesioni istologiche: lisi del tessuto connettivo subepiteliale del mantello; infiltrazione emocitaria e atrofia dei tubuli della ghiandola digestiva
- Fase avanzata: inizio della mortalità; lesioni frequenti in vari tessuti

Metodologie diagnostiche

La rilevazione di *V. aestuarianus* è stata effettuata mediante real-time PCR quantitativa specifica per il gene batterico *dnaJ*.

Preparazione del campione

Nel caso il campione sia congelato, mantenerlo a temperatura ambiente o tra +2°C e +8°C fino al completo scongelamento. I bivalvi, vivi o morti da poco (non in evidente stato di decomposizione), vengono processati in modo diverso dipendentemente dalla loro dimensione, come di seguito riportato:

- a. Per le larve, frantumare mediante mortaio e pestello pool di 50 mg di animale intero (incluso il guscio) in 200 μl di acqua distillata e centrifugare a 1000 g per 1 minuto. Prelevare quindi 100 μl di surnatante per la successiva fase di estrazione
- b. Per spat più piccolo di 6 mm, frantumare mediante mortaio e pestello pool di 300 mg di animale intero (incluso il guscio) in 1200 μl di acqua distillata e centrifugare a 1000 g per 1 minuto. Prelevare quindi 100 μl di surnatante per la successiva fase di estrazione

c. Per spat tra i 6 e i 15 mm, per ogni singolo animale omogenare mediante mortaio e pestello pool di tessuti molli. Prelevare quindi 25-50 mg di omogenato per la successiva fase di estrazione

d. Per individui più grandi di 15 mm, per ogni singolo animale prelevare 25-50 mg di branchia e/o mantello

Dopo il prelievo il campione deve essere immediatamente processato oppure conservato a una temperatura $\leq -18^{\circ}\text{C}$.

Predisposizione dei controlli/materiali di riferimento

In aggiunta ai campioni incogniti la procedura prevede l'inclusione di:

- **Controllo negativo di processo (NPC):** un campione privo di acido nucleico target, processato in parallelo ai campioni in esame a partire dalla fase di estrazione
- **Controllo reagenti di PCR (NTC):** aliquota contenente tutti i reagenti necessari alla reazione di amplificazione ad esclusione dell'acido nucleico sostituito da acqua MBG
- **Controllo positivo di PCR/Standard di quantificazione (PTC/Standard qPCR *V. aestuarianus*):** aliquota contenente tutti i reagenti necessari alla reazione di amplificazione e 5 μl di DNA genomico betterico quantificato e diluito in triplicato (A, B e C) nel range 1×10^1 - 1×10^5 genomi equivalenti/ μl . L'analisi in real-time PCR degli standard di quantificazione, in parallelo ai campioni in esami, permette la costruzione della retta di calibrazione e quindi la corretta quantificazione dei campioni

Amplificazione del DNA mediante realtime PCR

Il DNA estratto è testato per la presenza di *Vibrio aestuarianus* con real-time PCR quantitativa, impiegando i seguenti primer e sonda:

Primer dnaJ-F: 5' GTATGAAATTTTAACTGACCCACAA 3'

Primer dnaJ-R: 5' TCAATTTCTTTTGAACAACCAC 3'

Sonda dnaJ-probe: 5' Texas RedTGGTAGCGCAGACTTCGGCGAC-BHQ2 3'

Analisi ed espressione dei risultati di realtime PCR

La prova viene considerata conforme se i controlli predisposti danno i risultati attesi, ovvero:

- Il controllo reagenti (NTC) ed il controllo negativo di processo (NPC) non presentano curve di amplificazione sigmoidali

- La retta di calibrazione, automaticamente calcolata dal software sulla base dei dati di fluorescenza degli standard, ha un valore di efficienza di PCR "E" compreso fra 75% e 110% (pendenza/slope compresa tra -3.1 e -4.1) ed $R^2 \geq 0.98$

- Tutti gli standard di quantificazione presentano una corretta curva di amplificazione

La prova viene considerata non conforme se i controlli predisposti non danno i risultati attesi e ripetuta partendo dalla fase di estrazione, nel caso di non conformità del controllo NPC, o dalla fase di amplificazione, nel caso di non-conformità del controllo NTC.

Se dopo la ripetizione della reazione di amplificazione la prova risultasse nuovamente non conforme, ripetere nuovamente sostituendo i lotti dei reagenti di realtime PCR e/o gli standard di quantificazione utilizzati.

Un campione viene considerato "positivo quantificabile" ed il relativo valore di concentrazione batterica (espresso come numero di genomi/ μ l) riportato, se presenta una curva di amplificazione sigmoidale e il valore di concentrazione batterica rilevato risulta ≥ 10 genomi/ μ l.

Un campione viene considerato "positivo non quantificabile" ed il relativo valore di concentrazione batterica non riportato, se presenta una curva di amplificazione sigmoidale e il valore di concentrazione batterica rilevato risulta compreso tra 1 e 10 genomi/ μ l.

Un campione viene considerato "negativo" se è soddisfatta una delle seguenti condizioni:

- il valore di concentrazione batterica stimato risulta inferiore a 1 genoma/ μ l
- per tale campione non è stato rilevato alcun valore di Cq
- la curva di amplificazione del campione in esame presenta un andamento atipico non-sigmoidale

Bibliografia essenziale

Ifremer - European Union Reference Laboratory for Molluscs Diseases. *Vibrio aestuarianus detection by Real Time Polymerase Chain Reaction*. <http://www.eurl-mollusc.eu/SOPs>

Ifremer - European Union Reference Laboratory for Molluscs Diseases. *Vibrio splendidus et V. aestuarianus detection by Real Time Polymerase Chain Reaction*. <http://www.eurl-mollusc.eu/SOPs>

Saulnier D., De Decker S., Haffner P., 2009. *Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of Vibrio aestuarianus in oyster and seawater: a useful tool for epidemiologic studies*. J. Microbiol. Methods. 77 (2): 191-197. doi: 10.1016/j.mimet.2009.01.021

Saulnier D., De Decker S., Tourbiez D., and Travers M. A., 2017. *Development of a duplex Taqman real-time PCR assay for rapid identification of Vibrio splendidus - related and V. aestuarianus strains from bacterial cultures*. J. Microbiol. Methods. 140:67-69. doi:10.1016/j.mimet.2017.07.002

Haplosporidia

Tra i parassiti protozoi che colpiscono i molluschi bivalvi, gli *Haplosporidia* sono tra quelli maggiormente coinvolti in eventi di mortalità sia in bivalvi allevati sia selvatici. Gli *Haplosporidia* sono uno dei 5 ordini della classe *Ascetosporea* ed include specie in grado di infettare molluschi, crostacei ed anellidi, sia in ambiente marino che in acqua dolce. Sono descritte più di 40 specie distribuite in 4 generi: *Haplosporidium*, *Minchinia*, *Bonamia* e *Urosporidium*. Le specie più studiate sono *Haplosporidium nelsoni* e *Bonamia ostreae*, responsabili di mortalità rispettivamente in *Crassostrea spp.* ed *Ostrea edulis*. Inoltre nel 2019 è stata segnalata per la prima volta la presenza di un'altra specie, *Haplosporidium costale*, in allevamenti di *C. gigas* della costa atlantica francese. *H. costale*, già segnalato in USA, Canada e Cina, può causare una mortalità stagionale (maggio/giugno) di circa il 20% in *Crassostrea virginica*. Gli effetti che questo patogeno potrebbe causare sugli allevamenti di *C. gigas* non sono ancora noti. Sempre un *Haplosporidium*, *Haplosporidium pinnae*, che dal 2018 è coinvolto in pesanti mortalità di *Pinna nobilis* in Mediterraneo, è tuttora oggetto di numerose ricerche. Allo stesso modo, un'altra specie di *Haplosporidium*, coinvolto in episodi di mortalità in mitili (*M. galloprovincialis*) allevati in Laguna di Venezia, ha causato una mortalità complessiva stimata del 20%. L'agente eziologico sembra essere una specie mai segnalata prima in Mediterraneo. Analisi per indagare la possibile veicolazione di questi nuovi patogeni ad altre specie ospiti sono tuttora in corso. È necessario infatti, viste le recenti segnalazioni di nuove specie di *Haplosporidia* in differenti areali, monitorare lo stato di salute di molluschi di interesse alimentare quali le ostriche in modo da comprendere il loro ruolo (ospite e/o vettore) nel ciclo vitale di questi patogeni.

Metodologie diagnostiche

La presenza di *Haplosporidium* sp. e di altri patogeni notificabili, quali *Mikrocytos mackini* e *Perkinsus marinus*, è stata valutata mediante analisi istologica.

Apertura e fissazione dei molluschi

Il numero standard da analizzare è di 10 soggetti vivi. Nel caso di prelievo di molluschi a seguito di mortalità anomala il numero di soggetti da analizzare è di 30 esemplari vivi.

- Pulizia esterna: rimozione della sporcizia e del materiale grossolano eventualmente presente esternamente con lavaggio sotto acqua corrente
- Prelievo del campione: i tessuti molli del mollusco vengono prelevati, separandoli dai tessuti mineralizzati, mediante l'uso di strumenti adeguati (coltello o bisturi), prestando attenzione a non danneggiare gli organi. Se necessario rimuovere i residui di sabbia sotto l'acqua corrente con l'aiuto di un colino. I campioni vengono poi inseriti in contenitore istologico opportunamente identificato con il numero di accettazione del campione e la data
- Fissazione: sotto cappa chimica aggiungere il fissativo di Carson/Davidson rispettando

un rapporto tra volume del campione e fissativo di 1:10. Sui contenitori istologici, identificati con numero di accettazione e data, viene riportata l'ora di inizio della fissazione e vengono, successivamente, riposti in armadio aspirato. Qualora la soluzione si intorbidisse durante il periodo di fissazione va sostituita

- Se viene fissata una porzione di mollusco è importante che comprenda gli organi significativi per effettuare la procedura di prova (generalmente branchie, ghiandola digestiva, mantello, gonade e piede muscolare)
- Tempo minimo di fissazione 24 ore
- Riduzione e processazione
- Il mollusco fissato, viene ridotto sotto cappa chimica mediante l'uso di strumentazione adeguata (impugnatura con lama monouso, panni assorbenti per formaldeide) ad una sezione di alcuni millimetri di spessore (circa 5 mm), che comprenda gli organi significativi
- La sezione viene posta in una biocassetta, precedentemente identificata a matita (numero di accettazione e numero del soggetto) e la processazione viene eseguita dal laboratorio interno di Istopatologia

Lettura preparati istologici

La lettura del preparato istologico avviene tramite osservazione al microscopio ottico e confronto con materiale di riferimento o con il materiale iconografico disponibile e descrittivo che fa parte della letteratura corrente in campo istopatologico. L'esame comprende una prima valutazione del preparato a basso ingrandimento (4X-10X), a cui segue una valutazione ad ingrandimento medio (25X-40X). In funzione del preparato è possibile eseguire lettura con obiettivo 100X con olio ad immersione. La lettura del preparato istologico comprende la descrizione morfologica e l'eventuale diagnosi eziologica.

Espressione dei risultati

L'espressione del risultato è qualitativa e consiste nell'identificazione diretta dell'assenza o presenza dei parassiti dell'ordine Haplosporidia e di altri protozoi patogeni presenti nel campione.

Bibliografia essenziale

Grizel H., 2003. *An atlas of histology and cytology of marine bivalve molluscs*. Ifremer
Howard D. W., Lewis E. J., Keller B. J. e Smith C. S., 2004. *Histological techniques for marine bivalve molluscs and crustaceans*. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 5

Analisi immunoistochimica

L'analisi immunoistochimica è stata eseguita su un totale di 6 lotti campionati a Valle Basegia (Cavallino) e nel sito a mare Caorle nei mesi di luglio (2021), ottobre (2021) e febbraio (2022). I marcatori utilizzati sono la malondialdeide (MDA) e la nitrotirosina (NT). In particolare, MDA è un marker dello stato perossidato dei tessuti biologici, causato da stress endogeno o esogeno in seguito all'esposizione a perossido di idrogeno; la malondialdeide è un composto intermedio della perossidazione lipidica: un aumento dei suoi livelli negli organismi può essere correlato ad un calo della qualità dell'ambiente in cui essi vivono. La nitrotirosina è un prodotto della nitrificazione della tirosina mediata da specie reattive: essa viene rilevata in alcune condizioni patologiche e considerata come marker dello stress ossidativo dipendente dall'ossido di azoto. Entrambi i parametri sono stati misurati nella ghiandola digestiva, nel connettivo viscerale, in branchie e mantello.

Metodologia immunoistochimica

Allestimento dei preparati immunoistochimici:

- Fissare sezioni trasversali (circa 5 mm) in paraformaldeide al 4% a 4°C
- Dopo 48 h, lavare i tessuti in acqua distillata, disidratarli e includerli in paraffina
- Tagliare sezioni di circa 3 µm utilizzando un microtomo, deparaffinarle in xilene, reidratarle con etanolo a concentrazione progressivamente decrescente e lavarle in acqua distillata
- Montare le sezioni seriali aver montato nei vetrini depolarizzati (Marienfeld, DE)
- Incubarle in Cell Conditioning Solution (Roche, SA) a 97°C per 15 min e in EnVision FLEX (Dako, USA) a temperatura ambiente per 10 min
- Incubare i vetrini overnight a 4°C con policlonale di coniglio Antisiero MDA, diluizione 1:1500 (Abcam, Regno Unito) e monoclonale di topo Antisiero NT, diluizione 1:1000 (Genetek, USA)
- Predisporre il controllo negativo incubando le sezioni con PBS anziché con lo specifico anticorpo
- Incubare le sezioni con sistema di rilevamento EnVision FLEX/HRP (Dako, USA) e il cromogeno EnVision FLEX Substrate Buffer DAB (Dako, USA)
- Controcolorare i vetrini con ematossilina EnVision FLEX (Dako, USA)

Espressione dei risultati

I preparati immunoistochimici vengono letti al microscopio ottico; la positività viene rilevata grazie alla presenza di immunoprecipitati di colore rosso e i risultati espressi come positivo (debole, moderato o elevato) o negativo.

6. La scelta delle aree vallive idonee all'allevamento e le tecnologie impiegate

Allevamento di ostriche off-shore

Vantaggi:

- Acqua classificata "zona A" ossia senza bisogno di far passare il prodotto raccolto per la fase della depurazione. Riduzione dei pericoli da esposizione ad agenti inquinanti provenienti dalla terraferma
- Notevole stabilità dei parametri ambientali fisico-chimici rispetto ad ambienti costieri e di transizione. Temperature e salinità relativamente costanti o variabili generalmente in tempi lunghi.
- Grande disponibilità di spazio. Sia la profondità che l'estensione superficiale disponibile in mare sono maggiori

Svantaggi:

- Accessibilità limitata. Trattandosi infatti di mare aperto non tutti i giorni è possibile uscire per lavorare. In caso di vento forte o mareggiate, l'equipaggio rimane a terra a volte per diversi giorni prima che le condizioni ritornino favorevoli. E' da tenere presente che il lavoro sugli allevamenti long-line si svolge con la barca ormeggiata a travi lunghe un chilometro alle quali sono appesi gli attrezzi per allevare i molluschi, mitili e ostriche. Pertanto la motobarca attrezzata per lavorare sulle linee rimane vincolata a queste e in caso di maltempo non può mettersi prua al mare come un peschereccio che invece è libero di modificare la sua rotta. Inoltre risulta anche difficile, se non impossibile, disporre di adeguati spazi a terra per compiere le lavorazioni sul prodotto in ambienti più confortevoli di quanto non sia l'imbarcazione di servizio
- Ingenti costi di gestione dovuti alle importanti dimensioni delle imbarcazioni di servizio e al numeroso personale necessario per la conduzione
- Condizioni oligotrofiche che nell'arco dell'anno, frequentemente, si possono ripetere rendendo la qualità delle acque non ottimale per le esigenze di crescita e ingrasso di qualità per i molluschi

Allevamento in valle da pesca

Vantaggi:

- Facile accessibilità. Generalmente si può raggiungere il sito operativo con un comune mezzo stradale

- Economicità e semplificazione delle dotazioni sia strutturale che strumentali
- Condizioni di eutrofizzazione favorevoli, ricchezza di nutrienti

Svantaggi:

- Estrema variabilità dei parametri chimico-fisici delle acque, soprattutto temperatura e salinità. Maggiore potenziale esposizione ad agenti inquinanti di varia natura provenienti dalla terraferma
- Spazi effettivamente utilizzabili di estensione limitata

Individuazione dei siti vallivi idonei all'ostricoltura

Già da molti anni si allevano mitili, vongole e ostriche sia in mare che in laguna ma non si era mai provato ad utilizzare gli ampi spazi vallivi presenti nel nostro territorio. Da Bibione a Rovigo si susseguono le zone umide di acqua sia dolce che salata. Questo progetto si propone di indagare le modalità che permettono di sfruttare al meglio le caratteristiche dei due diversi siti, mare aperto e valli da pesca, per allevare ostriche concave nei due ambienti. Sono state infatti testate differenti tecniche nelle diverse fasi di crescita allo scopo di individuare le più vantaggiose.

Nell'individuazione della valle è stata data priorità a tre caratteristiche:

- I valori di salinità
- Il ricambio di acqua con il relativo apporto di nutrienti
- La compatibilità della gestione valliva con l'attività venatoria

Riguardo quest'ultimo punto, si sottolinea che la presenza di personale che entra ed esce dalle zone dei laghi disturba il delicato equilibrio delle zone dedicate all'attività venatoria peraltro importante introito nei bilanci delle valli. Gli esperti capovalle, per creare l'ambiente favorevole alle soste di uccelli selvatici, creano appositamente spiaggette e fanno crescere erbe palustri e alghe che attraggono gli uccelli migratori. Questi artificiali addolcimenti dei grandi specchi d'acqua non si combinano con l'allevamento dei molluschi poiché questi ultimi necessitano di salinità costante e più elevata. Pertanto sono state valutate di volta in volta le valli che praticano la caccia, sia per quanto riguarda i valori di salinità modificati artificialmente, sia perché in tali aree non è consentito in alcuni periodi dell'anno l'accesso di altri operatori. Disturbo reciproco che sicurezza sono due ulteriori parametri che sono stati considerati.

La prima fase del progetto è stata dedicata alla verifica dell'idoneità dei siti vallivi.

Valnova (Caorle)

Le analisi preliminari, riguardanti le caratteristiche fisico-chimiche del sito, hanno evidenziato valori di salinità intorno al 9‰, incompatibili con l'accrescimento ottimale delle ostriche concave.

Valle Falconera (Cavallino)

Pur essendo idonea relativamente ai valori di salinità, pari a 15 - 20‰, problematiche di tipo amministrativo riguardanti la concessione delle acque non ha reso possibile l'utilizzo di questa valle.

Valle Bonello (Porto Tolle - Delta del Po)

Sito vallivo molto promettente come caratteristiche di salinità e ricambio di acqua, già utilizzato per allevamento di novellame di vongole veraci (*R. philippinarum*), anche questo non è stato utilizzabile per problematiche amministrative relative ad un passaggio di gestione del sito.

Le suddette valli sono quindi state scartate dall'attività di ricerca

Una successiva indagine ha permesso di individuare e scegliere come idonee le due valli: **Averto/AMA** (Campagna Lupia) e **Basegia** (Cavallino)

Valle Ama - Averto (Campagna Lupia)

Favorevoli i valori di salinità e buon ricambio di acqua. Si individuano tre diversi punti di installazione degli impianti sperimentali. Due di questi sono nel lago di valle. Il primo nel bacino principale e l'altro in prossimità di un manufatto in cemento che supporta le griglie di una chiavica per dare acqua al lago. Un terzo impianto si realizza all'interno di un piccolo lago di circa 3 ettari aperto alla marea e pertanto con variazione di profondità d'acqua e un ottimo ricambio della stessa. Proprio in questo lago si sono testati degli attrezzi, sia reperiti sul mercato che autocostruiti su progetto proprio, che per effetto della escursione della marea ruotano e fanno uscire le ostriche dall'acqua, lasciandole all'aria diverse ore, prima che la marea riprenda a salire di nuovo. Il movimento autonomo degli attrezzi risulta fondamentale nel lavoro sui giovanili in quanto il lento e leggero movimento degli animali tra loro mantiene sotto controllo la crescita e conferisce all'ostrica una forma quasi ovale.

