

XII Convegno SIRAM

"La molluschicoltura in una prospettiva One Health"
Salute animale e sicurezza alimentare
in un ambiente che cambia

Caorle (VE) 3-4 ottobre 2025
Centro Civico - Piazza Vescovado



XII Convegno SIRAM

Società Italiana di Ricerca Applicata alla Molluschicoltura

"La molluschicoltura in una prospettiva One Health"
Salute animale e sicurezza alimentare
in un ambiente che cambia



Atti del Convegno

Caorle, 3-4 ottobre 2025
Centro Civico- Piazza Vescovado

www.siram-molluschi



XII Convegno SIRAM

Società Italiana di Ricerca Applicata alla Molluschicoltura

Caorle, 3-4 ottobre 2025

Sede: Centro Civico - Piazza Vescovado

**"La molluschicoltura in una prospettiva One Health"
Salute animale e sicurezza alimentare
in un ambiente che cambia**

Segreteria Scientifica Convegno:

Giuseppe Prioli - M.A.R.E. Soc. Coop. Ar.l.

Tommaso Petochi - ISPRA

Laura Bille - IZSVe

Manuela Dalla Pozza - IZSVe

Segreteria Organizzativa Convegno:

Alessandra Silvagni - IZSVe

Eleonora Franzago - IZSVe

Sofia Donini - IZSVe

Direttivo SIRAM

Giuseppe Prioli (Presidente)
Tommaso Petochi (Vice-presidente)
Laura Bille (Segretario-tesoriere)
Francesca Barchiesi
Fabio Borghesan
Piergiorgio Fumelli
Domenico Meloni
Paola Venier
Alessia Vetri

Collegio Sindacale

Cesare Ciccarelli (Presidente)
Eleonora Franzago

Supplenti:

Alessandro Gorla

Collegio dei Provviri

Manuela Dalla Pozza
Andrea Fabris
Otello Giovanardi (Presidente)

PATROCINI



PATROCINIO



CITTÁ DI CAORLE

SPONSOR



Associazione Mediterranea Acquacoltori



daibruni



Gastronomia e Cucina
Inclusiva

ETS APS
ANFFAS
SAN DONÀ DI PIAVE
dal 1958 la persona al centro
ASSOCIAZIONE LOCALE DI
FAMIGLIE E PERSONE CON
DISABILITÀ INTELLETTIVE E
DISTURBI DEL NEUROSVILUPPO



PROGRAMMA

Programma

Venerdì 3 ottobre 2025

MATTINA

- 09.45 - 10.15 *Registrazione partecipanti*
10.15 - 10.45 *Apertura lavori – Giuseppe Prioli*
Saluti autorità
- 10.45 - 12.25 *Relazione orale di 10 abstract selezionati dal comitato scientifico (10 minuti ciascuno)*

Moderatrice: Francesca Barchiesi (IZSUM)

- 10.45 - 10.55 **Simone Bacchiocchi** (IZSUM T. Rosati) – *Tetrodotossine (TTXs) in Gasteropodi, Ricci di mare e Granchio blu dell'Adriatico: prima segnalazione in riccio di mare (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816)*
- 10.55 - 11.05 **Claudia Casarotto** ed **Eleonora Franzago** (IZSVe) – *La tecnologia al servizio della produzione: un sito web per la visualizzazione delle zone di produzione dei molluschi bivalvi nella Regione Veneto (Ambiti Bivalvi Veneto)*
- 11.05 - 11.15 **Stefano Dalle Palle** (IZSVe) – *Mitili come filtri biologici: metagenomica shotgun di geni di antibiotico resistenza e patogeni accumulati dall'ambiente marino*
- 11.15 - 11.25 **Diana Di Luccio** (Uniparthenope) – *High Performance Computing (HPC) e Artificial Intelligence (AI) per la sicurezza alimentare nella mitilicoltura*
- 11.25 - 11.35 **Eugenio Fossi** (UNIBO) – *Tassonomia integrativa e coinvolgimento degli allevatori per tracciare i vermi parassiti non-nativi *Polydora* nell'ostricoltura dell'Adriatico*

Moderatrice: Alessia Vetri (IZSVe)

- 11.35 - 11.45 **Laura Lanci** (UNITE) – *Impatto del cambiamento climatico sull'acquacoltura dei bivalvi e principali strategie di mitigazione: una revisione sistematica*
- 11.45 - 11.55 **Luigi Martella** (ARPAL) – *Molluschicoltura, cambiamenti climatici e Blue Economy: alcuni risultati del monitoraggio ambientale nel Golfo della Spezia (Liguria)*
- 11.55 - 12.05 **Chiara Mascitelli** (UNIPD) – *Strategie di priming come mitigazione agli effetti delle ondate di calore sulla vongola verace (*Ruditapes philippinarum*)*
- 12.05 - 12.15 **Davide Nordio** (UNIBO) – *Indicatori biometrici e fisiologici integrati rivelano l'impatto dell'acidificazione indotta dai cambiamenti climatici nel Mare Adriatico sulla produzione del bisso, sul comportamento e sulla biomineralizzazione del guscio della cozza mediterranea (*Mytilus galloprovincialis*)*
- 12.15 - 12.25 **Chiara Spinsante** (UNIVPM) – *Genetica di popolazione e adattamento locale in ambienti marini: il caso del genere *Chamelea* nel bacino del Mediterraneo e nelle aree limitrofe.*
- 12.25 - 13.15 *Discussione generale sulle relazioni del mattino*
- 13.15 - 14.00 *Light Lunch – visita sessione poster*

POMERIGGIO
Workshop “Molluschi in movimento”

Moderatore: Tommaso Petochi (ISPRA)

- 14.00 - 14.20 **Lidia Cecio** (Ministero della Salute UVAC - PIF Veneto, Friuli Venezia Giulia, Trentino Alto Adige) – *“La movimentazione dei molluschi in ambito comunitario per reimersione”.*

- 14.20 - 14.40** **Stefano Gilebbi** (*O.P. Mitili Veneto Soc. Coop*) – “L’esperienza dell’Organizzazione di Produttori della pesca di mitili della laguna e del litorale Veneto”.
- 14.40 - 15.00** **Stefania Chiesa** (*Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale - ISPRA*) – “La genetica molecolare come strumento per il monitoraggio e la gestione sostenibile della mitilicoltura”
- 15.00 - 15.30** **Alessandro Gorla** (*Compagnia Ostricola Mediterranea scarl*) e **Stefano Rocchi** (*Aquatec-Caorle*) – “Ostricoltura in Italia: stato dell’arte, un’esperienza locale e prospettive di aggregazione”.
- 15.30 - 15.50** **Andrea Maroni Ponti** (*Ministero della Salute*) e **Manuela Dalla Pozza** (*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*) – “D.M. del 25 settembre 2024 e relative linee guida sull’applicazione delle misure di biosicurezza in acquacoltura”.
- 15.50 - 16.15** *Coffee break*
- 16.15 - 16.45** **TAVOLA ROTONDA** – Moderatore: **Giuseppe Prioli**
- 16.45 - 17.15** *Discussione generale sulle relazioni del pomeriggio*
- 17.15 - 17.45** *Direttivo per approvazione bilancio*
- 17.45 - 18.30** *Assemblea dei soci ed elezione nuovo Direttivo*
- 19.45** *Aperitivo e Cena Sociale*
(Hotel International, Viale Santa Margherita 57, Caorle-VE)

Sabato 4 ottobre 2024
MATTINA

Workshop “Adattamento all’ambiente: quali margini e quali strumenti?”

Moderatore: Paola Venier (UNIPD)

- 08.45 - 09.00 *Introduzione alla sessione*
- 09.00 - 09.20 **Marco Barucca** (*Università Politecnica delle Marche*) – “*La forza della variabilità genetica nell’adattamento e nella resilienza dei molluschi bivalvi*”.
- 09.20 - 09.40 **Donatella Ottaviani** (*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Umbria e delle Marche “Togo Rosati”*) – “*La ricerca al servizio della sicurezza per il consumatore e delle produzioni*”.
- 09.40 - 10.00 **Alessandro Nardi** (*Università Politecnica delle Marche*) – “*Ecotossicologia come strumento per la salvaguardia dell’ambiente e delle produzioni*”.
- 10.00 - 10.30 *Discussione della sessione*
- 10.30 - 11.00 *Coffee break*

Moderatore: Giuseppe Prioli (M.A.R.E. Soc. Coop. A r.l.)

- 11.00 - 11.20 **Tommaso Petochi** (*Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, ISPRA*) – “*Cambiamenti climatici e rischi per la molluschicoltura*”.
- 11.20 - 11.40 **Thomas Galvan** (*Agriteco s.c.*) – “*Evoluzione dei banchi di vongole (*Chamelea gallina L.*) in nord Adriatico*”.
- 11.40 - 12.00 **Arianna Mancuso** (*Università Bologna*) – “*Fattori ambientali che influenzano i processi di ingrasso e calcificazione delle cozze selvatiche e d’allevamento nel mar Adriatico*”.
- 12.00 - 12.20 **Edoardo Turolla** (*Istituto Delta Ecologia Applicata srl*) – “*Aggiornamenti sullo stato della venericoltura in relazione alla problematica del granchio blu*”.

12.20 - 12.50 Discussione della sessione

12.50 - 13.10 Chiusura convegno

ABSTRACT PRESENTATI

Halobacteriovorax* isolato nel Mare Adriatico per contrastare la *Salmonella

G. Angelico, S. Pieralisi, J. Hattab, G. Talevi, S. Nardi, S. Di Lullo, E. Calandri, F. Mosca, L. Lanci, E. Rocchegiani, F. Barchiesi, P. G. Tiscar, D. Ottaviani

Tetrodotossine (TTXs) in Gasteropodi, Ricci di mare e Granchio blu dell'Adriatico: prima segnalazione in riccio di mare (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816)

S. Bacchiocchi, M. Siracusa, G. Diomedi, S. Mazza, E. Calandri, T. Tavoloni, V. Vivani, M. Cangini, G. Arcangeli, C. Losasso, S. Rubini, G. Di Francesco, F. Leoni, A. Piersanti, F. Barchiesi

Monitoraggio Pluriennale delle Biotossine Algali nei Molluschi Bivalvi della Regione Lazio (2016–2024)

S. Battisti, M.G. Sala, L. Lanni, A. Angeloni, A. Ubaldi, F. Longo

Progetto Feampa “Atlante del mare”: piano per l'individuazione delle zone allocate per l'acquacoltura in Liguria

R. Battistini, L. Serracca, E. Costa, B. Betti, M. Chiantore, E. Razzuoli, M. Feletti

Ecco il genoma del lupino di mare! Cosa possiamo dedurre e che farne?