Valle Basegia (Valle Cavallino di Jesolo)

Questo sito presenta tutte le caratteristiche ottimali per le prove che si intende effettuare: salinità buona, mancanza di immissari di acqua dolce o scoli di acqua dalle campagne circostanti, area non dedicata alla caccia ma classificata oasi faunistica, fondale almeno parzialmente sabbioso, lago aperto alle maree con buone escursioni di ricambio. Nell'area individuata sono stati installati due filari con i diversi attrezzi, sia reperiti sul mercato che appositamente progettati e autocostruiti, dotati di galleggianti per la rotazione con le variazioni di marea. Particolare attenzione è stata dedicata alla verifica della crescita delle diverse semine per il confronto con gli esemplari seminati in mare aperto. In questo sito a differenza di Valle Averto, non si sono riscontrati attecchimenti di balani e le ostriche anche dopo molti giorni risultavano molto pulite e levigate a dimostrazione che un buon ricambio di marea faceva funzionare egregiamente la

rotazione delle ostriche all'interno dei cestini. In mare questo movimento deve essere ricreato artificialmente con importante impiego di risorse in termini di tempo e lavoro. Questo fattore si somma ad altri da considerare nella gestione dell'allevamento in mare.

Tecnologia di allevamento in valle

Le prove svolte in valle, sia con gli attrezzi galleggianti del tipo "poches" sia con i cestini di tipo "australiano", hanno evidenziato alcune costanti. Una di queste è la presenza diffusa di *Polydora*, parassita commensale dell'ostrica che, come noto, comporta la formazione di camere di fango all'interno del guscio. L'altra caratteristica, riscontrata sia nei laghi di valle che nelle peschiere, è l'idrodinamismo in genere molto debole. Fortunatamente, il problema della tendenza ad accatastarsi delle ostriche negli attrezzi è molto ridotto rispetto a quanto avviene in mare, grazie sia alla forma dei contenitori che alla maggiore facilità di intervento sugli stessi. Infatti le pôches a fondo piatto vengono tenute in piano dai galleggianti in modo da permettere alle ostriche di stare le une a fianco alle altre e non sovrapposte; inoltre, nei cestini muniti di galleggianti le prove effettuate hanno dimostrato che le ostriche, anche in pochi centimetri d'acqua, vivono e crescono opportunamente. La gestione, la pulizia e la loro movimentazione avviene in semplicità da una barca a fondo piatto, con un semplice attrezzo manuale composto da un'asta e un gancio. In particolare le pouches vengono lavorate e girate in breve tempo e i cestini con galleggianti laterali hanno mostrato eccellenti risultati in ambiente aperto alle escursioni di marea poiché queste ne consentono la rotazione automatica. Gli effetti delle lavorazioni hanno conseguenze favorevoli anche sull'incidenza di *Polydora*. Questo polichete si insedia sul guscio delle ostriche scavando delle gallerie fino al margine della valva, dal quale si sporge per sfruttare il flusso di acqua creato dall'ospite per filtrare anch'esso i microelementi di cui si nutre. Il successo della sua diffusione è favorito dalla presenza di fango e dalla staticità dell'acqua. La continua levigazione e, soprattutto, le emersioni periodiche favoriscono invece la robustezza dell'ostrica e, di conseguenza, una maggiore resistenza nei confronti di questo parassita. La quantità di prodotto contenuta in dieci attrezzi scelti per l'allevamento in valle (poches e cestini) corrisponde a quella di una lanterna a dieci ripiani appesa in mare. Pertanto, a fronte di una notevole semplificazione in termini di mezzi e accessibilità, il lavoro aumenta considerevolmente per quanto riguarda il numero di contenitori da gestire quotidianamente. Questi infatti, analogamente a quanto avviene in mare, aumentano periodicamente di numero a ogni operazione di diradamento. Tale processo si utilizza per mantenere la corretta densità all'interno di ciascun contenitore attraverso la riduzione del numero degli individui che crescendo aumentano di volume. La **prova sulle pouches** è stata fatta applicando ad ognuna due barre in schiuma di polietilene ad alta densità (HDPE foam), una per lato, in modo da farle galleggiare mantenendo le ostriche in acqua a una decina di centimetri dalla superficie. Per riprodurre artificialmente l'effetto delle maree e della periodica esposizione all'aria, le ostriche venivano girate sul dorso e lasciate all'asciutto per il tempo desiderato. Il ciclo di emersione testato era circa di sei-otto ore al giorno. Questo per permettere alle ostriche di eliminare i parassiti (*Polydora*) e di abituarsi a rimanere ben chiuse in attesa di tornare in acqua. Differente è stata la prova eseguita con i **cestini australiani**. Questi ultimi sono stati appesi a filari di

corda sottesa tra pali ad una distanza dal fondo prestabilita in modo che il variare dell'alta e della bassa marea potesse scoprire contenitori e animali per tutta la durata della bassa marea. Inoltre, sul lato dei cestini opposto a quello di ancoraggio alla cima sono stati applicati dei galleggianti, determinando così un moto rotatorio del cestino ad ogni escursione di marea. L'alternarsi dell'uscita ed entrata in acqua e della rotazione hanno prodotto un duplice effetto, soprattutto sui giovanili. Da un lato il muscolo adduttore, che aiuta gli animali a rimanere più a lungo e più ermeticamente chiusi, è stato rafforzato, dall'altro, per effetto della abrasione dovuta al rotolamento, è stato ridotto il dente di crescita. Questa tecnica permette inoltre di ottenere molluschi dal guscio libero da incrostazioni di serpulidi e altri epibionti e dalla forma particolarmente regolare e robusta. Test effettuati in parallelo sia su campioni di cestini lasciati liberi di ruotare con la marea sia sui medesimi cestini con movimento bloccato hanno dimostrato che solo nei primi il movimento "arrotava" le conchiglie. I cestini lasciati liberi di ruotare dunque hanno prodotto ostriche con forma molto concava, mentre con l'utilizzo della seconda tipologia di cestini le ostriche hanno assunto forme allungate e poco concave, simili a quelle delle ostriche allevate in mare. Con la prova in valle è stato constatato che i tempi di crescita nell'arco dell'anno non sono molto diversi rispetto a quelli di ostriche allevate in mare: le alte temperature dell'acqua in estate e le basse in inverno registrate in valle hanno compensato la maggiore crescita nelle stagioni di primavera e autunno rispetto al sito a mare. D'altra parte, il mare si riscalda e si raffredda più lentamente e perciò anche in inverno inoltrato le temperature permettono agli animali allevati a mare di continuare a crescere. Un altro punto chiave, in termini di crescita, è sicuramente la presenza di nutrimento (fitoplancton), molto più presente nelle acque di valle che in mare aperto.

Tecnologia di allevamento in mare

Quando le ceste sono immerse verticalmente nell'acqua e appese alle travi, con la corrente marina sempre presente, a volte anche molto forte in occasione del plenilunio e del novilunio, la spinta dell'acqua sulla rete fa in modo che la cesta si inclini in favore di corrente e le ostriche si accumulino tutte nello spicchio di ripiano più basso, aumentando così la concentrazione di animali in uno spazio ristretto. Lasciando le ostriche per giorni in questa posizione, le une sulle altre, si innesca tra loro una forma di antagonismo alimentare, nel quale gli animali cercano di allungarsi verso il cibo portato dalla corrente e spingendo la loro crescita in avanti, allungando il loro guscio. In questo modo in breve tempo tutte le ostriche contenute nell'attrezzo assumono una forma allungata non gradita al mercato che nomina questi animali "pen", letteralmente penne. Per ovviare questo inconveniente, sono state testate varie forme di attrezzi tra i quali lanterne modificate con girelle e pale, per consentirne la rotazione sfruttando la velocità della corrente. Tuttavia, a causa della complicata gestione quotidiana della pulizia, esse si sono dimostrate poco efficienti. Si è tentato quindi di sfruttare la forza del mare e lo scuotimento provocato dalle onde appendendo le lanterne poco sotto la superficie in modo da sfruttare al massimo il movimento. Anche questo espediente è risultato poco efficace e ha portato solamente a rotture degli attrezzi, senza risultati dal punto di vista del movimento delle ostriche al loro interno. Inoltre, anche il fouling ha influito negativamente, accentuando tali effetti. Ad

esempio, durante il periodo del passaggio naturale del seme di cozza che in genere avviene a fine inverno e verso metà estate, la gestione degli attrezzi in mare si complica ulteriormente. Il seme molto piccolo infatti può entrare nelle ceste e attaccarsi alle ostriche ed anche pulizie esterne molto minuziose non riescono a pulire interamente gli attrezzi. I mitili, continuando a crescere sia all'esterno della cesta che al suo interno, tappano le maglie della rete impedendo la circolazione dell'acqua e incollando le ostriche con il loro bisso. In questo modo aumenta in modo esponenziale anche l'antagonismo tra ostriche, che è accentuato anche dalla presenza dei nuovi animali. Infatti, essendo anch'essi filtratori di fitoplancton, contribuiscono alla riduzione di nutrimento pro capite con conseguenze su qualità/quantità della carne dell'ostrica, che in questi periodi smagrisce per mancanza di cibo. Per far fronte alle problematiche descritte, si applicano delle specifiche lavorazioni sia al prodotto che alle attrezzature. In particolare si alano (sollevano) le lanterne contenenti le ostriche per farle uscire dall'acqua, dopodiché si sottopongono a lavaggio sia le reti che gli animali con getti più o meno forti di acqua di mare a seconda della taglia. Per questa fase della lavorazione è stato ideato, progettato e fatto costruire un apposito dispositivo. Si tratta di un rotobarile che consiste in un cilindro, costruito in tondino di acciaio, posto orizzontalmente sul ponte della barca in grado di ruotare meccanicamente sul proprio asse. Esso ha dimensioni sufficienti per alloggiare due lanterne, le quali, mentre vengono fatte ruotare, sono sottoposte ad un getto d'acqua a pressione. In questo modo le ostriche all'interno subiscono contemporaneamente il doppio trattamento di rotolamento e lavaggio. Successivamente, gli animali vengono lasciati sotto coperta della barca per più tempo possibile, anche fino al giorno successivo. Questo procedimento consente di far seccare la conchiglia, che in questo modo si pulisce da parassiti ed alcuni epibionti, e al contempo permette di rafforzare il muscolo adduttore dei molluschi, migliorandone così la capacità di resistenza fuori dall'acqua. Gli effetti di questo trattamento si rivelano particolarmente utili per la freschezza e per la sopravvivenza dell'ostrica dopo la sua raccolta. La lunghezza della shelf-life rappresenta infatti un valore aggiunto particolarmente importante per la qualità complessiva dell'ostrica.

7. Risultati

7.1 Dati di accrescimento in valle-mare

I dati di accrescimento delle ostriche nei 3 siti oggetto della ricerca (valle AMA, valle Basegia e mare Caorle) sono stati raccolti con cadenza trimestrale in concomitanza con i campionamenti del biota eseguiti per le analisi istochimiche e molecolari.

In particolare, le misurazioni sono state effettuate su 3 differenti lotti per ciascun sito di allevamento; per ciascun lotto sono stati misurati peso, peso conchiglia, peso polpa e taglia su 10 esemplari e in seguito sono state calcolate media e mediana dei valori misurati.

In valle AMA e nel sito a mare le misurazioni morfometriche sono iniziate a febbraio 2021, mentre in valle Basegia, dove le ostriche sono state posizionate in primavera 2021, i primi dati sono stati raccolti a luglio dello stesso anno. Inoltre in valle AMA, a causa della mancanza di prodotto, non è stato possibile effettuare l'ultimo campionamento (febbraio 2022).



I grafici sono stati costruiti sulle mediane dei dati raccolti tra febbraio 2021 e febbraio 2022 relativi ad un lotto di ostriche acquistato ad ottobre 2020. La taglia è stata misurata come lunghezza della conchiglia e misurata in cm. Quanto emerge è che le valli mostrano performance di crescita migliori rispetto al sito a mare. Prendendo in considerazione la taglia finale delle ostriche in valle Basegia (mediana: 9.7 cm), ad esempio, si può notare che essa è superiore a quella riscontrata a Caorle (mediana: 8.3 cm). Anche valle AMA, se confrontata con il sito a mare mostra crescite migliori (AMA: 8.1 cm rispetto a Caorle: 6.8 cm ad ottobre 2021). Il confronto tra i dati raccolti nelle due valli mostra risultati molto simili, anche se in valle AMA sono state registrate crescite leggermente superiori.



Analogamente a quanto riportato per la taglia, anche per il peso i grafici sono stati costruiti su dati raccolti tra febbraio 2021 e febbraio 2022 e relativi allo stesso lotto di ostriche. Il peso dell'intero animale vivo è stato registrato in grammi. I valori di crescita compresi tra febbraio e luglio 2021 (disponibili solo per il sito a mare e per valle AMA) evidenziano un peso medio superiore per le ostriche allevate a mare (13.33 g) rispetto a quelle di valle (7.05 g) nonostante la taglia media sia la stessa (5.1 vs 4.9 cm). La differenza sostanziale è rappresentata dal peso medio della conchiglia, che è circa il doppio (7.72 g) a mare rispetto a quello in valle (3.9 g), e della carne (0.98 g mare Caorle e 0.74 g valle AMA). Al contrario, tra luglio ed ottobre entrambe le valli mostrano crescite superiori rispetto all'allevamento a mare con un peso medio compreso tra i 45 e i 47 g rispetto ai 26.6 g di quest'ultimo. Le misurazioni nel sito a mare sono proseguite anche a febbraio 2022, evidenziando un peso medio di 46.45 g nel sito a mare e quindi confrontabile con i valori ottenuti nelle valli già ad ottobre dell'anno precedente.

Dall'analisi dei dati si evince dunque che le ostriche allevate a mare, hanno migliori performance di crescita nel periodo primaverile e di inizio estate, mentre le ostriche allevate in valle mostrano crescite migliori da metà estate fino a fine inverno, consentendo a queste ultime di raggiungere un peso di circa 50 g 4 mesi prima rispetto al sito a mare. Per quanto riguarda la percentuale di polpa sul totale del peso il valore più alto corrisponde al sito mare Caorle (15.8%) seguito da valle AMA (13.3%) e infine da valle Basegia (12.8%). Tutti i siti oggetto di studio consentono dunque di produrre ostriche "special", ovvero con carnosità >10.5%.

7.2 Dati ambientali correlati alla crescita e nei diversi ambienti

Per il monitoraggio dei dati ambientali è stato utilizzato il sistema della ditta Tecnos. Questo sistema integrato, già utilizzato per il monitoraggio degli allevamenti ittici su gabbie a mare, ha permesso di monitorare da terra i parametri chimico-fisici in tempo reale dei tre siti nei quali è stata eseguita l'attività di allevamento.

Il sistema è costituito dalle seguenti componenti principali:

- Sistema di comunicazione dati tra la boa e la postazione a terra
- Postazione su boa con il compito di acquisire tutte le informazioni dai sensori e inviarle a terra
- Software su web con il compito di acquisire i dati dalle boe e memorizzarli su un database centrale

In prossimità degli allevamenti è stato installato un sistema di acquisizione dati che rileva, attraverso degli opportuni sensori i seguenti parametri:

- Ossigeno disciolto con tecnologia ottica
- Temperatura

- Torbidità
- Salinità
- Clorofilla
- Batteria
- Posizione GPS

Il sistema è costituito da opportuni sensori e da una centralina di acquisizione che memorizza i dati e li invia a terra per mezzo del sistema di trasmissione.

Sulla piattaforma è presente un sistema autonomo, alimentato da un pannello solare, in grado di acquisire tutte le informazioni e trasmetterle a terra. La trasmissione dei dati alle postazioni a terra viene effettuata per mezzo di un collegamento Internet basato su rete GPRS grazie ad apposita SIM card.

I dati trasmessi vengono quindi ricevuti a terra secondo le modalità relative al mezzo di trasmissione utilizzato. Una volta ricevuti i dati vengono memorizzati all'interno di un Database centralizzato che li rende disponibili attraverso un collegamento Internet o Intranet con accesso sicuro secondo gli standard attuali. Il software cartografico di visualizzazione si collega a tale database e visualizza in tempo reale i dati ricevuti dagli allevamenti. Inoltre, esso permette di visualizzare i dati storici per mezzo di grafici o report su tabella.

L'alimentazione elettrica è fornita da un pannello solare dotato di apposita batteria dimensionata in modo da garantire un funzionamento continuo anche di notte.

Note generali sui parametri oggetto di registrazione

OSSIGENO: i valori dell'ossigeno disciolto sono il risultato della somma dei processi di tipo chimico-fisico e biologico. In assenza di attività biologica la concentrazione è principalmente influenzata dalla temperatura e dalla salinità. I processi biologici di respirazione e produzione danno origine a condizioni rispettivamente di sotto o sovra-saturazione. I picchi massimi vengono registrati nel tardo pomeriggio dopo che il processo di fotosintesi ha arricchito l'acqua di ossigeno. Nelle ore notturne, invece, in cui il processo prevalente risulta essere la respirazione, l'ossigeno viene consumato fino a raggiungere i valori minimi nelle ore prima dell'alba. La sua rarefazione o una riduzione violenta della sua pressione parziale può causare importanti eventi di mortalità. La concentrazione di ossigeno in acqua è inversamente proporzionale alla temperatura ed è invece favorita da vento e correnti ma anche dalla fotosintesi, fenomeni che si verificano negli strati superficiali delle acque. Al contrario la respirazione degli animali, dei vegetali (di notte) e dei batteri, nonché i fenomeni di ossidazione ne diminuiscono la concentrazione. Occasionalmente l'equilibrio si rompe ed in alcune aree, a seguito della mancanza di ricambi idrici, dell'aumento eccezionale di materiale organico, della risalita di acque profonde poco ossigenate o della densità troppo alta di molluschi, si verificano episodi di morie di massa

soprattutto in estate. La domanda di O_2 raddoppia da 16 a 28°C e triplica da 10 a 28°C. Sotto il 70% di saturazione la vita dei bivalvi è compromessa e questi riescono a sopravvivere, in caso di situazioni limite, circa 15 giorni tenendo le valve chiuse.

TEMPERATURA: le temperature delle acque sono direttamente dipendenti da quelle atmosferiche e dalla radiazione incidente. Generalmente più costante in mare e meno in valle/laguna. La concentrazione di ossigeno dipende dalla temperatura in modo inversamente proporzionale. *C. gigas* è una specie euriterma, sopporta relativamente bene ampi intervalli di temperatura ma gli effetti dipendono dallo stato fisiologico e di sviluppo degli individui. La temperatura ha un effetto notevole sulla gametogenesi, sull'emissione dei gameti, sulla sopravvivenza e la crescita delle larve. La temperatura ha un effetto anche sull'attività di filtrazione: sotto 3°C è quasi nulla e rimane debole fino a 8°C, mentre l'attività massima si registra a temperature di 16-23°C. Il gelo rallenta il metabolismo e, combinato alla formazione di cristalli di ghiaccio intramuscolari, impedisce la contrazione del muscolo adduttore con accumulo di detriti a livello branchiale. Inoltre il ghiaccio provoca delle rotture della conchiglia e la formazione di blisters. A bassissime temperature si ha una debilitazione del sistema immunitario.

SALINITÀ: nelle zone costiere la salinità è variabile: vicino alla foce dei fiumi, in periodi di piena, la salinità diminuisce fortemente, nelle zone chiuse invece come le lagune o i laghi salati l'evaporazione durante i mesi estivi porta ad un incremento della salinità. Come la temperatura anche la salinità ha un'influenza importante sull'attività dei bivalvi e, anche se questi tollerano variazioni relativamente importanti, la crescita è compromessa sotto il 20‰ mentre è ottimale tra 32 e 37‰. Esiste una correlazione tra salinità e temperatura, ovvero più aumenta la salinità più l'esigenza termica è alta. La salinità: viene misurata come ppt (parts per thousand). Per l'ostrica è bene che non scenda al di sotto di 25 ppt. (25‰). È soggetta a innalzamenti o diminuzioni in base ad eventi di siccità o piovosi che incidono sulla portata dei fiumi. L'acqua di valle/laguna è più influenzata dell'acqua di mare.

TORBIDITÀ: la torbidità indica la presenza di materiale organico e inorganico in sospensione e modifica le proprietà fisiche e chimiche dell'acqua soprattutto a livello di penetrazione della luce con conseguenze sulla produzione primaria. La torbidità può essere sia provocata da cause naturali sia da scarichi/smottamenti derivanti da attività umane. Essa ha un'influenza notevole sulla molluschicoltura poiché è legata a numerosi fattori come le correnti e le mareggiate che rimettono in sospensione il particolato depositato sul fondo, gli apporti continentali soprattutto dopo le piene di fiumi e torrenti e la proliferazione stagionale di fitoplancton e zooplancton caratteristica della primavera-autunno. La torbidità ha un'influenza diretta sulla filtrazione. In presenza di grandi quantità di particolato, le ostriche aumentano la frequenza di apertura e chiusure delle valve, causando movimenti bruschi che permettono di evacuare le pseudofeci (particelle + muco), liberando così la superficie delle branchie ed evitando il loro intasamento. In caso di torbidità eccessiva, le attività di filtrazione e di respirazione vengono compromesse. Le larve invece sono più sensibili alla torbidità e la loro crescita viene praticamente fermata in

presenza di quantità di limo >1,5 g/l. La torbidità risulta però proteggere le uova dai raggi UV.