E. Bortoletto, U. Rosani, C. Profico, F. Di Giacinto, P. Venier

***Mytilus galloprovincialis* vs. *Chamelea gallina*: scelta della “specie indicatore” nella gestione del rischio associato alla contaminazione da acido okadaico in un'area della costa emiliano-romagnola**

S. Dall'Ara, S. Milandri, M. Fabbri, S. Esposito, F. Pino, I. Servadei, M. Cangini

La tecnologia al servizio della produzione: un sito web per la visualizzazione delle zone di produzione dei molluschi bivalvi nella Regione Veneto (Ambiti Bivalvi Veneto)

C. Casarotto, E. Franzago, P. Antonelli, S. Donini, M. Toson, M. Ruzza, M. Trolese, M. Bassan, N. Ferrè, G. Cherubini, A. Gottardo, D. Marchesan, M. Corazza, G. Fornasiero, P. Fumelli, G. Manca, G. Arcangeli, M. Dalla Pozza, L. Bille

Vongole (*Chamelea gallina*) della costa del Piceno: implementazione di un sistema di Early Warning biotossicologico nel nuovo piano di monitoraggio 2025

C. Ciccarelli, A. M. Semeraro, V. Di Trani, E. Ciccarelli

Analisi dell'andamento della contaminazione da acido Okadaico negli allevamenti e banchi naturali di mitili della Regione Marche nel periodo 2015-2024

C. Ciccarelli, V. Di Trani, A. M. Semeraro, G. D'Aurizio, E. Ciccarelli

Biotossine algali e fitoplancton nelle aree di molluschicoltura del Golfo della Spezia: evoluzione dei controlli ufficiali negli ultimi 10 anni

E. Costa, B. Betti, E. Bazzali, M. Orlandi

Mitili come filtri biologici: metagenomica shotgun di geni di antibiotico resistenza e patogeni accumulati dall'ambiente marino

S. Dalle Palle, A. Peruzzo, P. Antonelli, G. Fabbri, A. Dall'Occo, P. Sivalingam, G. Arcangeli, R. Sabatino, A. Di Cesare, C. Losasso

L'eparina preserva la vitalità, mantiene inalterate le glicoproteine di membrana e preserva l'attività fagocitaria degli emociti di mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*)

T. De Iorio, C. Profico, F. Capoccioni, G. Di Francesco, F. Di Giacinto, A. Martini, M. Martinoli, R. Napolitano, N. Tonachella, D. Pulcini

High Performance Computing (HPC) e Artificial Intelligence (AI) per la sicurezza alimentare nella mitilicoltura

D. Di Luccio, F. Barchiesi, E. Calandri, F. Leoni, E. Rocchegiani, S. Bacchiocchi, G. Colarusso, M. Della Rotonda, G. Smaldone, M. Esposito, R. Montella

Analisi preliminare per l'identificazione e la localizzazione di biomarcatori dello stato di salute e di risposta allo stress ambientale in ostrica piatta (*Ostrea edulis*)

F. Errani, D. Volpatti, A. Vetri, N. Scapin, G. Arcangeli, M. Galeotti

Tassonomia integrativa e coinvolgimento degli allevatori per tracciare i vermi parassiti non-nativi *Polydora* nell'ostricoltura dell'Adriatico

E. Fossi, F. Costantini, M.A. Colangelo, S. Dessì, G. Prioli, M. Pećarević, K. Bonačić, B. Mavrić, V. Pitacco, B. Mikac

Attività di expert elicitation per l'assegnazione di un grado d'importanza (pesatura) alle misure di biosicurezza negli stabilimenti di molluschicoltura

E. Franzago, D. Pandolfo, P. Fumelli, C. Ciccarelli, E. Rossetti, S. Gilebbi, A. Fabris, G. Prioli, G. Arcangeli, L. Bille, M. Dalla Pozza

Cambiamenti climatici e mitilicoltura abruzzese: la calda estate 2024 vista da satellite

C. Ippoliti, R. Salini, F. Di Giacinto, S. Tora, L. Di Renzo, S. Recchi, A. Cameli, M. Di Domenicantonio, P. Spina, E. Di Giandomenico, F. Di Fonzo, F. Barbone, F. Pagano, G. Torzi, F. Pizzurro, C. Profico, E. Nerone, A. Conte, G. Di Francesco, G. Migliorati

Il progetto SMART-WATER SHELL: sviluppo di un sistema modulare di monitoraggio in tempo reale per la sostenibilità della molluschicoltura costiera

L. Lanci, F. Mosca, G. Vignola, A. Di Cesare, R. Lotito, S. Solmi, P.G. Tiscar

Impatto del cambiamento climatico sull'acquacoltura dei bivalvi e principali strategie di mitigazione: una revisione sistematica

L. Lanci, C. Amatetti, E. Renzi, P.G. Tiscar

Molluschicoltura, cambiamenti climatici e Blue Economy: alcuni risultati del monitoraggio ambientale nel Golfo della Spezia (Liguria)

L. Martella, R. M. Bertolotto, F. Cipolletta, M. Lecchini, N. Melchiorre, I. Mozzzone, M. Vergassola, F. Zaccagna, M. Feletti, S. Coppo

Progetto SoCAM: confronto delle performance ambientali tra filiera convenzionale e sand-nursery nella produzione di giovanili di vongola verace filippina (*Ruditapes philippinarum*)

A. Martini, L. Ferrarese, F. Ortu, P. Landri, D. Pulcini

Strategie di priming come mitigazione agli effetti delle ondate di calore sulla vongola verace (*Ruditapes philippinarum*)

C. Mascitelli, G. Monticelli, A. Nardi, G. Dalla Rovere, I. Bernardini, L. Peruzza, D. Cesaroni, V. Tavolazzi, T. Patarnello, L. Bargelloni, M. Benedetti, M. Milan

Oceanografia operativa e dati di pianificazione dello spazio marittimo a supporto delle AZA: il caso studio della Regione Emilia-Romagna

M. Mazzotta, M. Bocci, E. Cahís I Reixach, A. Fudoli, S. Menegon, S. Sottoriva, S. Rampoldi, D. Brigolin

La produzione ostricola in Sardegna, una prospettiva di crescita e sviluppo economico per l'isola
S. Murgia, I. Viale, N. Arrostuto, S. Serra, R. Diciotti, J. Culurgioni, N. Fois

L'allevamento dell'ostrica come strategia resiliente al cambiamento climatico: valutazione delle performance ambientali in diversi contesti produttivi

R. Napolitano, A. Martini, F. Capoccioni, D. Pulcini

Indicatori biometrici e fisiologici integrati rivelano l'impatto dell'acidificazione indotta dai cambiamenti climatici nel Mare Adriatico sulla produzione del bisso, sul comportamento e sulla biomineralizzazione del guscio della cozza mediterranea (*Mytilus galloprovincialis*)

D. Nordio, A. De Marco, D. Montroni, G. Falini, L. Mandrioli, A. Bonaldo

Le basi genetiche della tolleranza alle ondate di calore nella vongola filippina *Ruditapes philippinarum*

L. Peruzza, F. Cicala, P. Martinez, M. Gallo, S. Fernández-Boo, T. Bean, A.E. Omole, I. Nai, C. Tucci, G. Dalla Rovere, I. Bernardini, S. Ferrarese, R. Franch, E. Scrima, M. Racaku, N. Macrì, M. Babbucci, M. Milan, L. Bargelloni

Valutazione della concentrazione di piombo, cadmio e mercurio nei molluschi bivalvi allevati in Emilia Romagna prima e dopo l'alluvione del 2023

S. Rubini, M. Munari, D. Accurso, M. Vitellino, M. Peloso, Dell'Orfano, P. Rizzi, S. Esposito, M. Fabbri, P. Fagioli, A. Padovani, C. Mazziotti, G. Galletti

L'importazione di molluschi bivalvi come potenziale veicolo di specie epibionti alloctone

N. Scapin, A. Vetri, L. Cortinovis, N. Lago, F. Tosi, C. D'Onofrio, A. Basso, G. Arcangeli

Ricerca e caratterizzazione di *Vibrio* spp. potenzialmente enteropatogeni in molluschi bivalvi del Golfo della Spezia e crostacei congelati extra UE

A. Siracusa, R. Battistini, L. Serracca, V. Listorti, F. Leoni, E. Rocchegiani, D. Ottaviani, F. Barchiesi, G. Palermo

Microcistine nel Lago di Castreccioni: una minaccia emergente per i mitili del Mar Adriatico?

M. Siracusa, S. Bacchicocchi, G. Diomedi, S. Mazza, S. Accoroni, M. S. Princivalli, A. Baldoni, F. Serenelli, A. Piersanti

Genetica di popolazione e adattamento locale in ambienti marini: il caso del genere *Chamelea* nel bacino del Mediterraneo e nelle aree limitrofe

C. Spinsante, F. Carducci, E. Carotti, A. Canapa, M. A. Biscotti, V. Ferrito, A. M. Pappalardo, M. Barucca

Stato di salute di ostriche piatte allevate in un modello IMTA: evidenze di parassiti e neoplasie nell'Adriatico settentrionale

A. Vetri, S. Zrnčić, I. G. Zupičić, D. Grbin, C. D'Onofrio, N. Scapin, G. Arcangeli, T. Pretto

Metalli nei molluschi: sette anni di monitoraggio del Nichel in aree di produzione dell'Emilia-Romagna

T. M. Vollaro, D. Ippoliti, M. Peloso, G. Fedrizzi

ABSTRACT

Halobacteriovorax* isolato nel Mare Adriatico per contrastare la *Salmonella

G. Angelico¹, S. Pieralisi¹, J. Hattab², G. Talevi¹, S. Nardi¹, S. Di Lullo¹, E. Calandri¹, F. Mosca², L. Lanci², E. Rocchegiani¹, F. Barchiesi¹, P. G. Tiscar², D. Ottaviani¹

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche – Ancona (AN)

²⁾ Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Medicina Veterinaria, SP18, Piano d'Accio, 64100 Teramo, Italy

Keywords: *Bdellovibrio* and like organisms; bivalves; *Halobacteriovorax*; *Salmonella*

Introduzione

La *salmonella* è la seconda causa più comune di gastroenterite umana nell'Unione Europea [1], sebbene non sia generalmente presente negli ambienti acquatici, diversi sierotipi di *Salmonella* sono ampiamente distribuiti nelle acque marine. Più in dettaglio, è stata segnalata un'elevata prevalenza nei bivalvi, nei gamberetti, nelle vongole e in varie specie ittiche [2,3,4]. Inoltre, i sierotipi clinicamente rilevanti di *Salmonella* possono sopravvivere nell'acqua di mare e nei bivalvi per periodi di tempo significativi dopo un solo evento di esposizione [5]. In Italia la mitilicoltura (*Mytilus galloprovincialis*) ha sempre svolto il ruolo più importante nell'acquacoltura marina per la sua elevata produttività, sfruttamento areale e numero di allevamenti [6]. La depurazione è un processo controllato che si basa sulla capacità dei bivalvi di espellere il contenuto gastrointestinale filtrando l'acqua di mare pulita ed è considerata una procedura molto efficace per l'eliminazione di *E. coli* ma è molto meno efficace contro la *Salmonella* spp. [5,7]. Per aumentare l'efficacia della depurazione convenzionale nei confronti della *Salmonella* spp., il controllo biologico può essere integrato nei sistemi convenzionali. A tal proposito si potrebbero prendere in considerazione i *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs), che sono batteri Gram-negativi aerobi presenti in acqua dolce, acqua di mare e suolo. Appartengono alla classe dei Deltaproteobacteria e sono suddivisi in quattro generi: *Bdellovibrio*, *Bacteriolyticum*, *Perezibacter* e *Bacteriovorax*, quest'ultimo recentemente rinominato *Halobacteriovorax* [8]. La loro peculiarità è che predano altri batteri Gram-negativi, entrando nello spazio periplasmatico dell'ospite e ne provocano la morte utilizzando i nutrienti citoplasmatici per la replicazione [9]. Studi precedenti hanno riportato la predazione dei BALOs sui ceppi di *Salmonella* nell'ambiente marino in Cina e negli Stati Uniti [10,11]. Ad oggi non esistono studi sulla presenza nel Mar Adriatico di *Halobacteriovorax* capace di predare specificamente la *Salmonella*. Nel presente studio l'acqua di mare, proveniente da un'area di allevamento di mitili dell'Adriatico centrale, è stata analizzata per ricercare la presenza di un *Halobacteriovorax* in grado di predare la *Salmonella* spp.

Summary

In this study we researched an *Halobacteriovorax* strain capable of preying *Salmonella* from the seawater of the Adriatic Sea. Identification of *Halobacteriovorax* strain, named M7, was performed using 16S rRNA analysis. The M7 strain predation efficiency was tested against different *Salmonella* and non-*Salmonella* strains, all isolated from food matrices obtained from the Adriatic Sea. Finally, the M7 strain was exposed to *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Napoli in challenge tests to evaluate the killing of this specific prey over time. Double layer agar plating technique was used to enumerate *Halobacteriovorax* and to evaluate its host specificity and predation efficiency. In the 10³ predator/10³ prey challenge test, M7 caused a decrease of *Salmonella* by about 2 logs at 24 hours compared to the control. In the 10⁷ predator/10⁴ prey challenge test M7 caused a decrease of *Salmonella* by about 5 logs at 24 hours compared to the control and good levels of decrease were obtained even at shorter times. *Halobacteriovorax* strains active against *Salmonella* are rarely present in seawater of the Adriatic Sea, Italy. However, the isolate M7 showed high predatory efficiency towards a wide range of *Salmonella* strains. The presence of *Salmonella* in bivalves affects food safety, since current decontamination processes are not always effective. M7 could be considered a potential candidate for the reduction and control of *Salmonella* contamination in bivalves from harvesting to trade.

Materiali e metodi

La ricerca per l'isolamento di *Halobacteriovorax* è stata eseguita con un campionamento mensile da giugno a dicembre 2018 su acqua di mare proveniente da un sito di allevamento di mitili dell'Adriatico centrale. Al momento del prelievo sono state monitorate la temperatura e la salinità dei campioni d'acqua. La salinità è rimasta costante tra 38 e 39 ppt. Successivamente l'acqua di mare è stata immediatamente trasportata in laboratorio ed analizzata entro quattro ore. I ceppi di *Salmonella* utilizzati come prede, riportati nella Tabella 1, sono stati forniti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per la contaminazione batterica dei bivalvi (IZS Umbria Marche, Ancona, Italia). Tutti i ceppi di *Salmonella* utilizzati sono stati isolati da bivalvi raccolti da aree di allevamento dei mitili nell'Adriatico centrale.

Un ceppo di *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Napoli è stato utilizzato come preda primaria per l'isolamento di *Halobacteriovorax* dall'acqua di mare, poiché questo sierotipo ha recentemente causato epidemie trasmesse dall'acqua e dagli alimenti in Italia [12]. L'isolamento di presunti *Halobacteriovorax* in

aliquote da 7,5 mL di acqua di mare filtrata a 0,45 µm è stato eseguito mediante la tecnica di piastramento in agar a doppio strato [11,13]. Le piastre sono state incubate a 26 °C e le placche sviluppatesi tra 3 e 10 giorni sono state prese per essere confermate come *Halobacteriovorax* mediante analisi dell'rRNA 16S.

Sono stati condotti due esperimenti di challenge utilizzando concentrazioni di *Halobacteriovorax* M7 e *Salmonella enterica* serovar Napoli che in una sperimentazione preliminare avevano consentito di ottenere un rapporto ottimale per ottenere le massime riduzioni di preda.

Nel primo la fiasca di prova conteneva 50 ml di acqua marina sterile con predatore (concentrazione media 1×10^3 Unità Formanti Placche per ml) e preda (concentrazione media 1×10^3 Unità Formanti Colonie per ml). Nel secondo la fiasca di prova conteneva 50 ml di acqua marina sterile con predatore (concentrazione media 1×10^7 UFP per ml) e preda (concentrazione media 1×10^4 UFC per ml). Le stesse concentrazioni di prede sono state inoculate in acqua marina sterile, senza predatore, come controllo. Tutte le colture sono state poi incubate a 26 °C su un frigo-termostato con agitatore per 48 ore. Ogni esperimento è stato ripetuto in tre prove separate, ciascuna delle quali è stata eseguita in duplice copia. La preda nei microcosmi di prova e di controllo è stata monitorata mediante conte batteriche su piastra a 0, 3, 6, 24 e 48 ore. Il predatore è stato numerato a 0, 3, 6, 24 e 48 ore mediante la tecnica di semina su piastra a doppio strato di agar.

Risultati e discussione

Per l'isolamento di *Halobacteriovorax* sono state osservate placche in saggi su agar a doppio strato da due dei campioni di acqua di mare esaminati, uno a luglio e l'altro ad agosto 2018. Tuttavia, solo cinque delle placche formatesi nel campione di acqua di mare di luglio 2018 sono state confermate mediante PCR come *Halobacteriovorax*. Le sequenze di rRNA 16S ottenute dalle cinque placche erano identiche e sono state considerate un nuovo isolato. Il nuovo ceppo, denominato M7, è stato inviato a GenBank con il numero di accesso MT159667.1.

M7 è stato testato anche per verificarne la specificità dell'ospite e l'efficienza predatoria contro ceppi di *Salmonella* e non-*Salmonella*, tutti isolati da bivalvi allevati nel Mare Adriatico, Italia (Tabella 1). M7 ha dimostrato la capacità di attaccare tutti i ceppi di *Salmonella* ed *E. coli* testati con formazione di placche di lisì visibili già dopo 72, ma non ha mostrato attività litica nei confronti dei ceppi di *Vibrio* testati, in quanto non sono mai state rilevate placche nemmeno estendendo l'incubazione fino a 10 giorni. Sono stati effettuati degli studi preliminari per valutare il rapporto ottimale tra preda e predatore per gli esperimenti di challenge con M7 e *Salmonella*. Le riduzioni più elevate di prede sono state ottenute con un rapporto predatore/preda di 10^7 UFP/ 10^4 UFC e 10^3 UFP/ 10^3 UFC per mL portandoci a scegliere queste due concentrazioni per i test.

I risultati dell'esperimento 1, con un rapporto predatore/preda di 10^3 UFP/ 10^3 UFC per mL, sono mostrati nella Figura 1. Nel test la concentrazione del predatore è rimasta invariata nelle prime 6 ore, mentre è aumentata di circa 1 log, da 10^3 a 10^4 UFP per mL, tra le 24 e le 48 ore. Nel test la concentrazione della preda è diminuita di circa 1 log, da 10^3 a 10^2 UFC per mL, tra 0 e 6 ore per poi aumentare fino a raggiungere il livello massimo di 10^9 UFC per mL a 48 ore. Nel controllo la concentrazione della preda è aumentata tra 0 e 48 ore raggiungendo il livello massimo di 10^9 UFC per mL. Nel test è stato osservato un livello di *Salmonella* inferiore rispetto al controllo da 3 a 24 ore, con una differenza significativa di circa 1,5 log a 6 ore fino a raggiungere la massima differenza mostrata di circa 1,7 log a 24 ore.