CLOROFILLA: la presenza o meno di clorofilla indica concentrazioni più o meno elevate del fitoplancton nel corpo idrico.

La clorofilla di tipo A è quella registrata dalle sonde e rappresenta un efficace indicatore della produttività del sistema. La concentrazione della clorofilla A nelle acque mette in evidenza il livello di eutrofizzazione delle acque. È di fondamentale importanza per l'applicazione di indici trofici e dell'indice di torbidità, per la valutazione delle caratteristiche trofiche del corpo idrico e dello stato degli ecosistemi; inoltre è un ottimo indicatore per la valutazione della produzione primaria e dei gradi di trofia dell'ecosistema. Quantitativi eccessivi di clorofilla sono seguiti da fasi di anossia per la degradazione del materiale organico ad essa associato. Anche la clorofilla, come l'ossigeno, è soggetta a fasi nictemerali (variazioni tra giorno e notte).

Lo sviluppo e la mortalità delle ostriche in allevamento sono condizionati da diversi fattori ambientali, che possono essere estremamente variabili tra un sito e l'altro, ma possono mostrare anche un'elevata variabilità stagionale nell'ambito dello stesso sito. Tra questi, come è stato detto, le caratteristiche delle acque in termini di temperatura, salinità, torbidità e disponibilità di alimento rivestono sicuramente un ruolo chiave e possono essere modificati dall'idrodinamismo del sito oltre che dalla profondità della colonna d'acqua cui sono collocate le ostriche, in funzione dei diversi sistemi di allevamento utilizzati. Le ostriche sono infatti organismi filtratori e tutti i fattori che possono influenzare il tasso di filtrazione sono anche in grado di determinare diverse velocità di accrescimento e diversa mortalità, fermo restando la disponibilità di alimento nell'ambiente in cui sono allevate. Se le ostriche possono vivere a temperature comprese fra 8-9°C e 30°C, con un optimum intorno ai 19°C, e in ambienti con una salinità variabile da 5 a 40 ppt, con valori ottimali fra 20 e 30 ppt, il loro tasso di crescita e la loro mortalità sono tuttavia strettamente legate alle variazioni di questi due parametri oltre che alla durata della persistenza di condizioni estreme di temperatura e salinità dell'acqua. Sulla base dei dati bibliografici disponibili, la sensibilità delle ostriche a stress termici e di salinità è anche maggiore nel caso delle ostriche allevate rispetto a quelle di banchi naturali. Infatti, si è osservata una migliore risposta in termini di indicatori fisiologici (heat shock proteins) allo stress determinato da variazioni di temperatura (variazioni fra 15, 25, 37 e 44°C) e di salinità (39, 55 e 60 ppt) in ostriche selvatiche rispetto ad ostriche allevate (*Crassostrea gigas*), in virtù delle maggiori riserve energetiche delle prime rispetto alle seconde. La combinazione di temperature superiori ai 25°C e bassi valori di salinità dell'acqua (<5 ppt) mantenuti per un periodo prolungato rappresentano una situazione estremamente stressante e sfavorevole per le ostriche. La posizione lungo la colonna d'acqua e la profondità cui sono collocate le ostriche durante l'allevamento condizionano il risultato di accrescimento e mortalità non solo per le variazioni termiche e saline che possono esserci lungo la colonna d'acqua, ma soprattutto per la disponibilità di alimento alle diverse profondità, fermo restando gli effetti sugli stessi parametri dell'idrodinamicità del sito e delle condizioni atmosferiche stagionali. Infatti, in uno studio del 2011 è stato confrontato l'accrescimento e la mortalità di ostriche della specie *Crassostrea gigas* in diversi siti nello Stretto di Georgia (Ca-

nada), misurando un maggiore accrescimento e volume finale delle ostriche allevate nei primi 3 metri di profondità rispetto a quelle che si trovavano a 10 e 15 m di profondità. Le differenze di accrescimento sono state attribuite alla maggiore disponibilità di alimento per le ostriche negli strati più superficiali soprattutto nei mesi estivi. In realtà, sia la quantità che la qualità del fitoplancton a disposizione sono in grado di modificare in maniera importante la crescita delle ostriche.

Proprio sulla base di queste considerazioni i range di valori presi in considerazione per le ostriche, specie *Crassostrea gigas*, sono:

- Ossigeno: valori in ppm che partano al minimo da 75% di saturazione
- Saturazione: > 75%
- Salinità: 10-35+ ppt (optimum 24+ ppt)
- Clorofilla: 1-55 µg/l (optimum 12+ µg/l)
- Temperatura: 8-34°C (optimum 15-18 °C)
- Torbidità: 0-100 NTU (optimum 0-8 NTU)

Di seguito i valori registrati dalle sonde posizionate nei siti di allevamento, con i rispettivi grafici e valori medi, nell'arco temporale dell'intera ricerca. Per quanto riguarda la sonda 1 questa è stata posizionata in valle Ama il 12/05/2020 ed è stata rimossa per conclusione della ricerca il 24/02/2022. La sonda 2, invece, è stata posizionata in valle Basegia il 20/05/2021 ed è stata rimossa, per conclusione della ricerca, il 17/03/2022. La terza sonda è stata posizionata nel sito a mare di Caorle il 30/10/2020. A causa di un guasto la sonda è stata rimossa in 31/12/2020 e i valori presi in considerazione nel proseguimento della ricerca si riferiscono a valori ottenuti tramite la sonda Copernicus, in particolare dal 01/04/2021 al 31/12/2021. I dati analizzati dalla sonda Copernicus si riferiscono a: solidi sospesi totali (SST), clorofilla, fitoplancton, ossigeno e salinità.

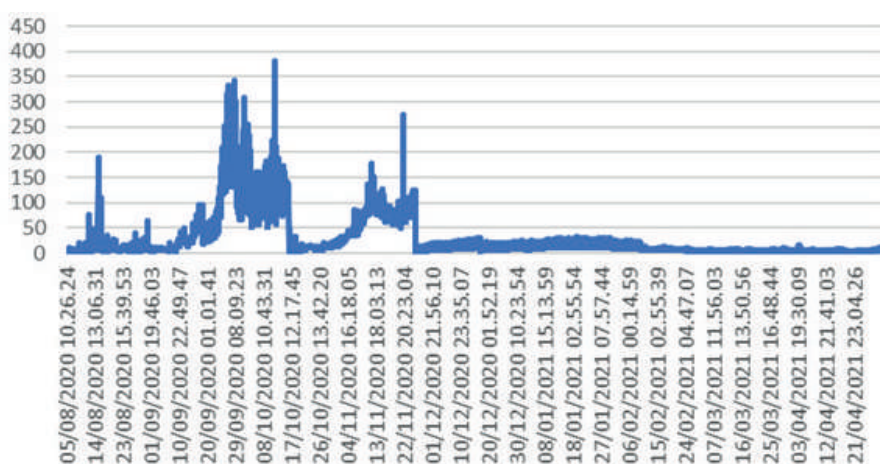
VALLE AMA (SONDA 1)

Periodo di riferimento: 05/2020 - 04/2021

CLOROFILLA

Andamento piuttosto costante con valori che variano tra 0 e 382,2 µg/l. Innalzamento dei valori nel periodo 09/2021 – 11/2021. Superato questo momento i valori sono molto più stabili. I valori medi sono più alti dei valori ottimali.

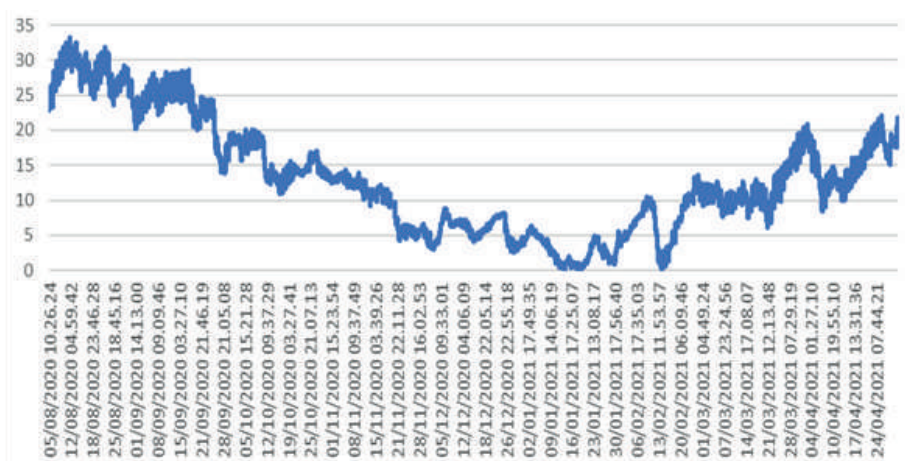
Media: 28,95 µg/l



TEMPERATURA

La temperatura varia tra 0°C e 33,2 °C; valori che rispettano la stagionalità e che sono al di sotto dei valori di riferimento solo nei mesi invernali; nei mesi estivi la temperatura non supera mai la soglia limite prefissata. La temperatura media è molto vicina all'optimum preso in considerazione.

Media: 13,12 °C

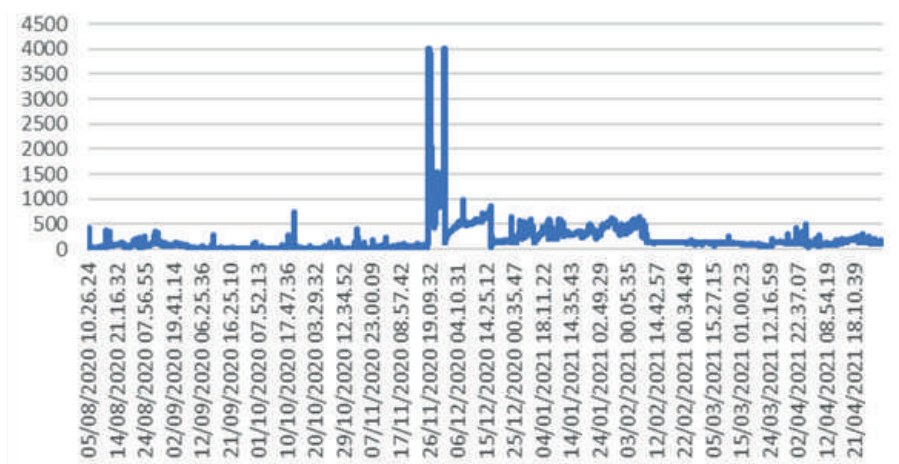


TORBIDITÀ

Andamento costante nel tempo; solo nel periodo fine novembre 2020/inizio febbraio 2021 i valori sono leggermente più alti del normale.

Picchi occasionali, anche di notevole entità, dovuti ad eventi puntuali trascurabili (es. passaggio pesci).

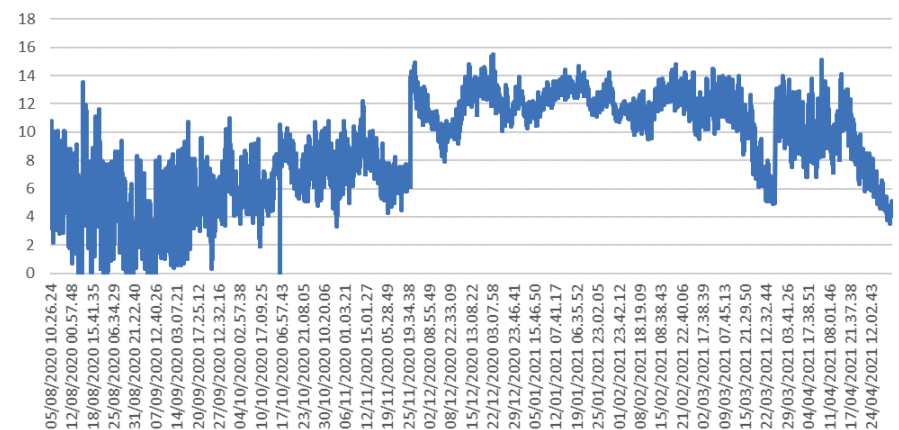
Media: 180,62 NTU



OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da 0 a 15,5 ppm. Nel primo periodo della ricerca valori che vanno anche al di sotto dei limiti che però tendono a stabilizzarsi e a migliorare nel corso del periodo preso in considerazione. La media è buona e risulta al di sopra dei valori di riferimento.

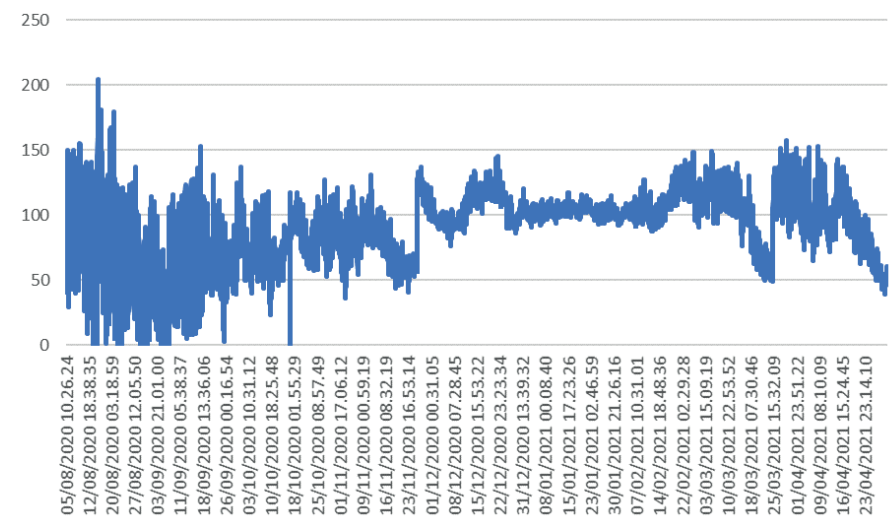
Media: 8,87 ppm



SATURAZIONE

Oscillazione valori naturale giornaliera da circa 0 a 204% con valori medi al di sopra dei limiti di riferimento.

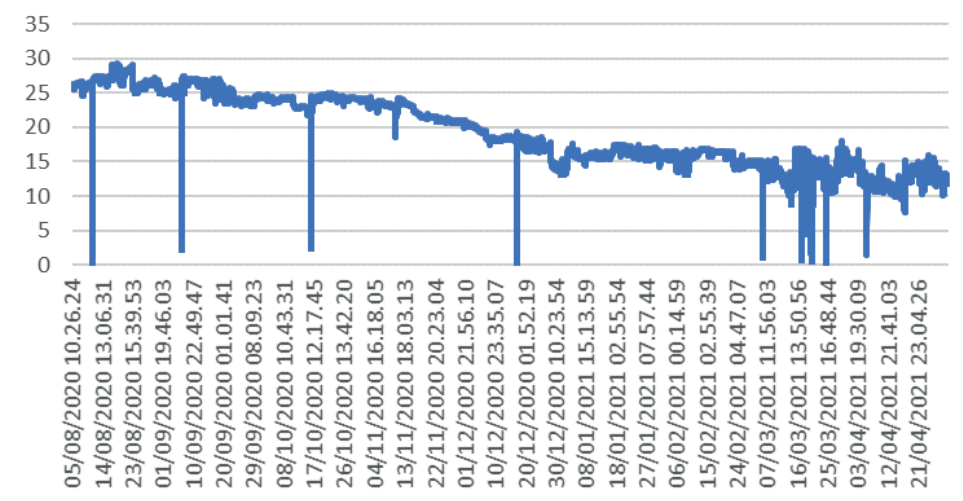
Media: 90,14%



SALINITÀ

Andamento piuttosto costante con valori molto buoni all'inizio della ricerca che tendono però a diminuire rimanendo comunque entro i limiti di riferimento. Valori compresi tra circa 5 e 29,2 ppt. Valore medio abbastanza buono.

Media: 19,36 ppt



VALLE AMA (SONDA 1)

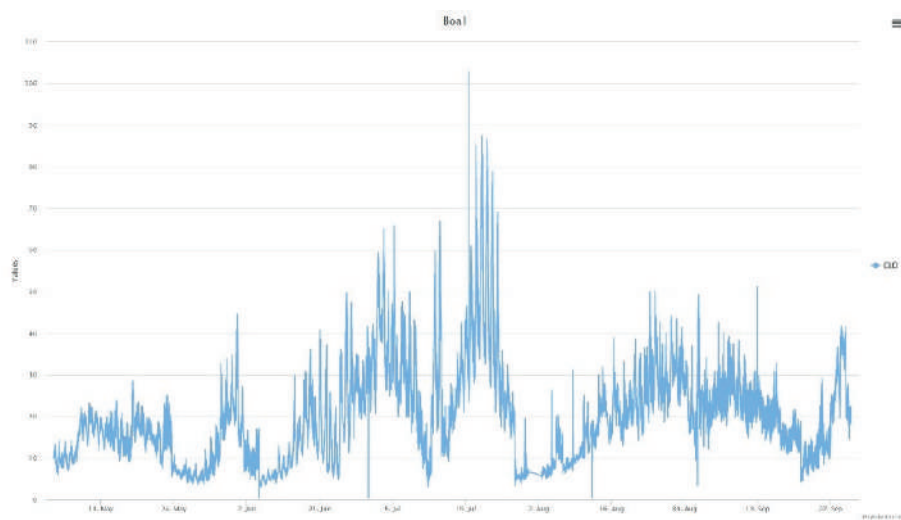
Periodo di riferimento: 05/2021 – 09/2021

CLOROFILLA

Andamento piuttosto costante con valori che variano tra 0,4 e 102,9 $\mu\text{g/l}$. Leggero innalzamento dei valori, con picchi più frequenti, nel mese di luglio 2021.

I valori medi sono più alti dei valori ottimali.

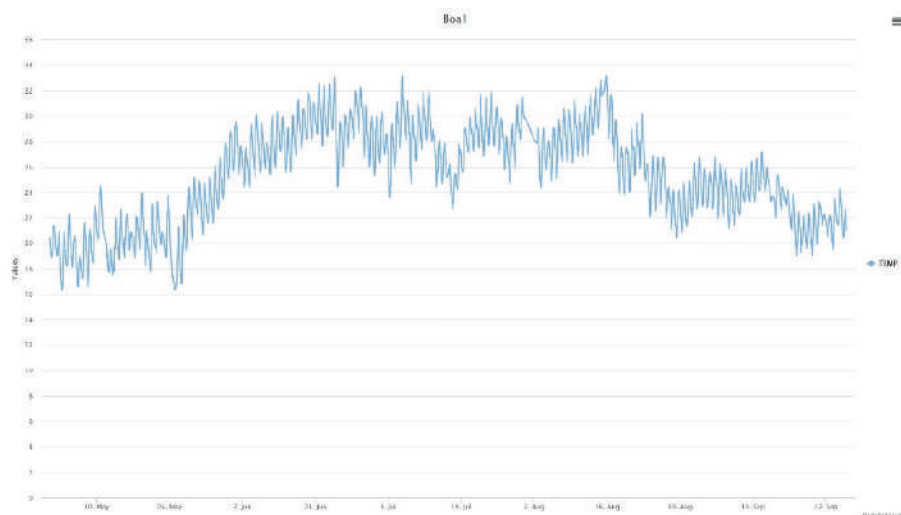
Media: 20,67 $\mu\text{g/l}$



TEMPERATURA

La temperatura varia tra 16,3°C e 33,2°C valori che rispettano la stagionalità e che non superano mai la soglia limite prefissata. La temperatura media è abbastanza alta rispetto all'optimum preso in considerazione ma è giustificata dai mesi considerati.

Media: 25,39°C

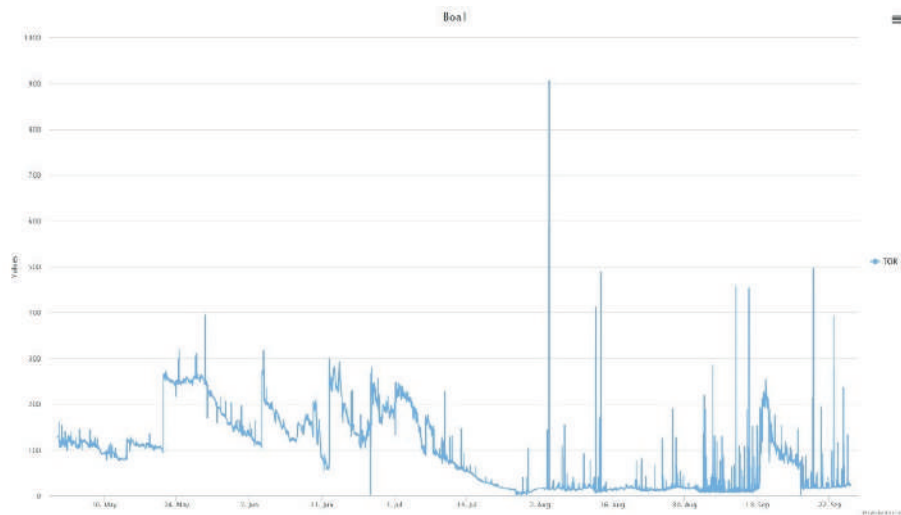


TORBIDITÀ

ndamento costante nel tempo, con valori leggermente più alti tra maggio e luglio rispetto alla seconda parte del periodo considerato in cui i valori medi sono più bassi.

Picchi occasionali, anche di notevole entità, dovuti ad eventi puntuali trascurabili (es. passaggio pesci). Il valore medio rimane entro i limiti prefissati.

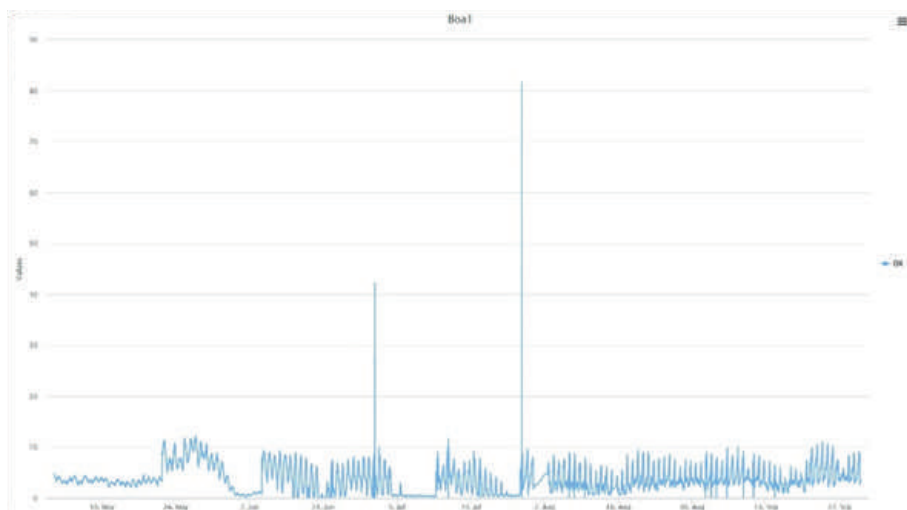
Media: 85,91 NTU



OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da 0 a circa 14 ppm. In generale i valori risultano piuttosto bassi e portano ad una media che risulta al di sotto dei valori di riferimento. Valori bassi comunque abbastanza attesi vista la stagione considerata.

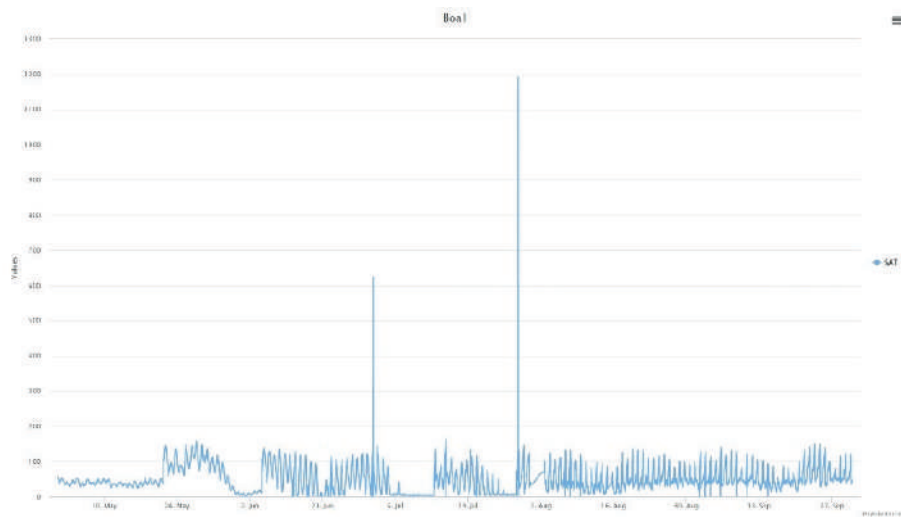
Media: 3,59 ppm



SATURAZIONE

Oscillazione valori naturale giornaliera da circa 0 a circa 160% con valori medi al di sotto dei limiti di riferimento.

Media: 48,39%



SALINITÀ

Andamento abbastanza costante con valori leggermente bassi all'inizio del periodo considerato che tendono ad aumentare rimanendo comunque entro i limiti di riferimento. Valori compresi tra circa 10,5 e 29,6 ppt. Valore medio molto buono.

Media: 22,10 ppt



VALLE AMA (SONDA 1)

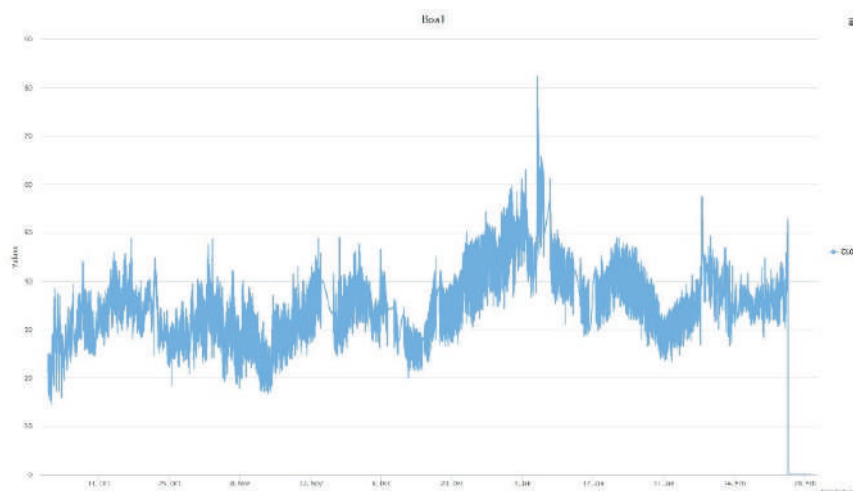
Periodo di riferimento: 10/2021 – 02/2022

CLOROFILLA

Andamento piuttosto costante con valori che variano tra 2,4 e 82,3 µg/l. Valori che rimangono nel range di valori considerato, ad esclusione di picchi occasionali.

I valori medi sono abbastanza alti rispetto ai valori ottimali.

Media: 35,24 µg/l



TEMPERATURA

La temperatura varia tra 0,7°C e 23,3°C valori che rispettano la stagionalità con valori che nel periodo invernale sono al di sotto della soglia limite prefissata.

La temperatura media è molto vicina al limite inferiore preso in considerazione, valore in linea col periodo considerato.

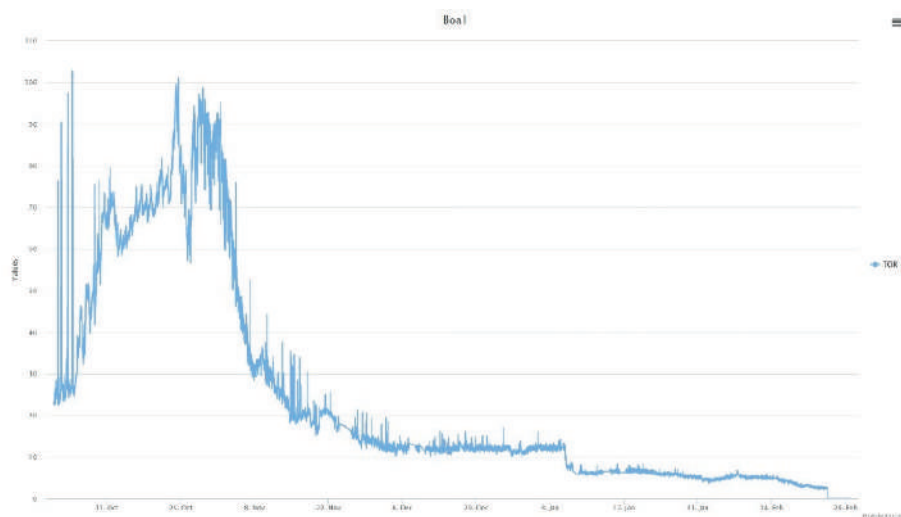
Media: 8,50°C



TORBIDITÀ

Valori leggermente alti, ma entro i limiti, per tutto il periodo di ottobre con valori in discesa fino alla fine della ricerca; in quest'ultima parte i valori sono piuttosto buoni. Picchi occasionali dovuti ad eventi puntuali trascurabili (es. passaggio pesci). Il valore medio, abbastanza basso, rimane entro i limiti prefissati.

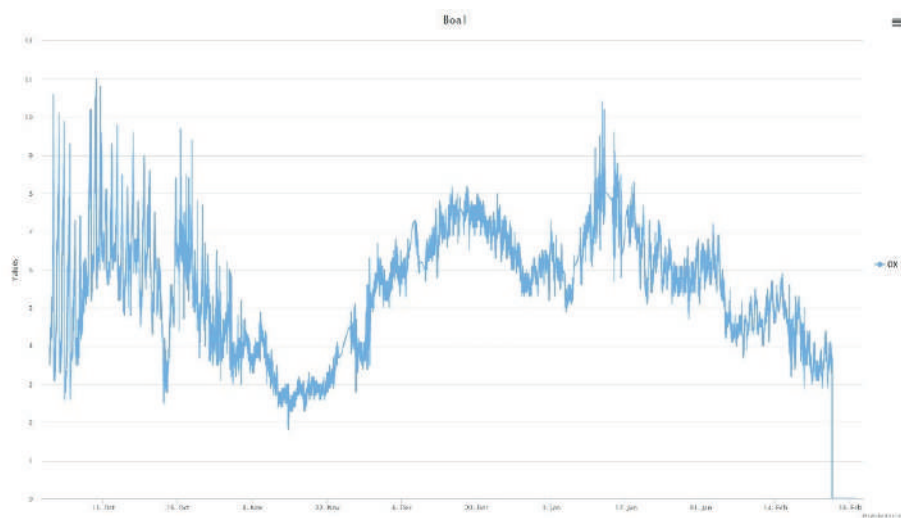
Media: 26,18 NTU



OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da 1,8 a 11 ppm. In generale i valori risultano piuttosto bassi e portano ad una media che risulta al di sotto dei valori di riferimento.

Media: 5,44 ppm

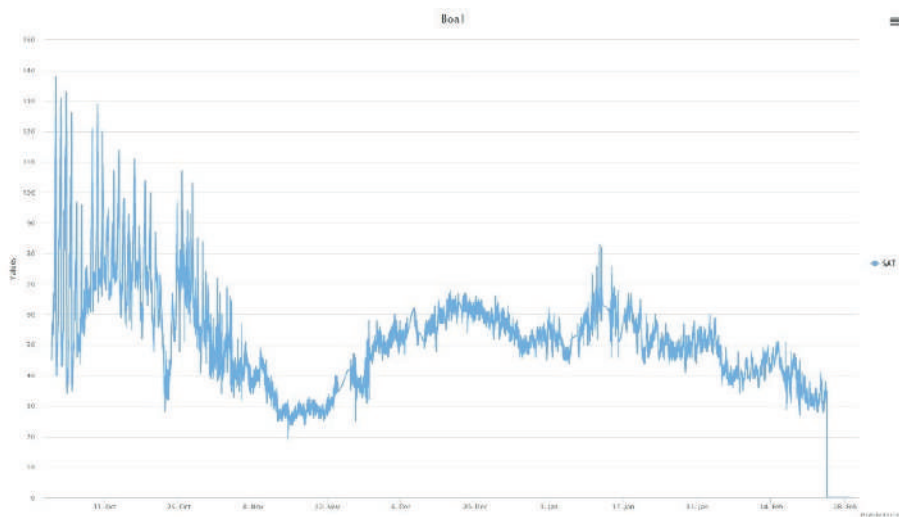


SATURAZIONE

Oscillazione valori naturale giornaliera da 19 a 138% con valori che superano il valore minimo di riferimento praticamente solo nel mese di ottobre.

La media è al di sotto dei limiti di riferimento.

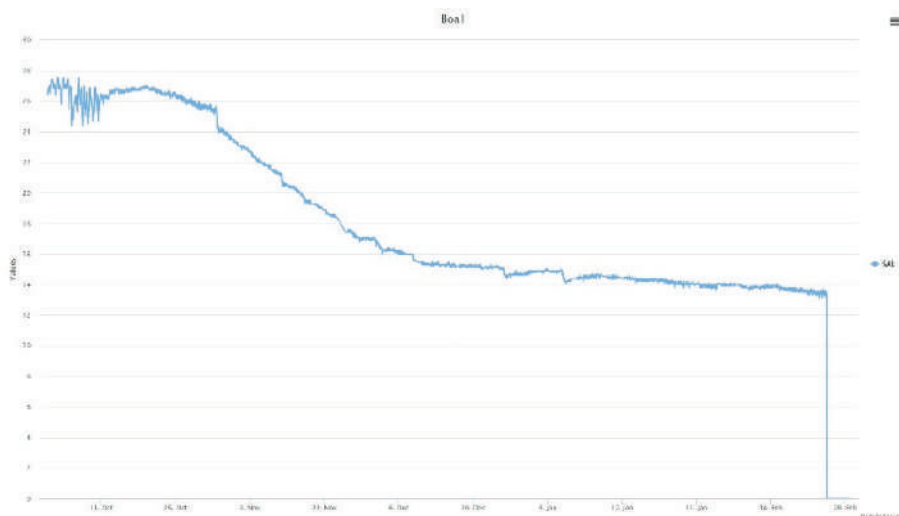
Media: 51,97%



SALINITÀ

Andamento con valori buoni solo nel mese di ottobre, successivamente i valori scendono a valori più contenuti, con valori che rimangono comunque entro i limiti di riferimento. Valori compresi tra circa 4,2 e 27,6 ppt. Valore medio abbastanza buono.

Media: 18,68 ppt



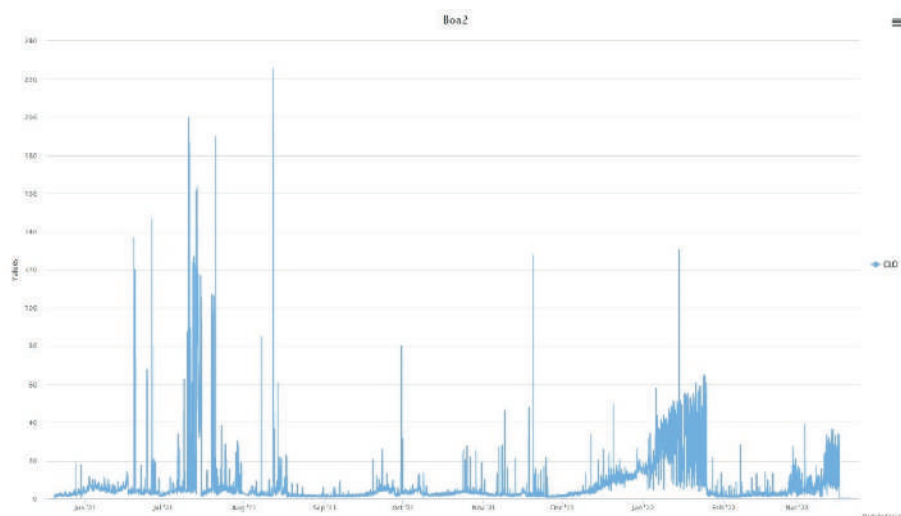
VALLE BASEGIA (SONDA 2)

Periodo di riferimento: 20/05/2021 – 17/03/2022

CLOROFILLA

Andamento piuttosto costante con valori che variano tra 0,10 e 225,30 µg/l. Leggero innalzamento dei valori nel mese di gennaio 2022. Diversi picchi occasionali soprattutto nella prima parte del periodo preso in considerazione. I valori medi sono abbastanza buoni.

Media: 7,89 µg/l



TEMPERATURA

La temperatura varia tra 1,6°C e 31,90°C; valori che rispettano le stagionalità incontrate nel periodo preso in considerazione e che non superano mai il valore superiore prestabilito e che sono al di sotto dei valori di riferimento solo nei mesi invernali. La temperatura media è ottima.

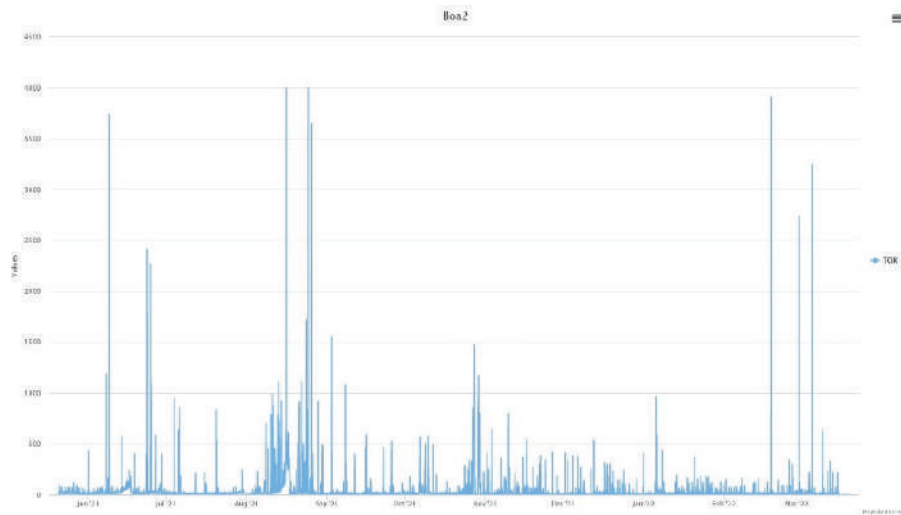
Media: 14,59°C



TORBIDITÀ

Andamento costante nel tempo. Picchi occasionali, anche di notevole entità, dovuti ad eventi puntuali trascurabili (es. passaggio pesci). I valori medi sono abbastanza buoni.

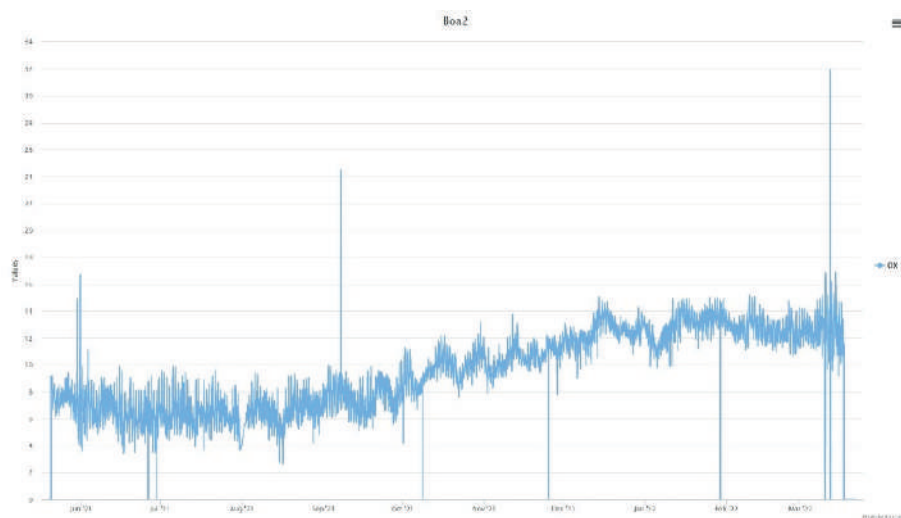
Media: 30,32 NTU



OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da circa 2,50 a 31,90 ppm. Nel periodo estivo i valori sono abbastanza bassi mentre migliorano nel restante periodo considerato. La media è buona e risulta al di sopra dei valori di riferimento.

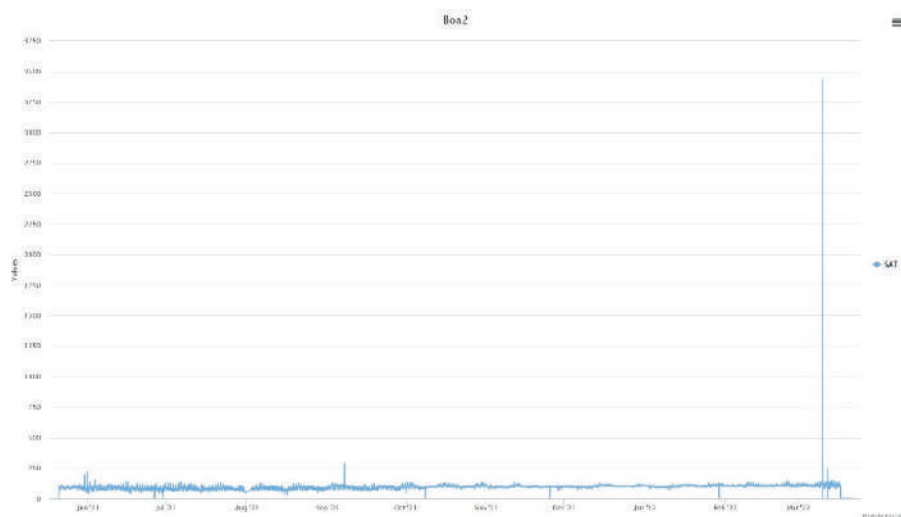
Media: 9,93 ppm



SATURAZIONE

Oscillazione valori naturale giornaliera, che segue l'andamento dei valori di ossigeno, da circa 0 a 289% con valori medi buoni e al di sopra dei limiti di riferimento.