I risultati dell'esperimento 2, con un rapporto predatore/preda di 10^7 UFP/ 10^4 UFC per mL sono mostrati nella Figura 2. Anche in questo test la concentrazione del predatore nelle prime 6 ore è rimasta al livello aggiunto sperimentalmente. È aumentata di circa 1 log, da 10^7 a 10^8 UFP per mL, tra 24 e 48 ore. La concentrazione della preda invece è diminuita di 4 log, da 10^4 a < 10 UFC per mL, tra 0 e 6 ore, per poi aumentare a circa 10^4 UFC per mL a 24 ore, fino a raggiungere il livello di circa 10^8 UFC per mL a 48 ore. Nel controllo, la concentrazione della preda è aumentata tra 0 e 48 ore, raggiungendo il livello massimo di circa 10^8 UFC per mL. Nel test è stato osservato un livello di *Salmonella* inferiore rispetto al controllo da 3 a 24 ore con una differenza significativa di circa 2,5 log già a 3 ore, che aumenta nuovamente a 6 ore (circa 4 log) fino a raggiungere la massima differenza significativa di circa 5 log a 24 ore. Utilizzando un rapporto predatore/preda di 10^7 UFP/ 10^4 UFC per mL, *Halobacteriovorax* M7 è stato in grado di contenere la crescita a livello di preda in modo più efficiente rispetto all'utilizzo del rapporto predatore/preda di 10^3 UFP/ 10^3 UFC per mL, con una riduzione significativa rispetto al controllo già nelle prime ore.

I nostri risultati dimostrano che gli *Halobacteriovorax* che predano *Salmonella* spp. sono raramente presenti nel Mar Adriatico, almeno nel limitato periodo coperto dalla nostra indagine. Ciò è plausibile perché la presenza di *Salmonella* spp. è sporadica e principalmente legata alla contaminazione fecale delle acque marine [2].

M7 ha mostrato una buona efficienza predatoria, essendo in grado di attaccare anche altri ceppi di *Salmonella* ed *E. Coli* tutti isolati da bivalvi. Le prede sono state scelte nel contesto di un progetto di vasta portata, con l'obiettivo finale di ulteriori applicazioni nell'igiene dei prodotti ittici, in particolare nella purificazione dei bivalvi. Inoltre, la sua elevata specificità per l'ospite e la capacità di parassitare i batteri organizzati su biofilm o in forma VBNC (vitale ma non coltivabile) [9], rendono *Halobacteriovorax* non suscettibile ai comuni meccanismi di competizione o difesa che i patogeni possono attivare sui molluschi. Infine, riescono a sopravvivere nell'intestino dei bivalvi per un tempo sufficiente a esercitare la loro attività litica contro i batteri bersaglio a breve (24 ore) e medio termine (7 giorni) [14]. Alla luce di tutte queste evidenze, gli *Halobacteriovorax*

potrebbero trovare applicazione nella decontaminazione post-raccolta dei bivalvi da *Salmonella* spp., sostituendo o integrando gli approcci convenzionali poiché è stato ampiamente dimostrato che *Halobacteriovorax* non può crescere su cellule eucariotiche, non rappresentando dunque un rischio specifico per la salute umana [9,15].

Prey strains	Origin	Susceptibility to M7
<i>E. coli</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>E. coli</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Napoli	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Derby	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium monophasic variant 1, 4 [5], 12:I	Mussels, Italy	Adriatic Sea, +
<i>V. parahaemolyticus</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, -
<i>V. parahaemolyticus</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, -
Non O1/O139 <i>V. cholerae</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, -
Non O1/O139 <i>V. cholerae</i>	Mussels, Italy	Adriatic Sea, -

Tabella 1: Prede analizzate in questo studio con *Halobacteriovorax* M7.

Figura 1: Esperimento 1. Andamento di *Salmonella enterica* ser. *Napoli* con (w) e senza (w/o) *Halobacteriovorax* M7 e crescita di *Halobacteriovorax* M7 nel test da 0 a 48 ore, utilizzando un rapporto predatore/preda di 10^3 PFU (Plaque-Forming unit) / 10^3 CFU (Colony-Forming Unit) per mL.

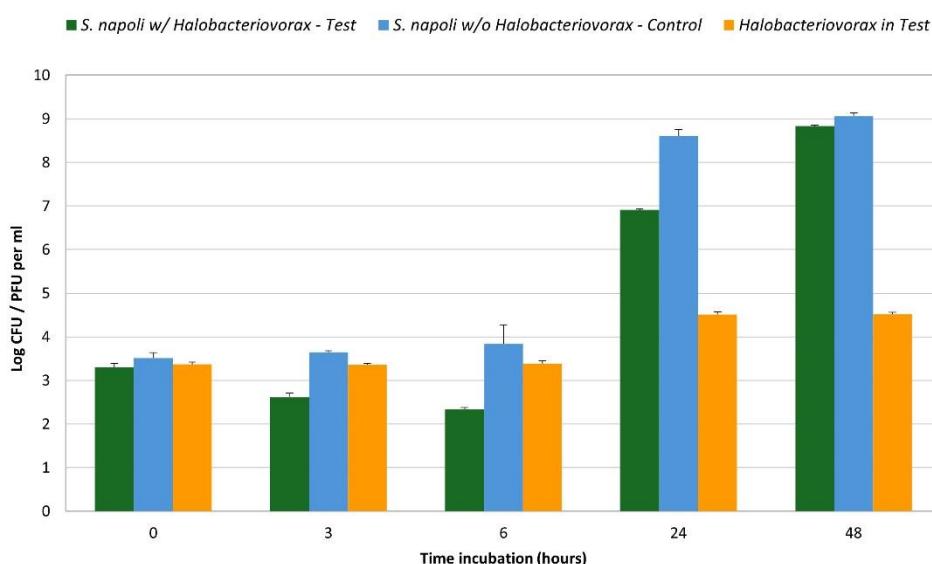
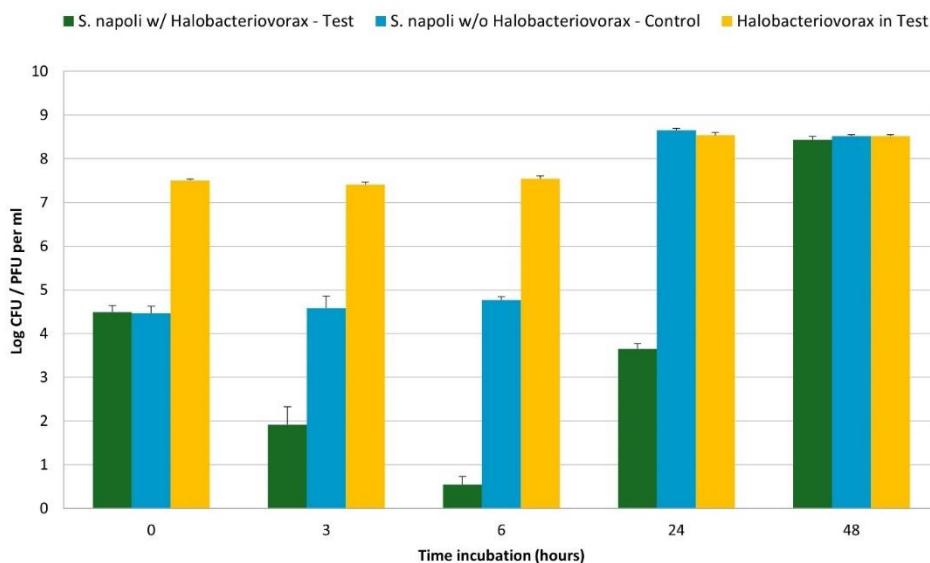


Figura 2: Esperimento 2. Andamento di *Salmonella enterica* ser. Napoli con (w) e senza (w/o) *Halobacteriovorax* M7 e crescita di *Halobacteriovorax* M7 nel test da 0 a 48 ore, utilizzando un rapporto predatore/preda di 107 PFU (Plaque-Forming unit) /104 CFU (Colony-Forming Unit) per mL.



Bibliografia

- [1] EFSA & ECDC. (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal, 14(12), 4634. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634>
- [2] Novoslavskij A., Terentjeva M., Eizenberga I., Valciņa O., Bartkevičs V., Bērziņš A. (2016). Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. Annals of Microbiology. 66: 1-15. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1102-5>
- [3] Rubini S., Galletti G., D'Incau M., Govoni G., Boschetti L., Berardelli C., Barbieri S., Merialdi G., Formaggio A., Guidi E., Bergamini M., Piva S., Serraino A. and Giacometti F. (2018). Occurrence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in bivalve molluscs and associations with *Escherichia coli* in molluscs and faecal coliforms in seawater. Food Control, 84, 429-435, doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.035
- [4] Zahli, R., Soliveri, J., Abrini, J. et al. (2021). Prevalence, typing and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from commercial shellfish in the North coast of Morocco. World J. Microbiol. Biotechnol. 37, 170. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03136-w>
- [5] Morrison C. M., Armstrong A. E., Evans S., Mild R. M., Langdon C. J., Joens L. A. (2011). Survival of *Salmonella* Newport in oysters, Int. J. Food Microbiol., 148, 93-98, doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.006
- [6] FAO (2005) Regional review on aquaculture development 6. Western-European Region – 2005. FAO Fisheries Circular No. 1017/6 FIMA/C1017/6 ISSN 0429-9329, <https://www.fao.org/4/a1166e/a1166e00.pdf>
- [7] Barile N. B., Scopa M., Nerone E., Mascilongo G., Recchi S., Cappabianca S. and Antonetti L. (2009). Study of the efficacy of a closed cycle depuration system on bivalve molluscs. Veterinaria Italiana, Oct-Dec; [45 \(4\), 555-566](https://doi.org/10.1007/s10201-009-0555-6). PMID: 20391418. e-ISSN 1828-1427
- [8] Koval, S. F., Williams, H. N., and Stine, O. C. (2015). Reclassification of *Bacteriovorax marinus* as *Halobacteriovorax marinus* gen. nov., comb.nov. and *Bacteriovorax litoralis* as *Halobacteriovorax litoralis* comb. nov.; description of *Halobacteriovoraceae* fam. nov. in the class Deltaproteobacteria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 65, 593–597. <https://doi.org/10.1099/ijst.0.070201-0>
- [9] Bratanis E., Andersson T., Lood R. and Bukowska-Faniband E. (2020). Biotechnological Potential of *Bdellovibrio* and Like Organisms and their secreted enzymes. Front. Microbiol. 11:662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00662>
- [10] Lu, F. & Cai, J. (2010). The protective effect of *Bdellovibrio*-and-like-organisms (BALO) on tilapia fish fillets against *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium. Letters in Applied Microbiology, 51, 625–631. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02943.x>
- [11] Richards G.P., Fay J.P., Uknalis J., Olanya O.M., Watson M.A. (2016). Purification and host specificity of predatory *Halobacteriovorax* isolates from seawater. Appl. Environ. Microbiol. 82, 922–927. <https://doi.org/10.1128/AEM.03136-15>
- [12] Sabbatucci M, Dionisi AM, Pezzotti P, Lucarelli C, Barco L, Mancin M, Luzzi I. Molecular and Epidemiologic Analysis of Reemergent *Salmonella enterica* Serovar Napoli, Italy, 2011-2015. Emerg Infect Dis. 2018 Mar;24(3):562-565. <https://doi.org/10.3201/eid2403.171178>
- [13] Richards GP, Fay JP, Dickens KA, Parent MA, Soroka DS, Boyd EF. 2012. Predatory Bacteria as Natural Modulators of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in Seawater and Oysters. Appl Environ Microbiol 78, <https://doi.org/10.1128/AEM.01594-12>
- [14] Li, H., Liu C., Chen L., Zhang X. and Cai J. (2011). Biological characterization of two marine *Bdellovibrio*-and-like organisms isolated from Daya bay of Shenzhen, China and their application in the elimination of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster. Int. J. Food Microbiol. 151, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.036>
- [15] Shatzkes K., Connell N. D., and Kadouri D. E. (2017). Predatory bacteria: a new therapeutic approach for a post-antibiotic era. Future Microbiol. 12, 469–472. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0021>

Tetrodotossine (TTXs) in Gasteropodi, Ricci di mare e Granchio blu dell'Adriatico: prima segnalazione in riccio di mare (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816)

S. Bacchicocchi^{1,2}, M. Siracusa^{1,2}, G. Diomedi^{1,2}, S. Mazza^{1,2}, E. Calandri^{1,2}, T. Tavoloni^{1,2}, V. Vivani^{3,4}, M. Cangini⁵, G. Arcangeli⁶, C. Losasso⁶, S. Rubini⁷, G. Di Francesco⁸, F. Leoni⁹, A. Piersanti^{1,2}, F. Barchiesi²

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" - Via G. Salvemini, 1, 06126 Perugia

²⁾ Centro di Referenza Nazionale per il Controllo Microbiologico e Chimico dei Molluschi Bivalvi- Istituto

Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" – Via Cupa di Posatora 3, 60131- Ancona

³⁾ Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche, 60131
Ancona

⁴⁾ University School for Advanced Studies IUSS, Piazza della Vittoria 15, 27100, Pavia (PV)

⁵⁾ Fondazione Centro Ricerche Marine, National Reference Laboratory for Marine Biotoxins, Viale A. Vespucci 2,
47042 Cesenatico

⁶⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie- Viale Dell'Università 10, 35020, Legnaro (PD)

⁷⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna "Bruno Ubertini" - Via Modena 483,
44124 Cassana (FE)

⁸⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" – Via Campo Boario 1, 64100 Teramo

⁹⁾ Laboratorio Nazionale di Riferimento Controllo Batteriologico Molluschi bivalvi- Istituto Zooprofilattico
Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", Via Cupa di Posatora, 3, 60131 Ancona

Keywords: tetrodotossina, HILIC-MS/MS, ricci di mare, gasteropodi, granchio blu, Mar Adriatico

Introduzione

Le tetrodotossine (TTXs) sono potenti neurotossine, note soprattutto per la loro capacità di accumulare nei pesci palla (*Tetraodontidae*), ma rilevate anche in molte altre specie marine (pesci Diodontidi e Molidi, molluschi bivalvi e gasteropodi, crostacei, echinodermi) [1]. Storicamente, le TTXs hanno rappresentato un rischio sanitario soprattutto nell'Indo-Pacifico, ma negli ultimi decenni si sono diffuse nel Mediterraneo e in Europa. Dal 2015 sono state rilevate in molluschi bivalvi di vari Paesi europei, portando l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) a fissare una soglia provvisoria di sicurezza di 44 µg TTX equivalenti /kg nei molluschi, con particolare attenzione ai gasteropodi, in grado di accumulare concentrazioni fino a 1000 volte superiori rispetto ai bivalvi [2]. La loro origine è generalmente attribuita a batteri marini (*Vibrio*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*) che entrano in molteplici catene trofiche [3]. Nel Nord Adriatico, la recente invasione del granchio blu (*Callinectes sapidus*) rappresenta una seria minaccia alla molluschiecoltura italiana: una strategia di contenimento suggerita è la pesca intensiva a scopo alimentare. Pertanto, si è reso necessario valutare il rischio legato all'eventuale accumulo di TTXs. La capacità dei mitili di concentrare la TTXs è stata più volte riportata nell'Adriatico Centro-Settentrionale: nella Laguna di Marano (Friuli-Venezia Giulia), lungo la costa Emiliana-Romagnola e lungo le riviere dei monti San Bartolo e Conero (Marche) [4-6]. Allo scopo di indagare il comportamento di altre specie marine edibili, è stata condotta un'indagine preliminare (2023-2025) sulla presenza di TTXs in gasteropodi, granchio blu ed echinodermi raccolti lungo le coste Centro-Settentrionali dell'Adriatico, estendendo il campo di applicazione del metodo in HILIC-MS/MS e validandolo anche per tali matrici, al fine di contribuire alla richiesta dall'EFSA di stimare il rischio per il consumatore.

Summary

From January 2023 until March 2025, a preliminary survey of tetrodotoxins (TTXs) in gastropods, echinoderms, and arthropods along the North-Central Adriatic coast of Italy was conducted since previous monitoring detected TTXs accumulation in mussels. A HILIC-MS/MS method developed and validated for bivalve mollusks and submitted to international proficiency tests, was adapted for other invertebrates. All gastropod and arthropod samples showed TTX levels below the detection limit, while traces (~5 µg TTX equivalents/kg) were found in one echinoderm sample (*Paracentrotus lividus*), representing the first report of TTXs in this species. Some gastropod taxa, known as TTX carriers elsewhere (e.g., *Nassarius*), tested negative, possibly due to seasonal or geographic variations. Anyway, a low accumulation risk for the species examined was highlighted, pointing out the need for broader long-term monitoring. This work supports EFSA's recommendations for surveillance of emerging risks, particularly because climate change may promote TTX wider distribution in European marine ecosystems.

Materiali e Metodi

Nell'ambito del progetto di Ricerca Corrente "IZSUM 02/22 RC", da Gennaio 2023 a Marzo 2025 sono stati raccolti 104 campioni di gasteropodi (8 specie), 33 di artropodi (principalmente granchio blu) e 23 ricci di mare lungo la costa Adriatica, dal Friuli-Venezia Giulia al Molise. Per l'analisi in HILIC-MS/MS sono stati adottati i protocolli ufficiali "EURLMB per PST e TTX" [7,8]. Il metodo in uso per i molluschi bivalvi è stato implementato

e validato per le altre matrici, valutando accuratezza, precisione, effetto matrice ed equivalenza tra le varie specie.

Risultati e Discussione

Il metodo in HILIC-MS/MS ha evidenziato performances soddisfacenti per le nuove matrici. Lo studio dell'effetto matrice ha evidenziato una rilevante soppressione del segnale (~70%), ma le curve in matrice presentano pendenze simili tra mitili, echinodermi, gasteropodi e granchio blu, confermando l'equivalenza. I limiti di quantificazione sono risultati confrontabili tra matrici (8 µg/kg), eccetto per il granchio blu (16 µg/kg), l'accuratezza e la precisione adeguati, rendendo il metodo idoneo a diverse specie con vantaggi in termini di efficienza e costi. Dal 2017, lungo la costa Adriatica Centro-Settentrionale sono stati rilevati alti livelli di TTXs nei mitili (fino a 541 µg/kg nella Laguna di Marano [4] e 296 µg/kg nella Riviera del Conero [6]), mentre gasteropodi, echinodermi e artropodi non erano ancora stati studiati. I gasteropodi sono la seconda causa mondiale di intossicazione da TTXs, soprattutto per il genere *Nassarius* [9]. Le otto specie considerate nello studio, tra cui *Bolinus brandaris*, *Hexaplex trunculus*, *Galeodea echinophora*, *Tonna galea*, *Rapana venosa*, *Nassarius mutabilis*, *Aporrhais pespelecani* e *Patella caerulea*, risultano potenzialmente esposte alla contaminazione perché predatrici di altri molluschi o per il loro habitat caratterizzato da fondali sabbiosi/melmosi. Tutti i campioni analizzati hanno mostrato livelli di TTXs non rilevabili, anche in aree in cui, nello stesso periodo, i mitili risultavano contaminati [10], suggerendo una scarsa tendenza all'accumulo oppure una raccolta avvenuta in condizioni non favorevoli. Tuttavia, sarebbe opportuno estendere il monitoraggio, in particolare per *N. mutabilis*, specie ampiamente consumata in Italia. Ad oggi le TTXs sono state state rilevate nei ricci di mare solo in *Arachnoides zelandiae* (Nuova Zelanda) a livelli elevati [11], e in *Echinus esculentus* (Portogallo) in quantità trascurabili [12]. In questo studio, solo un campione di *Paracentrotus lividus* raccolto nella Riviera del Conero (luglio 2023) ha mostrato tracce di TTX (~5 µg/kg). Si tratta della prima segnalazione in questa specie. Sono pertanto sicuramente necessari ulteriori approfondimenti in considerazione del suo consumo in Italia. Gli artropodi, infine, sono la terza causa di intossicazione da TTXs [9], ma i principali casi coinvolgono specie tropicali. In questa ricerca, l'attenzione si è concentrata sul granchio blu (*C. sapidus*), specie aliena diffusa nel Nord Adriatico e predatrice soprattutto di molluschi bivalvi. I campioni analizzati hanno presentato livelli di TTX non determinabili, suggerendo una bassa capacità di accumulo. In conclusione, l'indagine preliminare non ha rilevato contaminazioni significative da TTXs nelle specie indagate, ma fornisce informazioni utili per futuri monitoraggi.