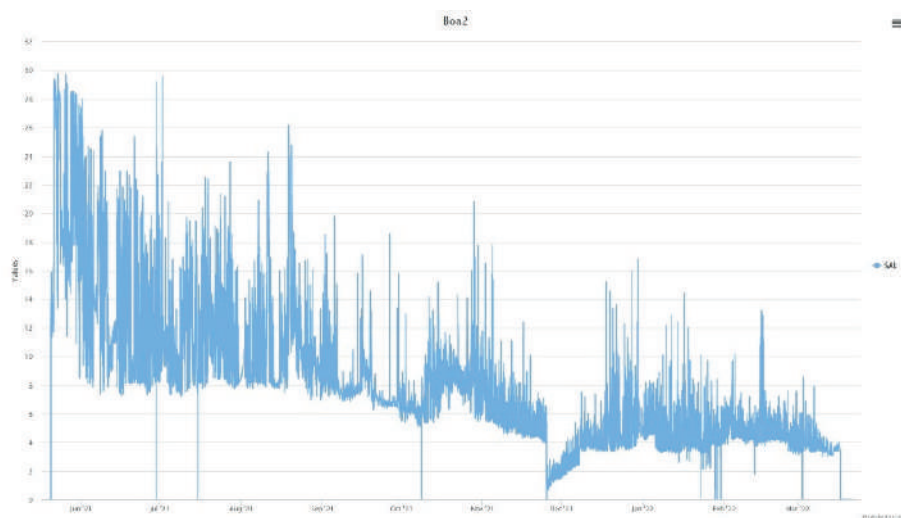
Media: 96,98%



SALINITÀ

Andamento con valori abbastanza buoni all'inizio della ricerca che tendono però a diminuire scendendo verso la fine del periodo considerato al di sotto dei limiti di riferimento. Valori compresi tra circa 1 e 29,8 ppt. Valore medio leggermente basso.

Media: 7,79 ppt



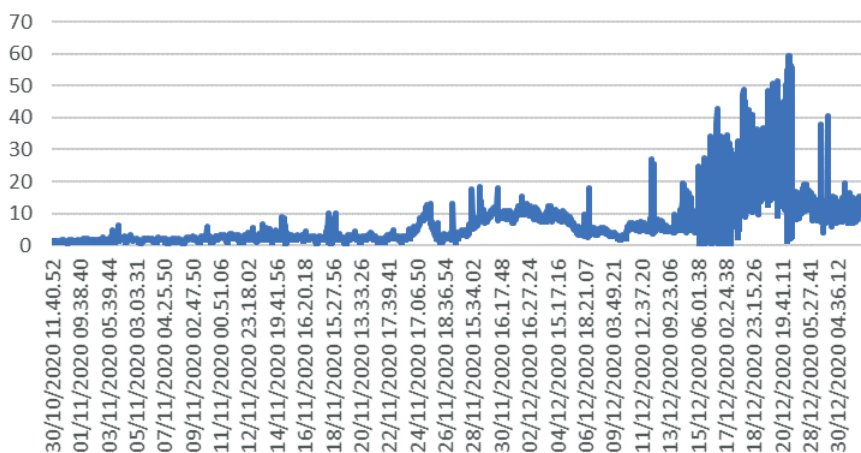
MARE CAORLE (SONDA 3)

Periodo di riferimento: 11/2020 – 12/2020

CLOROFILLA

Andamento piuttosto costante nel primo mese con aumento anche evidente verso la fine del periodo preso in considerazione. I valori variano tra 0,3 e 59,2 µg/l. I valori medi sono abbastanza buoni.

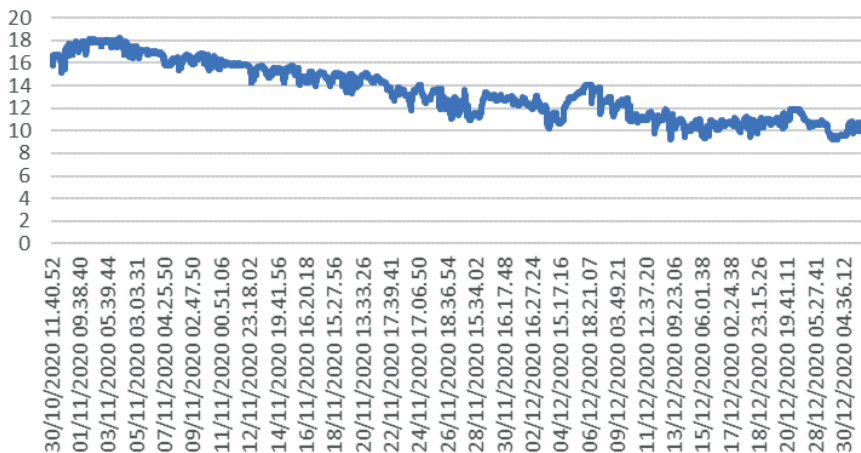
Media: 9,78 µg/l



TEMPERATURA

La temperatura varia tra 9°C e 14,1°C; i valori sono abbastanza buoni rispetto ai valori di riferimento stabiliti. La temperatura media è abbastanza buona.

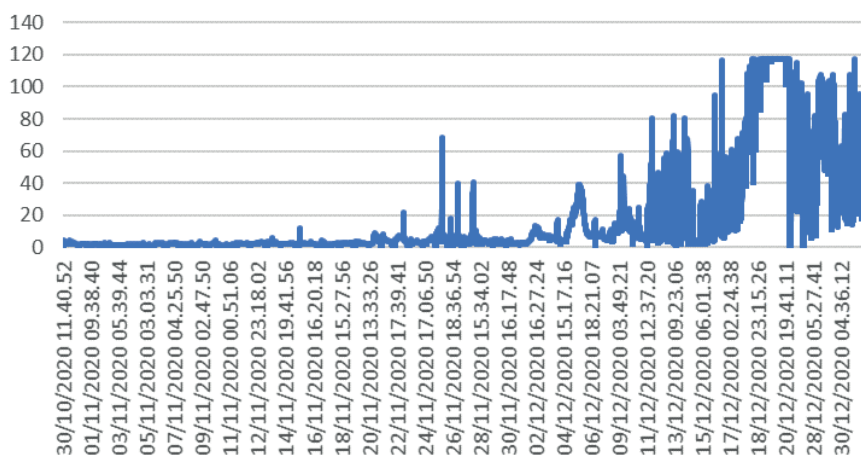
Media: 11,55°C



TORBIDITÀ

Andamento costante e molto buono nel mese di novembre; aumento notevole nel mese di dicembre. Picchi occasionali, anche di notevole entità, dovuti ad eventi puntuali trascurabili (es. passaggio pesci). La media dei valori è abbastanza buona.

Media: 27,19 NTU

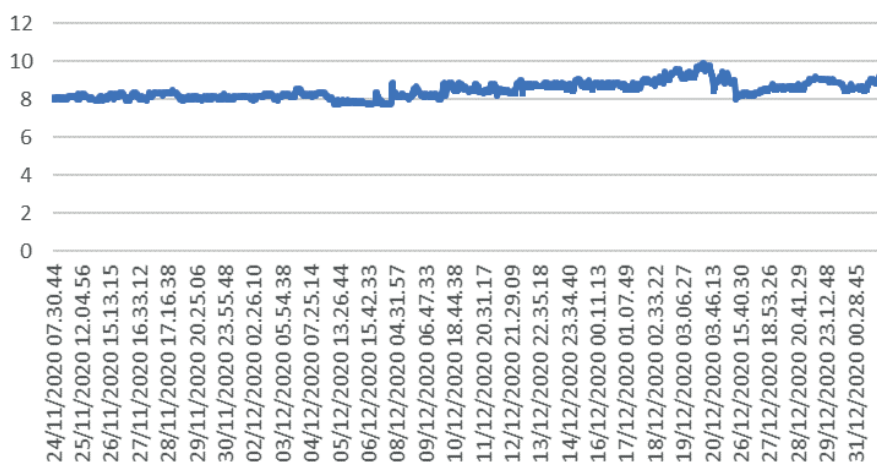


OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da 7,7 a 9,9 ppm. Andamento dei valori piuttosto costante con valori che mantengono la media al di sopra del limite inferiore prestabilito.

La media è molto buona e risulta al di sopra dei valori minimi di riferimento.

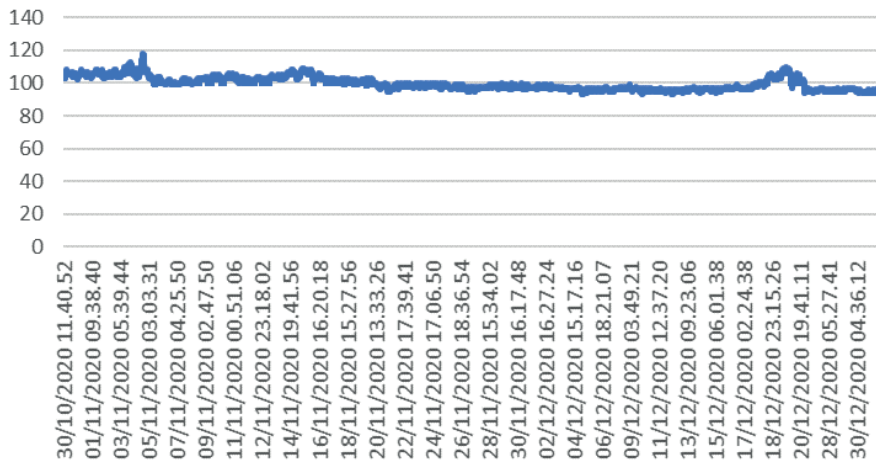
Media: 8,49 ppm



SATURAZIONE

Oscillazione valori naturale giornaliera da circa 93 a 110% con valori sempre al di sopra del limite inferiore di riferimento. La media è molto buona.

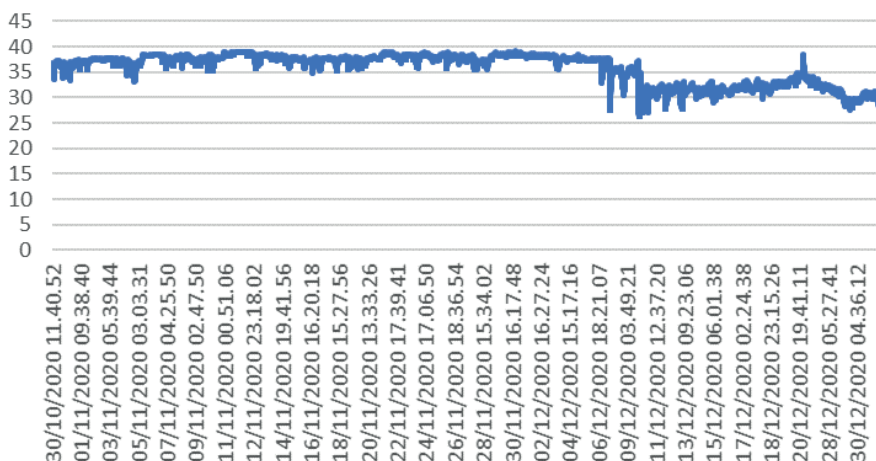
Media: 97,25%



SALINITÀ

Andamento piuttosto costante con valori molto buoni all'inizio della ricerca che tendono però a diminuire rimanendo comunque entro i limiti di riferimento. Valori compresi tra circa 26,4 e 39,2 ppt. Valore medio abbastanza buono.

Media: 34,30 ppt



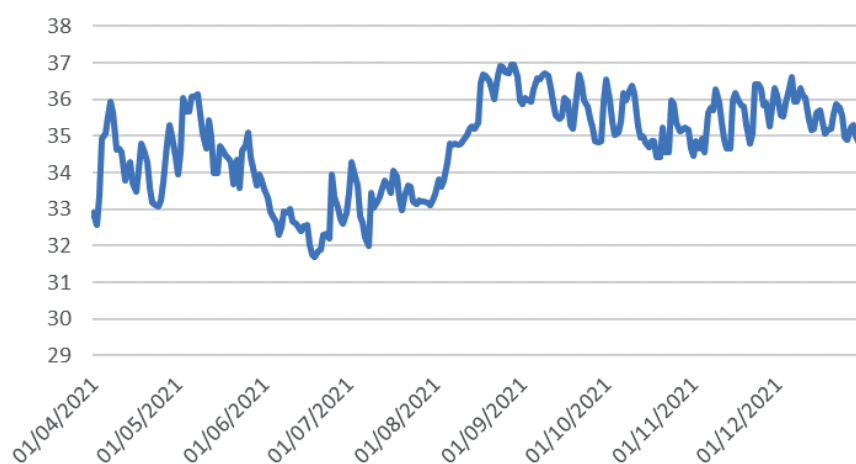
MARE CAORLE (DATI SATELLITARI SISTEMA COPERNICUS)

Periodo di riferimento: 1/04/2021 – 31/12/2021

SALINITÀ

I valori di salinità hanno un andamento leggermente variabile durante l'arco di tempo considerato, con valori tendenzialmente più alti nella seconda parte del periodo di tempo considerato. I valori sono compresi tra 31,69 e 36,96 ppt rimanendo di base nei limiti prestabiliti. La media è abbastanza buona.

Media: 34,74 ppt



TEMPERATURA

Si può notare un andamento piuttosto costante con un innalzamento dei valori nel periodo estivo e con valori che variano tra 10,73 e 28,72°C. I valori medi sono abbastanza buoni.

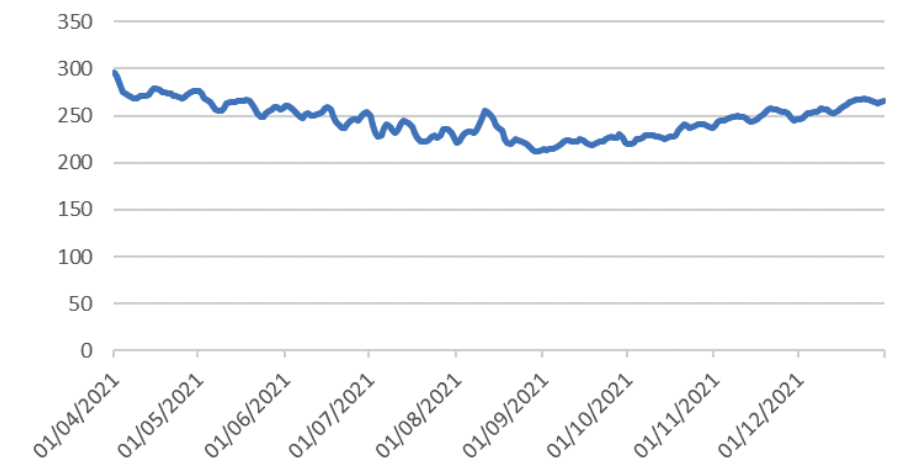
Media: 19,41°C



OSSIGENO

Oscillazioni naturali giornaliere con valori che variano da 212,03 a 295,88. Andamento dei valori piuttosto costante con valori che mantengono la media al di sopra del limite inferiore prestabilito. La media è molto buona e risulta al di sopra dei valori minimi di riferimento.

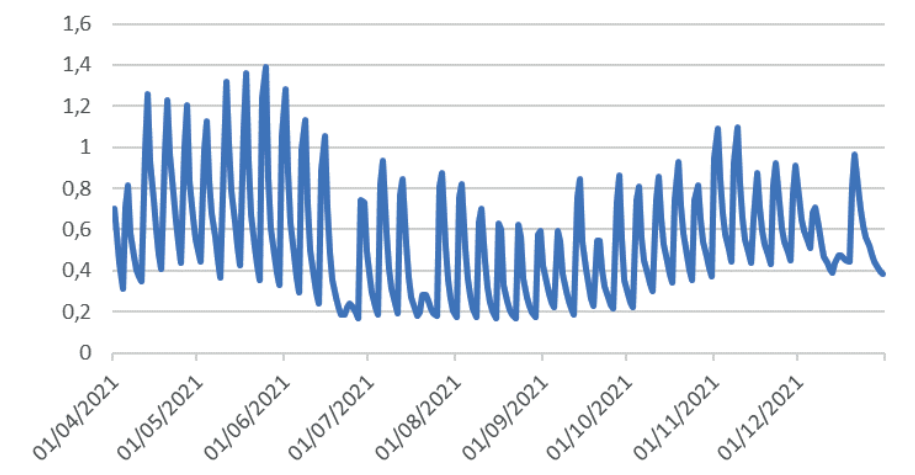
Media: 245,58



CLOROFILLA

I valori di clorofilla hanno un andamento piuttosto costante lungo tutto il periodo preso in esame. I valori variano da 0,17 a 1,39. La media dei valori è abbastanza buona.

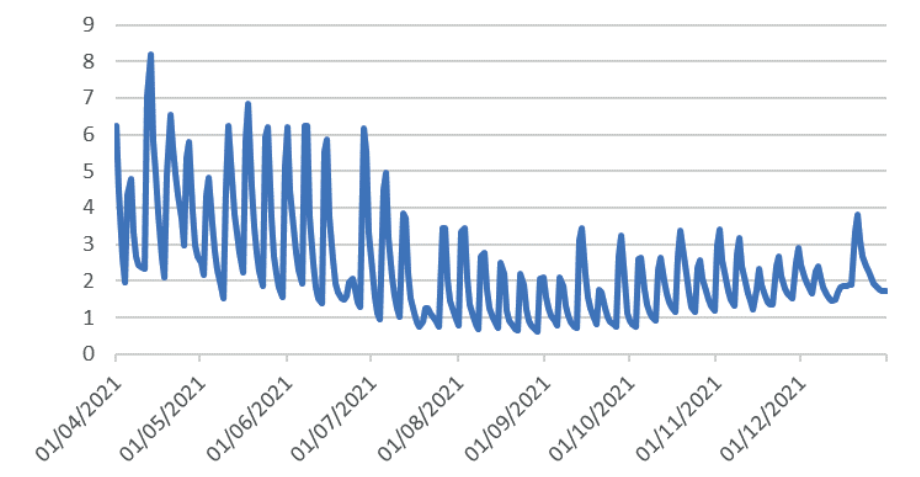
Media: 0,55



FITOPLANKTON

I valori di fitoplancton seguono l'andamento costante di quelli della clorofilla e sono compresi tra 0,61 e 8,19. La media è abbastanza buona.

Media: 2,39



Sintesi dei dati ambientali

Valle Ama

- Clorofilla: livelli di clorofilla leggermente alti rispetto ai valori ottimali durante tutto l'arco della ricerca che potrebbero aver influito sulle concentrazioni basse di ossigeno riscontrate nella seconda parte della ricerca stessa
- Ossigeno e saturazione: valori piuttosto buoni, con conseguenti buoni valori di saturazione, nella prima parte della ricerca mentre nella seconda parte i valori risultano decisamente bassi il che ha portato ad avere la saturazione sempre molto al di sotto dei limiti di riferimento
- Temperatura: temperature buone che seguono l'andamento delle stagioni
- Salinità: valori medi abbastanza buoni
- Torbidità: valori buoni con eventi estremi rari, puntuali e non significativi

Valle Basegia

- Clorofilla: valori, in media, buoni e sempre nei limiti
- Temperatura: valori medi estremamente buoni e sempre molto vicini all'optimum prestabilito
- Ossigeno e saturazione: costante entro i range e di conseguenza anche la saturazione
- Salinità: valori medi leggermente bassi rispetto ai valori ottimali prestabiliti. Tuttavia, verifiche eseguite a fine ricerca hanno evidenziato un guasto all'elettrodo che misura la salinità, che è dunque da considerarsi più elevata rispetto ai valori riportati in precedenza
- Torbidità: valori buoni con eventi estremi rari, puntuali e non significativi

Mare Caorle

- Clorofilla: valori medi buoni che rimangono sempre nei limiti
- Fitoplancton: valori che seguono l'andamento della clorofilla e quindi, di conseguenza, buoni
- Temperatura: valori piuttosto costanti che seguono la stagionalità con una media abbastanza buona
- Ossigeno e saturazione: valori di ossigenazione e saturazione estremamente buoni costantemente al di sopra dei limiti prestabiliti
- Salinità: valori medi abbastanza buoni rispetto ai valori ottimali prestabiliti
- Torbidità: valori abbastanza buoni

Considerazioni finali

Valle Ama, a livello di parametri ambientali, risulta essere un buon sito per l'allevamento, tenendo però in considerazione le problematiche riferite ai valori di clorofilla e ai livelli di ossigenazione dell'acqua, riscontrate principalmente nella seconda metà della ricerca, che possono portare a fenomeni di anossia che possono compromettere la vitalità degli animali.

Valle Basegia, a livello di parametri ambientali, risulta essere un ottimo sito per l'allevamento, viste le condizioni ambientali.

Mare Caorle risulta essere, visti i parametri ambientali presi in esame, un ottimo sito per l'allevamento di ostriche.

Bibliografia essenziale

- Aboul-Ela I. A., 1958. *Effects of Ultra-Violet Radiation on Oysters*. Nature, 181:1013
- Bayne B., 2017. *Biology of Oysters*, Academic Press
- Cassis D., Pearce C. M., Maldonado M. T., 2011. *Effects of the environment and culture depth on growth and mortality in juvenile Pacific oysters in the Strait of Georgia, British Columbia*. Aquaculture Environment Interaction
- Cataudella S., Spagnolo M., 2011. *Lo stato della pesca e dell'acquacoltura nei mari italiani*. Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali
- Çelik M. Y., Karayücel S., Karayücel I., Eyüboğlu B., Öztürk R., 2015. *The effects of environmental factors on survival, growth and biochemical composition of transplanted oysters (Ostrea edulis Linnaeus, 1758) from Aegean Sea to southern Black Sea*. Aquaculture Research
- Davis H. C., 1960. *Effects of turbidity-producing materials in sea water on eggs and larvae of the clam (Venus (Mercenaria) mercenaria)*. Biology Bulletin, Woods Hole, 118:48-54
- Finotti V., 2017. *Tecniche di allevamento innovative e qualità di ostriche concave (Crassostrea gigas) in Sacca degli Scardovari*, Tesi Laurea, Corso di Laurea Magistrale in Biologia Marina- UNIPD, AA 2016-2017
- Fratini G., 2012. *Effect of different farming sites and techniques on the growing performances and quality of Pacific oysters (Crassostrea gigas, Thunberg)*. Tesi di dottorato. Università degli Studi di Firenze
- Gagnaire B., Frouin H., Moreau K., Thomas-Guyon H., Renault T., 2006. *Effects of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, Crassostrea gigas (Thunberg)*. Fish & Shellfish Immunology, 20:536-547
- La Peyre M., Eberline B. S., Soniat T. M., La Peyre J. F., 2013. *Differences in extreme low salinity timing and duration differentially affect eastern oyster (Crassostrea virginica) size class growth and mortality in Berton Sound, LA*. Estuarine, Coastal and Shelf Science
- Loosanoff V., 1961. *Effects of turbidity on some larval and adult bivalves*. Proceedings Gulf and Caribbean Fisheries Institute. 14: 80-95
- Marteil L., 1963. *L'hiver 1962-63 et ses conséquences pour les huîtres de Morbihan*. Science et Pêche. 115:1-4
- Pernet et al., 2012. *Diseases, farming practices and oyster mortality*. Aquaculture Environment Interactions, Vol. 2: 215-237
- Rismondo R., Visintini Romanin M., 1996. *Le componenti abiotica e biotica dei sedimenti come indicatori della qualità dell'ambiente lagunare negli studi del magistrato alle acque di Venezia – Consorzio Venezia Nuova. Parte II: La componente abiotica*. Quaderni trimestrali, ppg 35-54
- Rismondo R., Visintini Romanin M., 1996. *Le componenti abiotica e biotica dei sedimenti come indicatori della qualità dell'ambiente lagunare negli studi del magistrato alle acque di Venezia – Consorzio Venezia Nuova. Parte II: La componente biotica bentonica*. Quaderni trimestrali ppg 7-40
- Yang C-Y., Sierp M. T., Abbott C. A., Yan Li, Qin J. G., 2016. *Responses to thermal and salinity stress in wild and farmed Pacific oyster Crassostrea gigas*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A

7.3 Patogeni rilevati e fitoplancton tossico

Le analisi di biologia molecolare sono state svolte su un totale di 350 campioni appartenenti a diversi lotti relativi ai tre siti selezionati, ovvero: mare Caorle, valle Averte (AMA) e valle Basegia. I patogeni oggetto di analisi sono stati i seguenti:

OsHV-1

Tutti i campioni analizzati nel corso della ricerca hanno dato esito negativo.

Vibrio aestuarianus

Tutti i campioni analizzati nel corso della ricerca hanno dato esito negativo, fatta eccezione per due individui appartenenti ad un lotto prelevato in data 09/10/20, in valle AMA.

I valori di positività rilevati sono molto bassi e non correlati a fenomeni di mortalità.

Vibrio splendidus

Nella maggior parte dei lotti analizzati è stata rilevata la presenza di *V. splendidus*, tuttavia sempre con valori di quantificazione bassi, ascrivibili all'ampia diffusione in ambiente marino di questo batterio. La positività rilevata non ha dato luogo a fenomeni di mortalità.

V. splendidus 2020-2022	Mare Caorle	Neg	Pos. nq	Pos. q	Valle Ama	Neg.	Pos. nq	Pos. q	Valle Basegia	Neg	Pos. nq	Pos. q
Tot. analizzati	135	46	60	29	135	58	49	28	80	27	40	13
%		34	44	21		43	36	21		34	30	10

Haplosporidia e altri patogeni

Sono stati analizzati con esame istologico un totale di 350 soggetti con cadenza trimestrale provenienti dai tre siti oggetto della ricerca: valle Basegia, valle AMA e mare Caorle. Nessun soggetto ha evidenziato la presenza di parassiti del genere *Haplosporidium*. Mediante esame istologico, inoltre, è stato possibile valutare l'eventuale presenza di altri patogeni e le condizioni fisiologiche degli animali. Nessun soggetto ha mostrato degenerazioni dei tessuti analizzati né infezioni/infestazioni parassitarie (i.e. *Mikrocytos mackini*, *Perkinsus marinus*), a conferma del buono stato di salute delle ostriche in tutti i siti, sia in valle che in mare.

Fitoplancton

Per l'analisi del fitoplancton potenzialmente tossico, sono stati effettuati un totale di 16 campionamenti, a cavallo fra il 2021 e il 2022. I punti di campionamento considerati sono stati 3: valle AMA, valle Basegia e un punto di campionamento a mare a tre miglia da Caorle. Dai risultati emersi si evince come il fitoplancton, in termini di diversità di specie e di numerosità di popolazione, sia maggiormente rappresentato in questi termini negli ecosistemi vallivi piuttosto che in mare. Deve essere comunque sottolineato che il campionamento di una sola zona a mare non è rappresentativo e non è dunque possibile affermare con certezza che vi sia una maggiore scarsità di diversità biologica, rispetto alle aree vallive.

Di seguito sono riportati i risultati per ciascuna località presa in esame, sulle specie potenzialmente tossiche:

- Riguardo la presenza di specie algali potenzialmente tossiche (Tabella 1), sia in termini di quantità che ricchezza di specie, valle AMA si è distinta rispetto alle altre località. A tal proposito, è da segnalare l'abbondante numerosità di *Alexandrium minutum* (specie responsabile della produzione di tossine paralitiche), nei campionamenti effettuati nei mesi di giugno e luglio 2021; fra le specie produttrici di tossine diarroiche, è da segnalare l'alta numerosità di *Dinophysis acuminata* nei mesi di agosto e settembre 2021. Inoltre, è stata riscontrata la presenza di *Prorocentrum lima*, una specie potenzialmente tossica, tipica di habitat bentonici. Da segnalare, in Valle AMA, la presenza di una specie di alga appartenente al genere *Haslea* (Tabella 2). Si tratta di un genere di Diatomee le quali possono, in particolari condizioni, produrre un pigmento denominato marenina. Questa molecola conferisce, ai molluschi e in particolare alle ostriche, una colorazione blu-verde alle branchie. In Francia, ostriche con questa particolare colorazione delle branchie sono molto apprezzate dagli intenditori, rappresentando una risorsa da poter essere sfruttata per la commercializzazione di prodotti ostricoli, a livello regionale (Gastineau et al., 2018). Gli esemplari osservati nei campioni da noi esaminati (Fig. 1a), per quanto riguarda le misure del frustolo, in larghezza e lunghezza erano comparabili con quelle osservate in un altro studio (Mejdandžić et al., 2017; Fig. 1b), in cui erano state coltivate partendo da cloni isolati da campioni del mare Adriatico. Tuttavia, gli esemplari da noi riscontrati non presentavano la caratteristica colorazione di quelli analizzati da Mejdandžić e colleghi (2017), e per assegnare loro una corretta collocazione tassonomica, occorrerebbe sfruttare la microscopia elettronica, quindi per tale motivo le alghe sono state classificate come *Haslea* sp

Valle Ama								
Data Prelievo								
Specie algale/ Valore quantitativo (cell/L)	21/05/21	09/06/21	22/06/21	14/07/21	12/08/21	01/09/21	25/02/22	Effetti su uomo/ organismi acquatici
<i>Alexandrium spp</i>					3800		40	PSP
<i>Alexandrium mi- nutum</i>		34000	26800	7000	80			PSP
<i>Alexandrium ostenfeldii</i>	40			40			40	PSP
<i>Alexandrium pseudogonyaulax</i>			100	240	presente			PSP
<i>Alexandrium taylori</i>		40	67800	4800	presente	40		PSP
<i>Prorocentrum lima</i>	240	40	1100	80	1	120	40	DSP DSP
<i>Dinophysis acuminata</i>				80	16400	4000		DSP
<i>Dinophysis sacculus</i>	120	200				160		DSP
<i>Gonyaulax spinifera</i>		680				200		DSP
<i>Lingulodinium polyedra</i>					40	40		DSP
<i>Akashiwo sanguinea</i>	2880	3040		5040	3200	1920		Ittiotossico
<i>Prorocentrum rathymum</i>			2200	40	1480	200		DSP
<i>Prorocentrum cordatum</i>				1800	75000	880		PSP/TTX?

Tabella 1. Le specie segnate in Rosso sono quelle che vengono ricercate routinariamente in IZSve, in un contesto di controllo ufficiale, mentre quelle in Verde sono altre specie, potenzialmente tossiche, che sono state rinvenute nei campioni

Luogo prelievo	Data prelievo	cf. Haslea sp.
Valle AMA	12/08/2021	3400
	01/09/2021	560
	25/02/2021	3440

Tabella 2. Ritrovamenti di *Haslea* sp. in Valle AMA

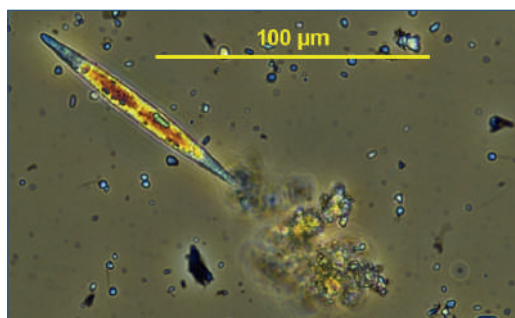


Fig. 1a | Immagini di esemplari presenti nei campioni di Valle AMA

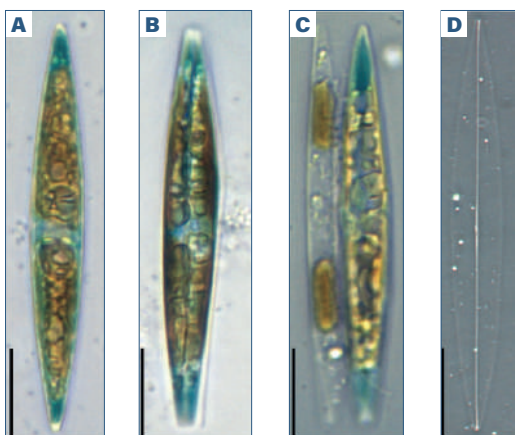


Fig. 1b | Immagine di *Haslea* sp. descritta da Mejdandžić et al. (2017)

A, B, C: live cells with marennine

B, C: cells in vegetative division

D: light micrograph of cleaned *Haslea* sp. frustule

- in valle Basegia, la diversità e l'abbondanza di ciascuna delle specie potenzialmente tossiche non ha rivelato particolari criticità da segnalare, come di seguito mostrato in tabella 3

Valle Basegia												
Data Prelievo												
Specie algale/ Valore quantitativo (cell/L)	20/05 2021	03/06 2021	17/06 2021	21/07 2021	17/08 2021	01/09 2021	20/09 2021	08/10 2021	28/10 2021	21/12 2021	25/01 2022	Effetti su uomo/ organismi acquatici
<i>Alexandrium minutum</i>									80			PSP
<i>Alexandrium taylori</i>				40								PSP
<i>Dinophysis acuminata</i>								40				DSP
<i>Dinophysis fortii</i>							30					DSP
<i>Dinophysis sacculus</i>								40				DSP
<i>Gonyaulax spinifera</i>		40	360	160		40	40					DSP
<i>Protoceratium reticulatum</i>		80						4280				DSP
<i>Pseudo-Nitzcha sp</i>							2280					DSP
<i>Lingulodinium polyedra</i>			40		40			80				DSP
<i>Akashiwo sanguinea</i>	200		720	3200	600	360						Ittiotossico
<i>Prorocentrum cordatum</i>		40								120	2200	PSP/TTX?

Tabella 3. Le specie segnate in rosso sono quelle che vengono ricercate routinariamente in IZSVe, in un contesto di controllo ufficiale, mentre quelle in verde sono altre specie, potenzialmente tossiche, che sono state rinvenute nei campioni

- nell'allevamento mare Caorle, la presenza di specie potenzialmente tossiche non ha rivelato particolari criticità, se non per quanto riguarda la presenza di *Pseudo-nitzschia* spp. che era stata considerevole durante il mese di ottobre, con quantità che superavano le 10^5 cell/L (Tabella 4)

Mare Caorle								
Data Prelievo								
Specie algale/ Valore quantitativo (cell/L)	18/05/ 2021	13/07 2021	15/10 2021	26/10 2021	06/12 2021	22/12 2022	10/02 2022	Effetti su uomo/organismi acquatici
<i>Alexandrium spp</i>					200	40		PSP
<i>Alexandrium minutum</i>	320			40	160			PSP
<i>Alexandrium ostenfeldii</i>		40						PSP
<i>Dinophysis fortii</i>			40	40			120	DSP
<i>Dinophysis sacculus</i>							120	DSP
<i>Phalacroma rotundatum</i>	160		40	80				DSP
<i>Pseudo-Nitzcha sp</i>			469160	282680	1600	32000		ASP
<i>Prorocentrum cordatum</i>		80						PSP/TTX?

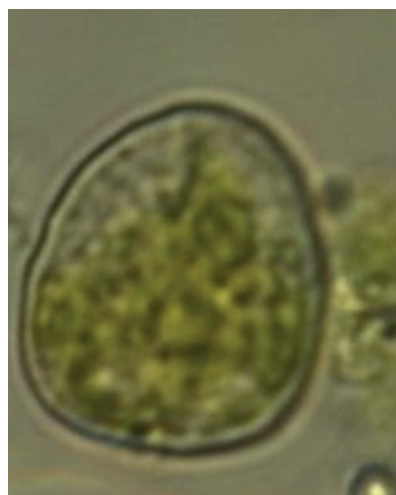
Tabella 4. Le specie segnate in rosso sono quelle che vengono ricercate routinariamente in IZSVe, in un contesto di controllo ufficiale

Per quanto riguarda altre specie potenzialmente tossiche, è da segnalare *Alexandrium taylori* (specie potenzialmente produttrice di tossine PSP), i cui numeri in valle AMA erano considerevoli e sovrapponibili a quelli di *Alexandrium minutum*, nel giugno del 2021. Altre menzioni sono quelle di specie ittiotossiche come *Akashiwo sanguinea* (Figura 2), potenzialmente ittiotossica; infine, *Prorocentrum cordatum* (Figura 2), un'alga che è stata collegata alla presenza di tetrodotossina in molluschi della Grecia (Vlamiš et al., 2015), anche se non è stata finora riscontrata la produzione della tossina da parte di queste alghe. Infine, in Figura 5, sono riportate le immagini di alcune specie di Dinoflagellate potenzialmente tossiche riscontrate nei diversi campioni. Si tratta di specie produttrici di yessotossine, che a loro volta possono causare sindromi diarroidiche negli esseri umani (DSP).

Riguardo la presenza di specie non tossiche, gli ecosistemi vallivi erano caratterizzati da una maggiore diversità e ricchezza di specie, rispetto all'allevamento a mare. In particolare sono qui riportati i dati sulle Dinoflagellate, che sembrerebbero essere sfruttate maggiormente a scopo alimentare da specie quali *Crassostrea gigas* e *Mytilus galloprovincialis* (Xu & Yang, 2007). Da segnalare soprattutto, in valle AMA, la presenza di *Prorocentrum micans*, con valori che raggiungevano anche le 10^4 cell/L. Sono da segnalare anche diverse specie appartenenti al genere *Alexandrium* che, insieme a quelle tossiche riportate nelle tabelle precedenti, portano ad 8 il numero di specie totali (Figura 4). Infine, si vuole segnalare anche la presenza di un'alga tipicamente bentonica, non tossica, come la *Coolia monotis* (Figura 3), riscontrata in particolare nei campioni di valle AMA.



Akashiwo sanguinea



Prorocentrum cordatum

Fig. 2 | Immagini di due alghe potenzialmente tossiche, riscontrate nei campioni esaminati nel presente progetto

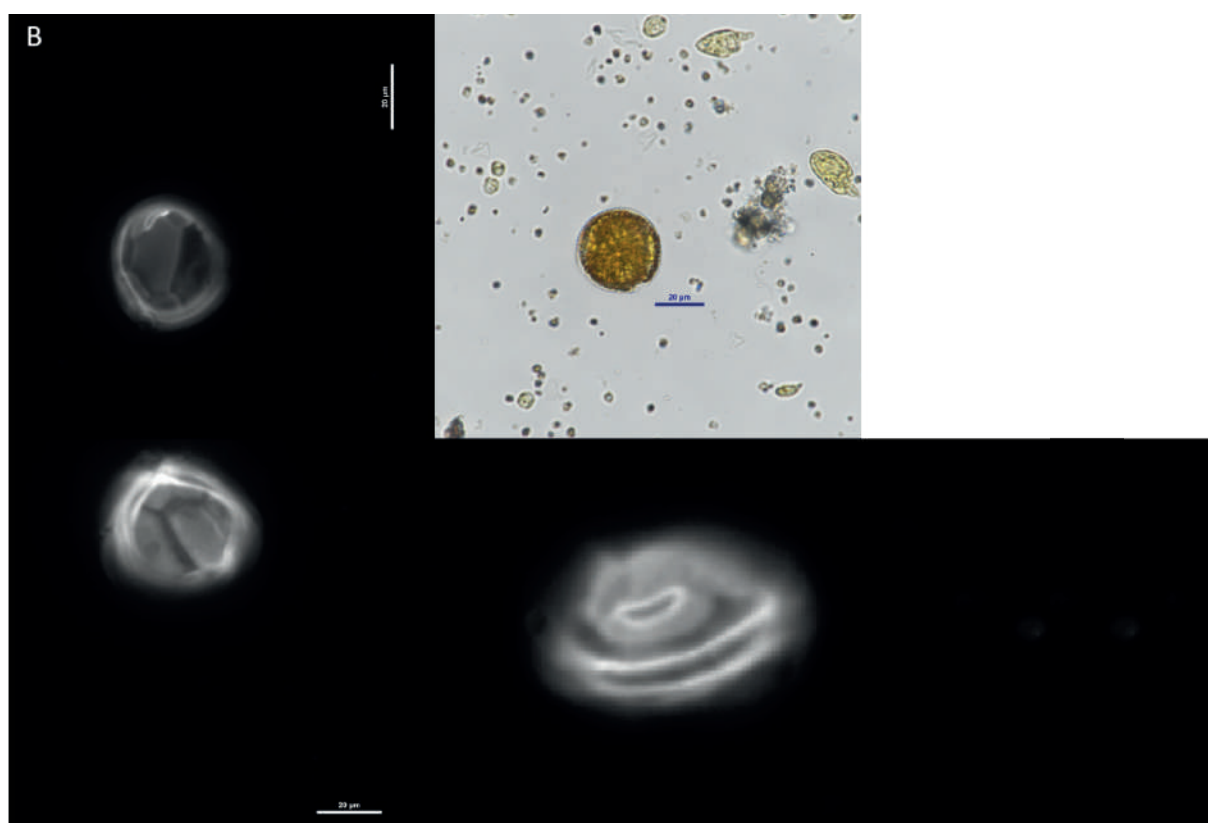


Fig. 3 | Alcuni esemplari di *Coolia monotis*, in epifluorescenza e in campo chiaro, presenti all'interno dei campioni analizzati nel presente progetto