Bibliografia

- [1] McNabb P.S et al. J. AOAC Int., 97 (2014) 325–333.
- [2] Knutsen H.K. et al. EFSA J., 15 (2017) 47–52.
- [3] Magarlamov T.Y. et al. Toxins, (2017) 9, 166.
- [4] Bordin P. et al. Food Control, 120 (2021) 107510.
- [5] Ippoliti D. et al. Atti XI Convegno Nazionale SIRAM (2024) Cattolica (Italia), 4-5 ottobre 2024.
- [6] Bacchiocchi S. et al. Mar. Drugs, (2021) 19, 304.
- [7] EURLMB SOP for the Analysis of Paralytic Shellfish Toxins (PST) by Pre-column HPLC-FLD According to OMA AOAC 2005.06-Version1, 2020. Available online:
http://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/web/public_documents/seccion/crlmb_standard_operating_procedures.htm.
- [8] EURLMB SOP. Determination of Tetrodotoxin by HILIC-MS/MS, June 2017. Available online:
https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/web/public_documents/seccion/crlmb_standard_operating_procedures.htm.
- [9] Guardone L et al. Food Rev. Int., 36(7) (2020) 645–667.
- [10] Mazza S. et a. Atti 12th MS J-Day (2025) Pisa (Italia), 22-23 Maggio 2025.
- [11] Khor S. et al. Mar. Drugs, 12(1) (2014) 1–16.
- [12] Yin H.L. et al. Am J Tropi Med Hyg, (2005 Nov) 73(5):985-90.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute IZSUM RC 02/22, anno 2022.

Monitoraggio Pluriennale delle Biotossine Algali nei Molluschi Bivalvi della Regione Lazio (2016–2024)

S. Battisti¹, M.G. Sala¹, L. Lanni¹, A. Angeloni², A. Ubaldi¹, F. Longo¹

¹⁾ Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana M. Aleandri Via Appia Nuova 1411- 00178 Roma

²⁾ Azienda Sanitaria Locale Latina, Via P.L. Nervi cc Latina Fiori – 04100 Latina

Keywords: biotossine, fitoplancton tossico, acqua, molluschi bivalvi

Introduzione

Le biotossine marine sono composti naturali prodotti da protisti ed eucarioti marini (fitoplancton potenzialmente tossico, FP) che, in determinate condizioni ambientali, possono proliferare generando fenomeni noti come *Harmful Algal Blooms* (HABs) (1,2,3). L'accumulo di biotossine (BM) nei molluschi bivalvi vivi (MBV), quale risultato dell'assorbimento di fitoplancton, comporta un rischio per la salute pubblica, la sicurezza alimentare e la sostenibilità della molluschiecola (4,5,6,7). L'Unione Europea ha regolamentato la presenza di BM nei MBV attraverso il Regolamento (UE) 853/2004 smi, stabilendo limiti massimi di sicurezza (Massimo Livello, ML) e rendendo obbligatorio il monitoraggio delle zone di produzione classificate (2). Nella regione Lazio sono presenti sia banchi naturali che allevamenti di MBV, situati in prossimità della fascia costiera o acque interne, classificati e monitorati ai sensi della normativa comunitaria. Nelle attività di controllo ufficiale è previsto anche un prelievo periodico di acque per la ricerca di FP come bioindicatore di rischio di BM nei MBV. Il presente lavoro si propone di analizzare l'occorrenza, la distribuzione temporale e spaziale di principali gruppi di BM in differenti specie di MBV campionate nel Lazio, dal 2016 al 2024, e la loro relazione con il fitoplancton al fine di supportare una migliore comprensione dei fattori ambientali associati ai rischi per la salute e la gestione sostenibile delle risorse molluschiecole e dei controlli ufficiali.

Summary

Marine biotoxins are natural compounds produced by harmful algal blooms (HABs), which can lead to toxin accumulation in filter-feeding bivalve mollusks, posing risks to public health, food safety, and aquaculture sustainability. These toxins are responsible for syndromes such as DSP, PSP, and ASP, linked respectively to okadaic acid group toxins, saxitoxins, and domoic acid. EU Regulation (EC) No 853/2004 establishes maximum levels (Maximum Levels, ML) and mandates routine monitoring of live bivalve molluscs (LBMs). This study analyzes the occurrence and spatio-temporal distribution of major biotoxin groups in LBMs collected along the Lazio coast from 2016 to 2024. It also explores correlations between total phytoplankton density (PTA) and biotoxin levels to better understand environmental drivers and support risk management.

Materiali e metodi

Sono stati esaminati i dati di BM e FP ottenuti da campioni, prelevati da zone di produzione classificate (26 banchi naturali, 10 allevamenti) durante 9 anni di monitoraggio (2016-2024), conferiti ed analizzati presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (IZSLT).

Per la rilevazione delle BM acido domoico (ASP), saxitossine (PSP) e tossine lipofile (DSP), i campioni sono stati analizzati secondo i metodi ufficiali armonizzati a livello europeo. Le DSP sono state determinate mediante LC-MS/MS, in accordo con la procedura *EU-Harmonised SOP*, versione 5 (AESAN – EU-RL MB, 2015). Le ASP sono state analizzate tramite RP-HPLC con rivelazione UV, secondo la *EU-Harmonised SOP*, versione 1 (AESAN – EU-RL MB, 2008). Per le PSP è stato applicato lo screening qualitativo previsto dal metodo OMA AOAC 2005.06 (step 1), mediante HPLC-FLD, come descritto nella *SOP* del Laboratorio Europeo di Riferimento, versione 1 (2020, con Erratum 2021). La conta del FP è stata effettuata secondo quanto riportato nella norma UNI EN 15204:2006. Per l'aggregazione, la sintesi e la correlazione dei dati è stato usato Stata Statistical Software V. 16 (StataCorp. 2019). Per analizzare il trend temporale, i dati di ciascuna zona sono stati aggregati su base mensile (media). Per osservare un'associazione temporale tra FP e BM, i valori mensili, per ciascuna zona di produzione, sono stati plottati su scatter plot e correddati da quadratic prediction fit plots (95 % di confidenza) (unità statistica: zona/mese/anno). È stato successivamente eseguito un modello di regressione lineare fra le suddette variabili utilizzando un p-value<0,05.

Risultati e discussione

Un totale di 1.689 campioni di MBV, provenienti da 36 zone sono stati analizzati per BM regolamentate nel periodo in esame (2016-2024). I risultati hanno mostrato un quadro complessivamente soddisfacente con oltre il 99% di tutte le misurazioni <LOQ. L'unica eccezione ha riguardato il parametro "gruppo acido okadaico", che ha superato l'ML in 12 campioni, tra il 2017 e il 2022 (97,1 % <LOQ a livello regionale). Tali irregolarità sono state registrate in sole quattro delle sette zone di produzione di mitili (allevamenti) all'interno di due laghi costieri, a sud del Lazio. Questi eventi potrebbero essere ricondotti alle particolari condizioni ambientali dei bacini lagunari quali, ad esempio, correnti e moto ondoso che influenzano la naturale circolazione delle acque

nel bacino idrico, temperatura e pH dell'acqua con conseguente proliferazione di talune specie di FP. Su dodici campioni, che hanno superato il limite massimo (ML), undici provenivano da tre dei quattro allevamenti collegati al primo lago, con concentrazioni comprese tra 177 e 1904 µg eq OKA/kg. Le non conformità registrate in questi tre allevamenti erano rispettivamente 2 su 67 campioni, 4 su 64 campioni e 5 su 65 campioni. Un solo superamento (357 µg eq OKA/kg) è stato rilevato in uno dei tre allevamenti situati nel secondo lago, su un totale di 65 campioni analizzati. In concomitanza di tali eventi non sono stati registrati problemi di salute pubblica. Nei due laghi si sono anche osservate alcune tra le maggiori concentrazioni di popolazione algale totale (PTA), con valori massimi assoluti rispettivamente di $1,2 \times 10^7$ e $3,2 \times 10^6$ cell/L. A fronte di questa relazione spaziale, non è stata riscontrata un'associazione temporale tra aumento mensile di acido okadaico nei MBV e di PTA, in nessuno dei suddetti allevamenti. Una mancanza di correlazione significativa è stata riscontrata anche per gran parte delle singole specie di FP. Un aumento significativo ($p < 0,0001$) di acido okadaico, all'aumentare di *Lingulodinium polyedrum* e *Dinophysis* spp, è stato osservato esclusivamente in due allevamenti all'interno di un lago: zona-1 (R^2 : 0.704 e 0.613) e zona-2 (R^2 : 0.787 e 0.364). Il campionamento, solitamente mensile in ogni zona di produzione e contemporaneo per entrambe le tipologie di campione (acqua per FP e MBV per BM), non ha permesso di analizzare eventuali associazioni asincrone con le fluttuazioni di popolazioni fitoplanctoniche nei giorni precedenti. Altri studi, basati su valori di fitoplancton nei giorni precedenti al prelievo di MBV, potrebbero contribuire a migliorare la comprensione del potenziale utilizzo del fitoplancton come early warning per talune biotossine marine. Questo studio, primo nel suo genere a livello regionale, rappresenta un importante punto di partenza per supportare strategie di monitoraggio basate sulla valutazione del rischio, promossa dai regolamenti europei e dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine (Fondazione Centro Ricerche Marine, Cesenatico-Cervia, Italia), al fine di razionalizzare i controlli ufficiali rendendoli, al contempo, più efficaci ed economicamente sostenibili.