Data prelievo	Luogo prelievo	Coolia monotis	Alexandrium margalefi	Alexandrium leei	Alexandrium insuetum	Alexandrium tamarense	Prorocentrum micans	Gymnodinium impudicum	Prorocentrum cf. borbonicum
20/05/2021	Valle Basegia								
21/05/2021	Valle AMA	80					21000	400	
09/06/2021	Valle AMA			80		320	85840		
22/06/2021	Valle AMA	400		600			86400		
14/07/2021	Valle AMA			520		1440	40000		
03/06/2021	Valle Basegia								
17/06/2021	Valle Basegia						400		
21/07/2021	Valle Basegia					120	540		
12/08/2021	Valle AMA						5400	2600	100000
17/08/2021	Valle Basegia						40	80	40
01/09/2021	Valle Basegia							240	1920
01/09/2021	Valle AMA						4520	840	80
20/09/2021	Valle Basegia						40		
08/10/2021	Valle Basegia								
28/10/2021	Valle Basegia								
21/12/2021	Valle Basegia								
25/01/2022	Valle Basegia								
25/02/2022	Valle AMA	15200					5200		

Tabella 5 | Dati sulle valli di pesca riguardanti le dinoflagellate non tossiche (N °cell/L)

Data prelievo	Luogo prelievo	<i>Alexandrium margalefi</i>	<i>Alexandrium insuetum</i>	<i>Alexandrium scutellum</i>
18/05/2021	Mare Caorle	120		
13/07/2021				40
15/10/2021				
26/10/2021				
22/12/2022			40	
06/12/2021			40	
10/02/2022				

Tabella 6 | Dati mare Caorle riguardanti le dinoflagellate non tossiche (N °cell/L)

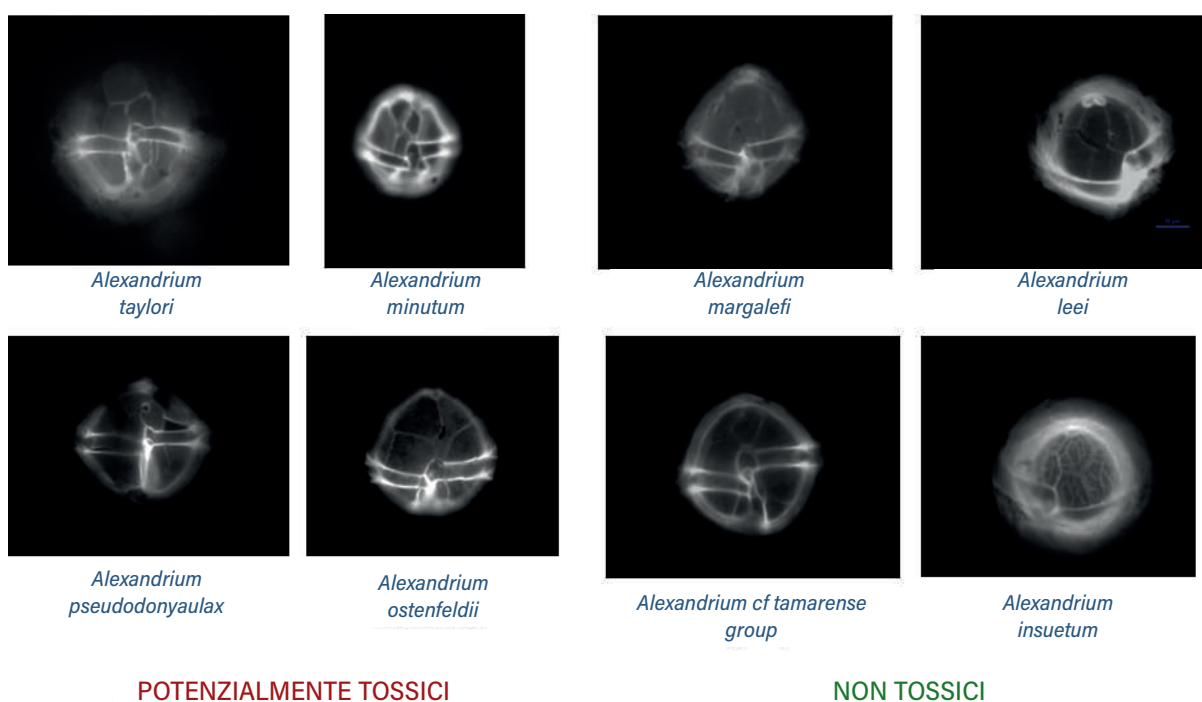


Fig. 4 | Otto specie appartenenti al genere *Alexandrium*, suddivise fra quelle potenzialmente tossiche e non, individuate nei vari campioni di acqua esaminati nell'ambito del presente progetto. Le immagini sono state effettuate su campioni colorati con Calcofluor White ed esaminate in epifluorescenza

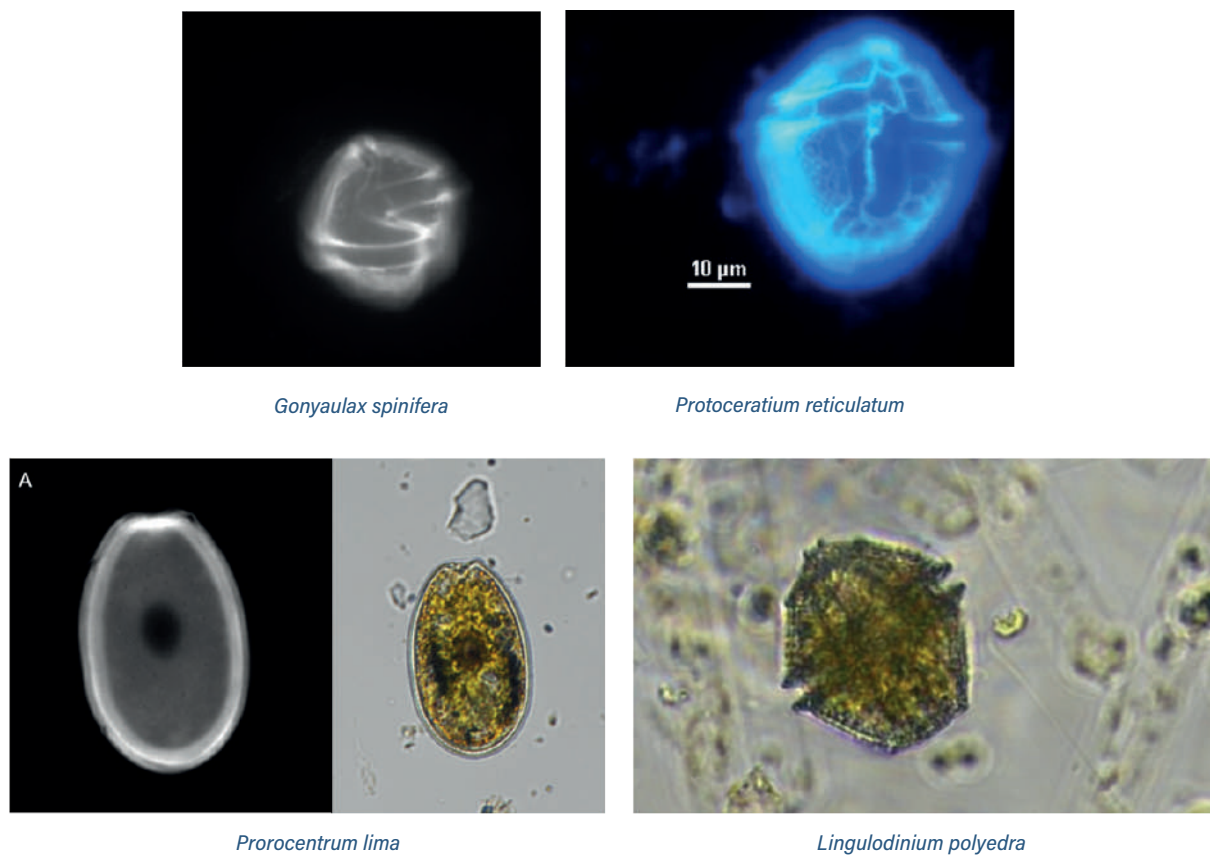


Fig. 5 | Alghe potenzialmente tossiche, osservate nei campioni oggetto del presente progetto. Le foto sono state prese sia in "campo chiaro" che in epifluorescenza

In conclusione, da un punto di vista descrittivo emerge come gli ecosistemi vallivi, rispetto all'allevamento a mare considerato ai fini del presente progetto, siano caratterizzate da una maggiore ricchezza di specie algali sia tossiche che non. Tuttavia, il numero di campionamenti e la loro frequenza non permettono di fare inferenze di tipo statistico su queste osservazioni, unitamente al fatto che negli allevamenti non sono stati effettuati test di tossicità sui molluschi. Questo avrebbe rafforzato eventuali correlazioni, soprattutto con le specie tossiche di alghe. In futuro quest'ultimo aspetto dovrebbe essere approfondito, così come potrebbe essere approfondita un'eventuale correlazione fra le specie di *Haslea* riscontrate e la possibile colorazione azzurro-verde nelle branchie delle ostriche che saranno collocate nelle valli di pesca, qualora questa caratteristica emergesse.

Bibliografia essenziale

Gastineau, R., Prasetya, F. S., Falaise, C., Cognie, B., Decottignies, P., Morançais, M., Méléder, V., Davidovich, N., Turcotte, F., Tremblay, R., Pasetto, P., Dittmer, J., Bardeau, J.-F., Pouvreau, J.-B., & Mouget, J.-L., 2018. *Marennine-Like Pigments: Blue Diatom or Green Oyster Cult?* Blue Biotechnology, June, 529–551. <https://doi.org/10.1002/9783527801718.ch16>

Mejdandžić, M., Bosak, S., & Ljubešić, Z., 2017. *Blue Diatoms: Global Phenomenon of "Greening" in Shellfish and Record of Planktonic Haslea Species in the South Adriatic Sea*. NAŠE MORE : Znanstveni Časopis Za More i Pomorstvo, 64(1), 38–44. <https://doi.org/10.17818/NM/2017/1.7>

Vlami, A., Katikou, P., Rodriguez, I., Rey, V., Alfonso, A., Papazachariou, A., Zacharaki, T., Botana, A. M., & Botana, L. M., 2015. *First detection of tetrodotoxin in greek shellfish by UPLC-MS/MS potentially linked to the presence of the dinoflagellate Prorocentrum minimum*. Toxins, 7(5), 1779–1807. <https://doi.org/10.3390/toxins7051779>

Xu, Q., & Yang, H., 2007. *Food sources of three bivalves living in two habitats of Jiaozhou Bay (Qingdao, China): indicated by lipid biomarkers and stable isotope analysis*. Journal of Shellfish Research, 26(2), 561–567

7.4 Analisi immunoistochimica

La positività per i due marcatori oggetto di esame, nitrotirosina e malondialdeide, è stata valutata in 5 soggetti per ciascuno dei 6 lotti campionati, 3 a Valle Basegia (Cavallino) e 3 nel sito a mare Caorle nei mesi di luglio (2021), ottobre (2021) e febbraio (2022).

La positività è stata espressa, in funzione del numero di immunoprecipitati, come lieve, moderata ed elevata. Gli organi target comprendono la ghiandola digestiva, il mantello, le branchie e il tessuto connettivo viscerale.

Nitrotirosina (NT)

Come riportato nelle tabelle, i due siti analizzati evidenziano positività per la NT molto basse e sovrapponibili nel periodo invernale (febbraio 2022). Nei mesi estivi (luglio 2021) la positività è maggiore in entrambi i siti, in particolar modo nel sito a mare che presenta positività elevate in tutti i soggetti soprattutto a livello di branchie e tubuli della ghiandola digestiva. Viceversa, nel periodo autunnale (ottobre 2021), gli animali in valle hanno mostrato un maggior numero di immunoprecipitati, in particolar modo nella ghiandola digestiva e nel tessuto connettivo viscerale.

Luglio 2021

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	moderata	debole
Sogg. 2	debole	elevata	elevata	debole
Sogg. 3	debole	moderata	moderata	debole
Sogg. 4	debole	debole	moderata	debole
Sogg. 5	debole	moderata	debole	debole

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	elevata	elevata	elevata	elevata
Sogg. 2	elevata	elevata	elevata	moderata
Sogg. 3	elevata	moderata	elevata	elevata
Sogg. 4	elevata	elevata	elevata	elevata
Sogg. 5	elevata	elevata	elevata	elevata

Ottobre 2021

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	elevata	moderata	moderata	elevata
Sogg. 2	elevata	moderata	moderata	elevata
Sogg. 3	elevata	moderata	moderata	moderata
Sogg. 4	elevata	moderata	elevata	moderata
Sogg. 5	elevata	moderata	moderata	elevata

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	moderata	elevata	elevata	moderata
Sogg. 2	debole	moderata	moderata	moderata
Sogg. 3	debole	moderata	moderata	moderata
Sogg. 4	debole	moderata	moderata	moderata
Sogg. 5	debole	moderata	moderata	moderata

Febbraio 2022

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	debole	debole
Sogg. 2	debole	debole	moderata	debole
Sogg. 3	debole	moderata	moderata	debole
Sogg. 4	debole	moderata	debole	debole
Sogg. 5	debole	debole	debole	debole

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	moderata	moderata
Sogg. 2	moderata	debole	debole	debole
Sogg. 3	debole	moderata	moderata	debole
Sogg. 4	moderata	moderata	moderata	debole
Sogg. 5	moderata	debole	debole	debole

Malondialdeide (MDA)

Analogamente a quanto riportato per la nitrosina, anche per la malondialdeide i due siti presentano positività molto basse nel periodo invernale (febbraio 2022) ma leggermente superiori nell'allevamento a mare. Nella stagione autunnale (ottobre 2021) si presenta una situazione analoga, con un maggior numero di positività moderate nel sito a mare, soprattutto a livello di mantello e branchie (Fig. 6). Dal campionamento estivo, invece (luglio 2021), la positività continua ad essere molto debole a valle Basegia ma cresce notevolmente nel sito a mare, in particolar modo in branchie, mantello e ghiandola digestiva (Fig. 7).

Luglio 2021

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	debole	negativa
Sogg. 2	debole	debole	moderata	negativa
Sogg. 3	debole	debole	debole	negativa
Sogg. 4	debole	debole	debole	debole
Sogg. 5	debole	debole	debole	negativa

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	debole	debole
Sogg. 2	debole	moderata	moderata	debole
Sogg. 3	moderata	moderata	moderata	debole
Sogg. 4	moderata	moderata	moderata	debole
Sogg. 5	moderata	elevata	moderata	debole

Luglio 2021

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	debole	negativa
Sogg. 2	moderata	debole	debole	debole
Sogg. 3	negativa	moderata	moderata	negativa
Sogg. 4	negativa	debole	debole	negativa
Sogg. 5	negativa	debole	debole	negativa

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	moderata	debole	negativa
Sogg. 2	negativa	moderata	moderata	negativa
Sogg. 3	debole	moderata	moderata	negativa
Sogg. 4	debole	moderata	debole	negativa
Sogg. 5	debole	debole	debole	debole

Febbraio 2022

Valle Basegia	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	debole	debole	debole	debole
Sogg. 2	debole	debole	debole	debole
Sogg. 3	debole	debole	debole	debole
Sogg. 4	debole	debole	debole	negativa
Sogg. 5	debole	debole	debole	debole

Mare Caorle	Ghiandola digestiva	Mantello	Branchie	Connettivo viscerale
Sogg. 1	negativa	debole	debole	negativa
Sogg. 2	debole	moderata	moderata	debole
Sogg. 3	debole	debole	debole	debole
Sogg. 4	debole	moderata	moderata	negativa
Sogg. 5	negativa	debole	debole	negativa

Quanto emerge dall'analisi immunoistochimica è che l'ecosistema vallivo costituisce una valida alternativa all'allevamento delle ostriche a mare, in particolar modo nel periodo estivo, quando entrambi i marcatori di stress utilizzati, evidenziano positività elevate nel sito a mare e molto inferiori in ambiente vallivo. Tale differenza potrebbe essere dovuta alla diversa gestione delle due tipologie di allevamento: l'allevamento in valle, infatti, consente una lavorazione del prodotto più agevole e controllata sia in termini di manipolazione che di controllo di eventuali fenomeni di stress\mortalità.

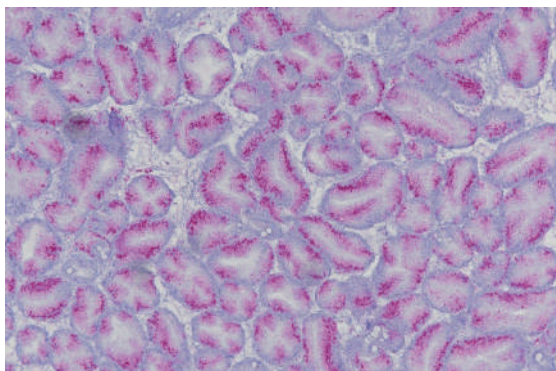


Fig. 6 | Immunoprecipitati in ghiandola digestiva (IHC, NT 10X)

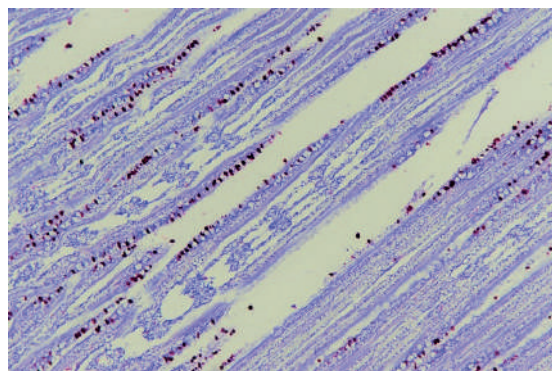


Fig. 7 | Immunoprecipitati in branchie (IHC, NT 10X)

7.5 Caratteristiche nutrizionali del prodotto finale

È noto che i molluschi bivalvi garantiscono un ottimo apporto in proteine, sali minerali, oligoelementi, vitamine del gruppo B, ed uno scarso apporto calorico ed in lipidi, caratteristica che li ascrive agli alimenti cosiddetti "dietetici". Le diverse specie di bivalvi possiedono caratteristiche nutrizionali abbastanza simili tra loro. L'ostrica ha però alcune peculiarità, come un più elevato contenuto in carboidrati (glicogeno). Anche la quantità di lipidi, prevalentemente insaturi, è più elevata, ed è formata da colesterolo e da fitosteroli (stigmasterolo, campesterolo, sitosterolo, ecc.) in grado questi ultimi di ridurre i livelli ematici di colesterolo e in particolare di colesterolo cattivo (ovvero il colesterolo Low Density Lipoprotein o "LDL", quello caratterizzato da lipoproteine a bassa densità) e il conseguente rischio di aterosclerosi. La quantità di glicogeno tende ad aumentare in periodo riproduttivo, in quanto utilizzato quale sostanza di riserva energetica. Questo non accade in caso di ostriche triploidi. Inoltre le ostriche sono particolarmente ricche di vitamina B12 (25µg/100g), selenio (100µg/100g) e zinco (20mg/100g).

Vitamina B12: in realtà, con il termine vitamina B12 si intende un gruppo di sostanze denominate "cobalamine": sono composti organici chimicamente simili tra loro e che contengono uno ione di cobalto. Il nostro corpo non è in grado di sintetizzare questo micronutriente, che pertanto deve essere assunto attraverso la dieta. La vitamina B12 interviene in numerosi processi biochimici, come ad esempio nel rinnovamento cellulare, grazie al suo intervento nella replicazione di DNA e RNA insieme ai folati. Interviene inoltre nella sintesi di dopamina e noradrenalina, prodotte in situazioni di stress e partecipa al metabolismo di varie molecole, contribuendo alla produzione di energia. Riduce anche il rischio di infarto, dato che trasforma l'omocisteina in metionina. Le ostriche contengono vitamina B 12 ben 8 volte più della carne di manzo.

Selenio: è un antiossidante e protegge il corpo dagli effetti dei radicali liberi, prodotti di ossidazione che danneggiano vasi sanguigni e altri tessuti, predisponendo a processi di invecchiamento e allo sviluppo di malattie. Il selenio attiva anche le prostaglandine, molecole che agiscono come "modulatori locali" del controllo degli ormoni sul metabolismo e sulle attività funzionali delle cellule.

Zinco: influisce sulla risposta immunitaria poiché promuove lo sviluppo dei globuli bianchi. Più in particolare, lo zinco stimola il timo nella produzione di timulina, che potenzia l'azione dei leucociti T4-helper.

Le ostriche oggetto di allevamento nei tre diversi ambienti utilizzati in questo progetto sono state sottoposte ad analisi nutrizionale nel periodo invernale, periodo in cui i valori nutrizionali sono ai livelli inferiori, con le seguenti metodiche analitiche, presso i laboratori IZSve:

Tipo di analisi	Metodica
Proteine	Esame chimico-fisico
Umidità e ceneri	Densitometrico/gravimetrico
Grassi totali	Gravimetrico
Carboidrati (estrattivi inazotati)	Calcolo secondo il Reg. UE 1169/2011
Frazione lipidica	Gascromatografia

	Valori medi bibliografia*	Mare Caorle	Valle AMA	Valle Basegia
Proteine	10,20	10,40	9,70	10,70
Carboidrati	4,50	6,10	4,70	6,0
Grassi totali	2,47	1,86	3,06	1,91
Monounsaturi	0,25	0,73	0,58	0,33
Polinsaturi	0,73	0,78	1,71	0,93
Saturi	0,63	0,35	0,77	0,65
Ceneri	1,42	1,73	1,73	1,95
Umidità	85,70	79,95	80,80	79,45

* Dati Crea e USDA

Come si può evincere dalla tabella dei risultati, non si rilevano scostamenti di rilievo rispetto ai valori medi riportati in letteratura. Solo gli acidi grassi polinsaturi hanno valori leggermente più elevati.

Bibliografia essenziale

Berthelin C., Kellner K., Mathieu M., 2000. *Storage metabolism in the Pacific oyster (Crassostrea gigas) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France)*, Comp. Biochem. Physiol., 125B, 359-369

Pleadin J., Kvirgić K., Zrnčić S., Lešić T., Koprivnjak O., Vulić A., Džafić N., Oraić D. and Krešić G., 2019. *Variations In Nutritive Composition Of Three Shellfish Species*, Ital. J. Food Sci., vol. 31, 716-730

Vazhiyil Venugopaland and Kumarapanicker Gopakuma, 2017. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.16, Shellfish: Nutritive Value, Health Benefits, and Consumer Safety
Yijing Zhu, Qi Li, Hong Yu and Lingfeng Kong, 2018. *Biochemical Composition and Nutritional Value of Different Shell Color Strains of Pacific Oyster Crassostrea gigas*, Journal of Ocean University of China vol. 17, 897-904

https://www.nutritionvalue.org/login.php?next_url=%2FOysters%252C_raw_26315100_nutritional_value.html (Dati USDA)

<https://www.crea.gov.it/-/tabella-di-composizione-degli-alimenti> (Dati CREA)

8. CONSIDERAZIONI FINALI: punti di forza e di debolezza dell'allevamento in valle-mare

Analisi SWOT: Strengths (punti di forza), Weaknesses (punti di debolezza), Opportunities (opportunità) e Threats (minacce).

8.1 Aspetti tecnologici relativi all'allevamento in valle – Analisi SWOT

Punti di forza

- Qualità del prodotto: la elevata portanza eutrofica dell'ambiente assicurano una abbondante disponibilità di nutrienti per una crescita ottimale degli animali; inoltre la facilità di accesso agli impianti di allevamento, comodamente serviti da strade, pontili ed energia consente una lavorazione frequente ed efficace del prodotto. Questo consente di ottenere una pregiata qualità della produzione a costi controllati. Basso impatto ambientale: le varie forme di molluschicoltura in generale, ivi compresa l'ostricoltura, per loro natura sono pratiche sostenibili grazie al loro caratteristico basso impatto e per via della riduzione di materia organica e fissazione di anidride carbonica
- Risparmio energetico: a differenza di quanto avviene in mare aperto, i mezzi utilizzati, soprattutto quelli nautici laddove necessari, sono di piccole dimensioni, propulsi da motori di potenza ridotta o elettrici se non a mano. Gli spostamenti del prodotto dalla area di ingrasso a quella di lavorazione a terra sono per distanze minime. Tutto ciò consente un notevole risparmio in termini di energie consumate e impatto prodotto
- Facile accesso agli impianti: le valli sono ambienti circoscritti, serviti da strade ed energia disponibile direttamente sul posto. I luoghi sono facilmente adattabili e attrezzabili con pontili per attracco delle imbarcazioni e per l'alloggiamento di aree di lavorazione e macchinari, in prossimità delle zone di allevamento
- Alta valenza turistica: l'accesso di visitatori rappresenta una caratteristica tradizionale delle valli alto adriatiche, che consente la fruizione naturalistica e paesaggistica di un ambiente unico ma anche culturale e gastronomica da parte di un'ampia platea di pubblico interessato. La introduzione di una nuova pratica di produzione primaria aggiungerebbe interesse a queste visite
- Tipicità nord-adriatica: Pressoché l'intero arco costiero del nord Adriatico è composto da ambienti lagunari e vallivi potenzialmente interessati da questa pratica. Tale situazione, in maniera così estesa, non è presente in nessun altro areale del territorio italiano
- Chilometro zero: Il bacino limitrofo di destinazione di una tale produzione alimentare sarebbe amplissimo, composto sia dalla numerosa popolazione residente che dall'ingente afflusso di turisti provenienti da tutto il mondo che caratterizza la zona

- Riparo da calamità naturali: la natura circoscritta, confinata e arginata della valle riduce considerevolmente il rischio di fenomeni naturali estremi avversi, quali alluvioni, burrasche e mareggiate
- Fitoplancton tipico: Un ambiente di transizione come quello vallivo, in alcuni casi e in determinate stagioni, può favorire lo sviluppo di specie microalgali, in particolare diatomee, che hanno la caratteristica di conferire alle branchie delle ostriche della valle una tipica colorazione verde smeraldo. Questa circostanza, nota soprattutto in Francia nella regione di Marennes-Oleron, dona al prodotto una spiccata appetibilità commerciale in virtù della sua peculiarità
- Presidio del territorio e controllo dell'inquinamento: le zone di produzione di molluschi sono assoggettate ad una stringente normativa che comporta costanti controlli sanitari sulla qualità delle acque e del prodotto. Eventuali problemi di inquinamento di varia natura vengono tempestivamente individuati dando la possibilità di intervenire per affrontarli
- Maturità del mercato e del settore logistico specialistico: la consolidata presenza sul territorio di imprese del settore molluscolario di altre specie, vongole e mitili principalmente, garantiscono un efficiente sistema di avvio al mercato della produzione anche attraverso una ben radicata rete logistica dedicata all'ittico
- Presenza sul territorio di Enti di ricerca settore acquacoltura: come avviene per la logistica, anche diversi enti di ricerca di comprovata esperienza si alimentano della ricchezza del settore molluscolario regionale

Opportunità

- Valorizzazione acquacoltura di valle, con nuove specie allevate
- Aumento reddito lavoro di valle
- Presenza di vallicoltori in modo stabile
- Integrazione produzioni valle-laguna-mare: prodotto disponibile l'intero anno. Possibilità di integrare i diversi ambienti utilizzandoli in maniera complementare per eseguire in ciascuno la fase di accrescimento più adatta (nursery, preingrasso, ingrasso o affinamento)

Punti di debolezza

- Carenza di ostricoltori professionisti e, più in generale, mancanza di conoscenza del prodotto e del mestiere con forte ritardo nella disponibilità di istituti e/o scuole di formazione professionale specialistica

- Ritrosia dei vallicoltori a diversificare o a collaborare con soggetti esterni alla loro stessa organizzazione
- Sfruttamento di aree vallive con costante flusso acqua (poche)
- Rischio di fenomeni anossia ricorrenti per eccesso bloom algali o eccessiva variabilità di parametri fisici e chimici fondamentali quali salinità e temperatura
- Utilizzo dati ambientali satellitari non possibile
- Ottenimento autorizzazione: intersezione più enti pubblici con tempistiche lunghe per l'ottenimento delle varie autorizzazioni

Minacce

- Ostricoltura legata comunque al destino della vallicoltura
- Rischio di contaminazione da parte di agenti inquinanti provenienti principalmente dalla terraferma a monte

8.2 Aspetti sanitari

Sanità animale

Riguardo le malattie trasmissibili dell'ostrica concava, nel periodo in cui è stata svolta questa ricerca, dai risultati delle analisi svolte nelle varie stagioni non si evidenzia la presenza di patogeni virali, batterici e protozoari. Si riporta solo la sporadica presenza di *Vibrio splendidus* e per limitati periodi, senza alcuna ripercussione sulla salute delle ostriche. Riguardo parassiti metazoi, da segnalare la presenza di *Polydora*, *Anellidae* della classe dei *Policheti*, soprattutto nell'allevamento in valle AMA, ma tali da non pregiudicare il prodotto. In mare si segnala la maggior presenza di serpulidi sui gusci, eliminati dal guscio grazie ad interventi periodici di pulizia con apposito apparecchio rotante. Da segnalare la presenza di specie microalgali tossiche per molluschi e pesci, come *Akashiwo sanguinea*, nei mesi estivi. Questa microalga può provocare morie di molluschi bivalvi non tanto per le tossine prodotte ma per l'intasamento delle branchie causato da un numero elevato di esemplari di questa specie presenti all'interno della colonna d'acqua.

In base alla normativa base di riferimento: REGOLAMENTO (UE) 2016/429 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 9 marzo 2016 relativo alle malattie animali trasmissibili e che modifica e abroga taluni atti in materia di sanità animale, la cosiddetta Animal Health Law (AHL), durante la ricerca non sono pertanto risultate malattie esotiche (categoria A), non esotiche od emergenti. Peraltro delle due malattie esotiche elencate in AHL, l'ostrica concava risulta sensibile a *Mikrocytos mackini*, meno sensibile a *Perkinsus marinus*. Riguardo le tre malattie

non esotiche, per *Bonamia ostreae* e *Marteilia refringens* (categoria C), in questo caso l'ostrica concava non risulta suscettibile mentre per *Bonamia exitiosa*, risulta specie vettrice, ma non sviluppa malattia.

Questa favorevole situazione può essere messa in relazione al fatto che per questa ricerca è stato utilizzato sempre seme (spat di 3-4 mm) importato da schiuditori francesi con certificato sanitario a garanzia di assenza di malattie trasmissibili. Aver condotto le prove in ambiente vallivo, ambienti chiusi, con scarsa presenza di ostriche e altri bivalvi selvatici, ha senza dubbio contribuito a non esporre le ostriche allevate al contatto con patogeni. Anche la tipologia di allevamento impiegata, che in valle prevede la rotazione delle ceste legata ai momenti di cambio di flusso di acqua (fase di marea), ha ridotto il numero di interventi da parte dell'allevatore, con minor stress e meno scambio-interazione con eventuali patogeni trasportati passivamente. Aver messo a dimora giovanili (spat) in periodo tardo autunnale o primaverile, bypassando i periodi di transizione freddo caldo come la tarda primavera con temperature che superano i 16-20 °C, ha evitato lo stress e successiva predisposizione allo sviluppo soprattutto di *Ostreid Herpes Virus -01* classico e *μvar*, che non ha mai causato episodi di mortalità, né in valle né in allevamento a mare.

Sicurezza alimentare

Riguardo la sicurezza igienico sanitaria delle ostriche oggetto di sperimentazione, vengono considerate due tipologie di pericoli sanitari, di origine naturale e di origine antropica. Contaminanti di origine naturale, con presenza endemica in ambiente acquatico: è stata segnalata presenza di fitoplancton potenzialmente tossico in quanto in grado di produrre biotossine. Vedasi quanto descritto al paragrafo 7.3.

Riguardo l'aspetto microbiologico, sono stati considerati i batteri del genere *Vibrio* quali organismi autoctoni, alofili e tipici dell'ambiente acquatico salmastro-marino. In particolare, le indagini colturali per *V. parahaemolyticus* hanno dato risultato negativo. Si consideri comunque che la percentuale di ceppi tossigeni di *V. parahaemolyticus* (TDH e TRH positivi) è sempre molto bassa rispetto agli isolati trovati in laboratorio. *V. cholerae* NAG, alofilo potenzialmente patogeno ed oggetto di controllo da parte dell'Autorità sanitaria di controllo in fase di commercializzazione (Linee guida per il controllo ufficiale ai sensi dei Reg. 882 e 854/04 – Conferenza Stato Regioni 10/11/2016) non è stato mai riscontrato. E' stato cercato anche *V. vulnificus*, risultato sempre assente.

Contaminanti di origine antropica

Riguardo l'allevamento a mare al largo di Caorle, questo è stato ubicato in un ambito già classificato dall'Autorità Sanitaria Competente per le specie mitilo e ostrica e pertanto l'area risulta già idonea dal punto di vista sanitario per i contaminanti di origine antropica, rispetto alla normativa vigente. Invece per gli allevamenti posti in ambiente vallivo è stata fatta una verifica di eventuali fonti contaminanti (sanitary survey), risultate assenti.

Riferimenti normativi

- Regolamento (CE) 29 aprile 2004, n. 853, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, e in particolare l'Allegato III, Sezione VII Molluschi bivalvi vivi, il quale fissa requisiti e norme relative ai molluschi bivalvi vivi (MBV) destinati al consumo umano
- Regolamento (UE) 625/2017 relativo ai "Controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari" che definisce come ai fini dei controlli ufficiali effettuati in relazione a molluschi bivalvi vivi, le autorità competenti classificano le zone di produzione e di stabulazione
- Regolamento di esecuzione (UE) 627/2019 che stabilisce "Modalità pratiche uniformi per l'esecuzione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano", ed in particolare gli articoli 52 e 65 relativi al coinvolgimento OSA in fase di classificazione e gestione sanitaria delle aree di raccolta molluschi
- Deliberazione della Giunta Regionale - Veneto n. 870 del 21 giugno 2011 "Linee guida per l'applicazione del Regolamento (CE) 854/2004 e del Regolamento (CE) 853/2004 nel settore dei molluschi bivalvi", che nel recepire le Linee Guida Nazionali per l'applicazione del Reg. (CE) n. 854/2004 e del Reg. (CE) n. 853/2004 nel settore dei MBV di cui all'Intesa Stato Regioni n. 79/CSR del 18 luglio 2010, ne integra la disciplina con peculiarità di carattere regionale relativamente alla classificazione, al monitoraggio e alla sorveglianza delle zone classificate per la raccolta di MBV destinati al consumo umano
- Deliberazione della Giunta Regionale - Veneto n. 200 / DGR del 24/02/2021 "Molluschi bivalvi vivi destinati all'immissione in commercio (MBV): definizione dei nuovi ambiti di produzione e riclassificazione triennale 2018-2020 delle zone di produzione, raccolta e stabulazione. Classificazione a stato "iniziale" ambito 13L002 - specie: *Ruditapes decussatus* e *Ruditapes philippinarum* (vongola verace). Modifica DGR n. 475 del 23 aprile 2019
- Linee guida europee "Community Guide to the Principles of Good Practice for the Microbiological Classification and Monitoring of Bivalve Mollusc Production and Relaying Areas with regard to Implementing Regulation 2019/627", pubblicate nel settembre 2021

L'analisi dei contaminanti è stata effettuata, su richiesta ASL del territorio, solo su valle Basegia a seguito di alcune non conformità in pesce riscontrate precedentemente per il parametro MERCURIO. E' stata dunque verificata la conformità delle ostriche messe a dimora per la ricerca. Di seguito i risultati, che in base alla vigente normativa (Reg. 1881/2006 e Reg. 629/2008) risultano conformi.

OSTRICHE		
Campione	Peso in Kg	Hg in mg/kg
1	0,0953	0,089
2	0,0844	0,167
3	0,1175	0,127
4	0,1163	0,243
5	0,0992	0,125
6	0,1283	0,124
7	0,1128	0,061
8	0,1069	0,091
9	0,1133	0,100
10	0,1153	0,184

Riflessione sul consumo di ostrica cruda

Tra i molluschi consumati in Italia certamente le ostriche, che vengono per consuetudine consumate crude/vive, sono i bivalvi più delicati dal punto di vista sanitario. In particolar modo, l'attenzione si concentra su quei pericoli biologici, come virus e batteri di origine enterica, organismi termolabili che quindi nei molluschi consumati cotti non sono oggetto di segnalazioni di infezione nell'uomo o lo sono raramente, solamente in caso di parziale cottura. In effetti a livello europeo, l'ostrica è di gran lunga il bivalve oggetto di segnalazioni di allerta nel sistema RASFF, per eventi di infezione da *Norovirus*. Da qui l'importanza nella scelta del luogo di allevamento che deve essere lontano da apporti di inquinamento fecale, urbano e/o zootecnico. Mentre in mare, per l'effetto diluizione, i contaminanti fecali difficilmente vengono concentrati dall'ostrica, diverso è per gli allevamenti sotto-costa: lagunari o, come in questo caso, vallivi. In questo senso risulta interessante la possibilità di integrare l'allevamento in valle con l'allevamento in mare, proprio per evitare la contaminazione fecale nell'ultimo periodo di allevamento. Soprattutto virus enterici, in particolare *Norovirus*, potrebbero essere un problema in valle, in quanto la loro presenza in acqua salmastra può permanere per alcune settimane.

ASPETTI SANITARI RELATIVI ALL' ALLEVAMENTO IN VALLE - ANALISI SWOT

Punti di forza

- Controllo frequente delle ostriche: certamente il più facile accesso all'allevamento in valle permette più frequenti ispezioni con una migliore pulizia delle pòches per evitare così l'eccessivo accumulo di fouling ed una più frequente risistemazione spaziale degli animali consente di migliorare l'attività filtratoria. Anche la vitalità e la crescita vengono controllate più volte rispetto all'allevamento a mare
- L'ambiente vallivo, essendo isolato rispetto a quanto lo sono mare e laguna, consente un maggior isolamento da ostriche selvatiche, possibili carrier di patogeni
- L'esposizione all'aria, consentita in valle grazie all'utilizzo di pòches flottanti e auto-rotanti, rende i soggetti più robusti in seguito alla periodica e controllata esposizione all'aria, con maggior durata di vita commerciale
- Poter disporre dei due ambienti, vallivo e marino, permette di poter eventualmente spostare gli animali in caso di valori termici proibitivi, presenza lunghi periodi di biotossine in mare, sopraggiunti fenomeni anossici in valle, etc.

Punti di debolezza

- Fenomeni di aumento temperatura soprattutto nel periodo estivo
- Fioriture algali (macro e microalghe) con conseguente anossia
- Minor ricambio di acqua: tempi maggiori per il ripristino di valori normali, soprattutto relativamente a fenomeni alluvionali con apporto di acqua dolce potenzialmente contaminata da sostanze di derivazione antropica/zootecnica

Minacce

- Sfida cambiamenti climatici – eventi estremi ed effetti in ambiente vallivo

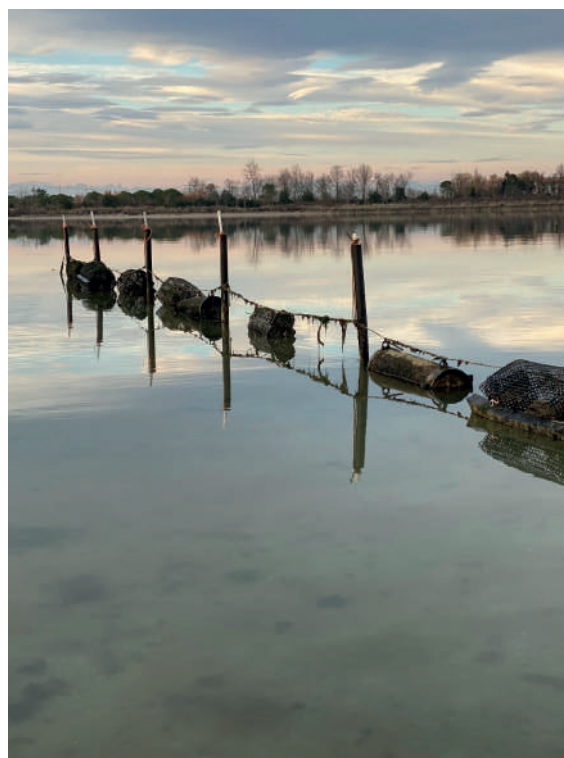
Opportunità

- La valle, ambiente relativamente chiuso, si presta alla possibilità di essere indenne relativamente ad alcuni patogeni trasmissibili

9. Appendice



Valle Ama : panorama e dettaglio poches



Valle Basegia : panorama e dettaglio poches



Allevamento a Mare Caorle: panoramica e lanterne



Allevamento a Mare Caorle: motonave



Sonda multiparametrica
con pannello fotovoltaico



Drone acquatico



Lanterne