Bibliografia

- [1] Mudadu, A. G., Bazzoni, A. M., Congiu, V., Esposito, G., Cesaran, A., Melillo, R., ... Virgilio, S. (2021). *Longitudinal study on seasonal variation of marine biotoxins and related harmful algae in bivalve mollusks bred in Sardinia...* Journal of Marine Science and Engineering, 9(5), 510. DOI: 10.3390/jmse9050510 [sciedirect.com+15doaj.org+15colab.ws+15](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2227359121000510)
- [2] Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). *Marine biotoxins: occurrence, toxicity, regulatory limits and reference methods.* Frontiers in Microbiology, 7, 1051. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01051 [pmc.ncbi.nlm.nih.gov+7pubmed.ncbi.nlm.nih.gov+7researchgate.net+7](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5000000/)
- [3] European Reference Laboratory for Marine Biotoxin Monitoring of Toxin-producing Phytoplankton in Bivalve Mollusc Harvesting Areas. Guide to Good Practice. Issue 1: November 2019
- [4] Accoroni, S., Cangini, M., Angeletti, R., ... Mudadu, A. G., ... Altri. (2023). *Marine phycotoxin levels in shellfish—14 years of data gathered along the Italian coast.* Harmful Algae, 131, 102560. DOI: 10.1016/j.hal.2023.102560 [researchgate.net+9researchgate.net+9ouci.dntb.gov.ua+9](https://www.researchgate.net/publication/370000000)
- [5] Griffith, A. W., Shumway, S. E., & Gobler, C. J. (2018). *Differential mortality of North Atlantic bivalve molluscs during harmful algal blooms caused by the dinoflagellate *Margalefidinium* (*Cochlodinium*) polykrikoides.* Estuaries and Coasts, 41(5), 1234-1248. DOI: 10.1007/s12237-018-0445-0 [sciedirect.com+5link.springer.com+5researchgate.net+5](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278434018300000)
- [6] Daniels, M. J., Smith, L. D., & Renshaw, G. M. (2020). *Spatiotemporal modeling of Dinophysis toxin concentrations in bivalve shellfish across Western Europe (2009–2020) using generalized additive models.* Marine Ecology Progress Series, 645, 45-60. DOI: 10.3354/meps13311 [pubmed.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7500000/)
- [7] Marzidovšek, M., Francé, J., Podečan, V., Vadnjal, S., Dolenc, J., & Mozetič, P. (2024). *Explainable machine learning for predicting diarrhetic shellfish poisoning events in the Adriatic Sea using long-term monitoring data.* Harmful Algae, 139, 102728. DOI: 10.1016/j.hal.2024.102728 [orcid.org+9pubmed.ncbi.nlm.nih.gov+9arxiv.org+9](https://orcid.org/0000-0002-154X-0000)

Progetto Feampa “Atlante del mare”: piano per l’individuazione delle zone allocate per l’acquacoltura in Liguria

R. Battistini¹, L. Serracca¹, E. Costa², B. Betti², M. Chiantore³, E. Razzuoli¹, M. Feletti⁴

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d’Aosta – La Spezia (SP)

²⁾ Azienda Sociosanitaria Ligure 5 – Struttura Complessa Igiene degli Alimenti di Origine Animale – La Spezia (SP)

³⁾ DiSTAV – Università degli Studi di Genova- Genova (GE)

⁴⁾ Regione Liguria - Dipartimento Generale Turismo, Agricoltura e aree interne – Settore Politiche Agricole e Della Pesca, 16121 Genova (GE)

Keywords: Molluschicoltura, Piscicoltura, Molluschi bivalvi, Acque

Introduzione

L’acquacoltura rappresenta un settore in grado di offrire un significativo contributo alla crescita economica, alla creazione di nuovi posti di lavoro e all’introduzione sul mercato di prodotti ad alto valore nutrizionale [1]. Tuttavia, per rispondere alle aspettative di cittadini sempre più attenti e consapevoli delle questioni ambientali e sociali, è essenziale che le attività del comparto siano improntate alla trasparenza e alla sostenibilità. Sebbene l’acquacoltura presenti numerose potenzialità, il settore si trova talvolta a confrontarsi con percezioni critiche da parte dell’opinione pubblica. In alcuni casi, infatti, è stata associata a problematiche ambientali, al benessere animale, alla salute umana e alla tutela del paesaggio [2]. Tali percezioni – indipendentemente dal loro effettivo riscontro – includono, ad esempio, preoccupazioni relative all’inquinamento delle risorse idriche, all’uso di sostanze chimiche, all’impatto sugli stock ittici naturali e al rischio di interazioni indesiderate tra specie allevate e fauna selvatica. Anche l’immagine dei prodotti dell’acquacoltura può essere influenzata da queste considerazioni: alcuni cittadini possono nutrire dubbi sulle condizioni di allevamento, sul benessere animale, sulla qualità percepita dei prodotti, oppure sulle distanze percorse per la distribuzione, specie nel caso dei prodotti surgelati. Inoltre, nonostante l’esistenza di normative europee rigorose a tutela della salute pubblica, permangono talvolta timori riguardo a potenziali contaminazioni ambientali o sanitarie, soprattutto nel settore della molluschicoltura. Alla luce di queste dinamiche, risulta fondamentale promuovere strategie di comunicazione etico-sociale capaci di diffondere informazioni chiare, fondate e accessibili, e di coinvolgere attivamente le comunità locali. Solo così sarà possibile rafforzare il dialogo tra operatori del settore e cittadini, favorendo un consenso informato e una visione condivisa dello sviluppo sostenibile dell’acquacoltura. In questo contributo presentiamo il progetto “Atlante del Mare” nell’ambito del finanziamento FEAMPA 2021-2027, Obiettivo Specifico 2.1 – Azione 2 - codice Intervento 221202, che ha l’obiettivo di contribuire allo sviluppo dell’acquacoltura sostenibile in Liguria attraverso l’individuazione di nuove aree marine da destinare a tale attività produttiva, tenendo conto della compatibilità ambientale e delle esigenze di sviluppo economico e sociale.

Summary

Aquaculture has the potential to make a significant contribution to economic growth, job creation, and the introduction of products with high nutritional value into the market [1]. However, in order to meet the expectations of increasingly informed and environmentally conscious citizens, the sector must operate with transparency and sustainability at its core. While aquaculture offers many opportunities, it is sometimes met with critical perceptions from the public. In certain cases, it has been associated—whether rightly or not—with environmental concerns, animal welfare issues, human health risks, and landscape impacts [2]. These perceptions may include concerns about water pollution caused by nutrients, waste, and detergents; the use of antibiotics, hormones, and other chemical substances; potential negative effects on wild fish stocks due to the use of wild-caught fish in feed; and risks of genetic pollution or disease transmission from escapes of non-native species. Additionally, some believe that aquaculture facilities might negatively affect the landscape and be incompatible with tourism activities. Such views can influence the image of aquaculture products and ultimately affect consumer choices. For instance, some citizens may question farming conditions and animal welfare—citing overcrowding, parasites, and disease—as well as the quality and origin of products, particularly frozen goods subject to long transport routes. Despite stringent EU regulations in place to safeguard public health, there may still be concerns about potential contamination in molluscs farming areas. Moreover, farmed fish are sometimes perceived as inferior in quality compared to wild-caught fish. In light of these perceptions, it is essential to develop ethical and socially responsible communication strategies aimed at increasing public awareness and actively engaging local communities. Such efforts are key to fostering informed dialogue and building broader social acceptance for the sustainable development of the aquaculture sector. In this contribution we present the “Atlante del Mare” project, part of the FEAMPA 2021-2027 funding, Specific Objective 2.1 – Action 2 - Intervention Code 221202, which aims to contribute to the development of sustainable aquaculture in Liguria Region by identifying new marine areas to be used for this production activity, taking into account environmental compatibility and economic and social development needs.

Materiali e metodi

Le attività del progetto prevedono la realizzazione di due obiettivi principali.

Obiettivo 1: individuazione e mappatura di nuove aree idonee all'acquacoltura (piscicoltura e molluschicoltura) nell'area marina antistante l'intero litorale ligure, finalizzate alla pianificazione spaziale e all'integrazione dell'acquacoltura nei piani di gestione dello spazio marittimo (Direttiva n. 2014/89/UE). Per definire l'idoneità di una zona da destinare ad attività di pesca e acquacoltura sarà necessario stabilire criteri di esclusione sulla base di vincoli amministrativi, vincoli d'uso persistenti e vincoli ambientali che insistono nell'area marina e la compatibilità delle attività produttive nell'area, in relazione alle caratteristiche ambientali e la capacità portante del sistema. Una volta escluse le aree soggette a vincoli, si applicheranno i criteri di idoneità sulle restanti aree, in base alle caratteristiche ambientali, idrodinamiche e infrastrutturali con l'obiettivo di individuare le zone maggiormente vocate per la pesca, la molluschicoltura e la piscicoltura. La seguente attività prevederà l'analisi ambientale delle aree marine antistanti il litorale ligure per l'individuazione di zone idonee all'acquacoltura. A questo scopo verranno effettuate analisi delle caratteristiche geografiche ed ecologiche, analisi delle fonti di inquinamento tramite lo studio della pressione antropica e dei risultati ottenuti nel monitoraggio delle acque marino costiere in oggetto che permetteranno l'individuazione dei punti di prelievo dei campioni. In questi punti verranno eseguiti campionamenti dell'acqua di mare (temperatura, pH, azoto totale, fosfati, fosforo totale, solidi sospesi totali, ossigeno disciolto, salinità, conducibilità, clorofilla a, trasparenza con disco di Secchi, torbidità, presenza di idrocarburi visibili, fitoplancton); del fondale e del sedimento (potenziale redox, granulometria, carbonio organico totale, azoto totale, fosforo totale, solfuri, comunità macrobentonica con indice AMBI e M-AMBI) e dei molluschi bivalvi che vi nascono e crescono spontaneamente (analisi batteriologiche, virologiche, biotossicologiche e chimiche) al fine di verificarne l'attitudine alla molluschicoltura.

Obiettivo 2: attività di semplificazione amministrativa e sensibilizzazione sul territorio e verso gli stakeholder volte a favorire l'accettabilità sociale dell'acquacoltura da parte dei cittadini e delle comunità. Questa attività intende migliorare il trasferimento delle conoscenze e delle informazioni tecniche e la disseminazione dei risultati ai portatori di interesse pubblici e privati. Per aumentare l'accettabilità sociale e la fiducia del consumatore verso il settore e i prodotti dell'acquacoltura verrà fatta informazione sulle pratiche di acquacoltura e come queste possano trovare integrazione sul territorio, attraverso la realizzazione di un documento divulgativo simile al progetto "Atlante del Mare" in cui saranno riportati i risultati delle linee di ricerca sopra descritte. Il trasferimento di conoscenze verrà inoltre attuato con l'organizzazione di workshop tematici, in collaborazione con i partner di progetto, a favore dei portatori di interesse, attraverso il coinvolgimento, la comunicazione e la disseminazione dei risultati del progetto, e con lo scopo di promuovere le attività produttive regionali e ridurre conflitti d'uso e di competenza. La disseminazione dei risultati del progetto sarà implementata attraverso la realizzazione di materiale editoriale a carattere divulgativo (es. leaflets).

Gli enti coinvolti nel progetto saranno: Università degli Studi di Genova; Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure – ARPAL; Azienda Sociosanitaria Ligure 5 – ASL 5; Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria, Valle D'Aosta.

Risultati attesi

Alla fine del progetto gli amministratori locali potranno disporre, se intenderanno sviluppare il settore sul proprio territorio, di un utile strumento per individuare le aree e le modalità migliori con le quali dare impulso a questa attività innovativa nel rispetto del complesso economico e commerciale esistente. Inoltre, verrà realizzato uno strumento tecnico-scientifico contenente le linee guida da utilizzarsi presso altre zone costiere e marine.

Bibliografia

- [1] Cai, J.; Leung, P.; Hishamunda, N. Commercial aquaculture and economic growth, poverty alleviation and food security. Assessment framework. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 512. Rome, FAO. 2009. 58p.
- [2] Froehlich HE, Gentry RR, Rust MB, Grimm D, Halpern BS (2017) Public Perceptions of Aquaculture: Evaluating Spatiotemporal Patterns of Sentiment around the World. PLoS ONE 12(1): e0169281.

Ecco il genoma del lupino di mare! Cosa possiamo dedurre e che farne?

E. Bortoletto¹, U. Rosani¹, C. Profico², F. Di Giacinto², P. Venier¹

¹⁾ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova – Padova (PD)

²⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Abruzzo e del Molise, Teramo (TE)

Keywords: molluschi bivalvi, lupino di mare, *Chamelea gallina*, genoma, geni, adattabilità

Introduzione

Fra il preparare un delizioso piatto di spaghetti con i lupini di mare e l’analizzare tramite sequenziamento il genoma di *Chamelea gallina* passa probabilmente una distanza come quella tra due mondi appartenenti a galassie diverse, una distanza tale da considerare le due azioni completamente scorrelate. Eppure, capire l’organizzazione del genoma e il repertorio di geni di un mollusco bivalve molto apprezzato ci può rendere conoscenze utili a tutelare la specie, gestirne la pesca e assicurare al mercato un prodotto salubre e di elevata qualità. La ricerca scientifica applicata a singole specie può infatti sostenere buone pratiche di acquacoltura e di pesca, accelerando la comprensione e mitigando i problemi posti dalle attività umane e dall’ambiente che cambia.

Ci son voluti anni di buon lavoro per comprendere il genoma del mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*) e dimostrare un fenomeno inatteso in un organismo pluricellulare a riproduzione sessuata: una frazione significativa dei geni di mitilo può essere presente in alcuni individui e mancare in altri individui della stessa specie (*presence-absence variation* o PAV)^{1,2}. Detto troppo brevemente, il fenomeno della PAV contribuisce alla capacità dei mitili di adattarsi ad habitat diversi e sostiene la loro ampia distribuzione geografica.

I genomi dei molluschi bivalvi sono complessi, non facili da districare, ma oggi possiamo condividere i risultati di un lavoro congiunto avviato dall’IZS “G. Caporale” di Teramo con l’Università di Padova come partner di progetto (PLASTIVONG) e realizzato con il sostegno dell’European Reference Genome Atlas - Biodiversity Genomics Europe. L’iniziativa ERGA-BGE ha come obiettivo la produzione di genomi di alta qualità come requisito per capire l’attuale biodiversità delle varie aree biogeografiche e marine d’Europa. Qui riportiamo il sequenziamento del genoma di *Chamelea gallina*, anche detta *Striped Venus clam*.

Summary

Starting from the DNA purified from a single clam, we combined different sequencing technologies to generate a genome assembly of 1.81 Gb. Chromosome-level scaffolding confirmed 19 chromosomes in *C. gallina*. Short-read and long-read RNA-seq of RNA isolated from selected clam tissues provided sequence data for homology modelling and annotation of 36,179 protein-coding genes. In addition, we report the abundance of repeat motifs in the nuclear genome and the complete reconstruction of the mitochondrial genome. This genome provides a knowledge basis for understanding physiological and stress-induced clam responses, clam-microorganism interactions, genetic characterisation of clams from wild and fishery zones, and for the multidisciplinary testing of the effectiveness of conservation actions.

Materiali e metodi

Le vongole utilizzate per il sequenziamento di DNA ed RNA di *C. gallina* provengono dal mare medio Adriatico. I metodi utilizzati per la purificazione degli acidi nucleici, la preparazione di librerie e i vari tipi di sequenziamento e di analisi dei dati di sequenza sono quelli della biologia molecolare e della bioinformatica (Informazioni specifiche su sequenziamento e analisi bioinformatiche sono disponibili in GitHub e nella Bibliografia).

Risultati e discussione

Abbiamo usato diverse tecnologie e piattaforme di sequenziamento (PacBio HiFi, Illumina WGS e Hi-C) per ricostruire il genoma del lupino di mare e confermare i risultati ottenuti (1,81 Gigabasi, N50=97,4 Megabasi; 95,6% completezza) usando BUSCO (*Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs*). Nel genoma sono riconoscibili i 19 cromosomi che costituiscono il cariotipo di *C. gallina*³. Sequenziamento a “short-read” e a “long-read” dell’RNA rappresentativo di vari tessuti di *C. gallina* ha consentito l’annotazione di 36.179 geni codificanti proteine. Il genoma a scala cromosomica così ottenuto rappresenta un prezioso riferimento per studi futuri sulle risposte di questa specie alle variazioni ambientali, per la genetica di popolazione di *C. gallina* e per l’individuazione delle più opportune strategie di conservazione, perseguitando la sostenibilità della pesca e il mantenimento della specie nei nostri mari.

Bibliografia

- [1] Gerdol M, Pallavicini A. **Exploring the immune resilience of Mediterranean mussels: Recent advances and future directions.** Fish Shellfish Immunol. 2025;158:110147. doi: 10.1016/j.fsi.2025.110147; Saco A, Rey-Campos M, Gallardo-Escárate C, Gerdol M, Novoa B, Figueras A. **Gene presence/absence variation in *Mytilus galloprovincialis* and its implications in gene expression and adaptation.** iScience. 2023;26(10):107827. doi: 10.1016/j.isci.2023.107827; Gualandi N, Fracarossi D, Riommi

- D, Sollitto M, Greco S, Mardirossian M, Pacor S, Hori T, Pallavicini A, Gerdol M. **Unveiling the Impact of Gene Presence/Absence Variation in Driving Inter-Individual Sequence Diversity within the CRP-I Gene Family in *Mytilus* spp.** Genes (Basel). 2023;14(4):787. doi: 10.3390/genes14040787; Sollitto M, Kenny NJ, Greco S, Tucci CF, Calcino AD, Gerdol M. **Detecting Structural Variants and Associated Gene Presence-Absence Variation Phenomena in the Genomes of Marine Organisms.** Methods Mol Biol. 2022;2498:53-76. doi: 10.1007/978-1-0716-2313-8_4; Gerdol M, Moreira R, Cruz F, Gómez-Garrido J, Vlasova A, Rosani U, Venier P, Naranjo-Ortiz MA, Murgarella M, Greco S, Balseiro P, Corvelo A, Frias L, Gut M, Gabaldón T, Pallavicini A, Canchaya C, Novoa B, Alioto TS, Posada D, Figueras A. **Massive gene presence-absence variation shapes an open pan-genome in the Mediterranean mussel.** Genome Biol. 2020 Nov 10;21(1):275. doi: 10.1186/s13059-020-02180-3.
- [2] Bortoletto E, et al. **Chromosome-level genome assembly of the striped venus clam *Chamelea gallina*** (submitted, 2025); Cheli A, Mancuso A, Prada F, Rojas A, Falini G, Goffredo S, Scarponi D. ***Chamelea gallina* growth declined in the Northern Adriatic Sea during the Holocene Climate Optimum.** Sci Rep. 2025;15(1):23353. doi: 10.1038/s41598-025-07023-4; Iuffrida L, Spezzano R, Trapella G, Cinti N, Parma L, De Marco A, Palladino G, Bonaldo A, Candela M, Franzellitti S. **Physiological plasticity and life history traits affect *Chamelea gallina* acclimatory responses during a marine heatwave.** Environ Res. 2024;263(Pt 3):120287. doi: 10.1016/j.envres.2024.120287; Sfriso AA, Juhmani AS, Tomio Y, Sfriso A, Rizzolio F, Adeel M, Wahsha M, Munari C, Mistri M. **Microplastic accumulation and ecological impacts on benthic invertebrates: Insights from a microcosm experiment.** Mar Pollut Bull. 2024 May;202:116231. doi: 10.1016/j.marpolbul.2024.116231. Trapella G, Cinti N, Parma L, De Marco A, Dell'Acqua AN, Turroni S, Rampelli S, Scicchitano D, Iuffrida L, Bonaldo A, Franzellitti S, Candela M, Palladino G. **Microbiome variation at the clam-sediment interface may explain changes in local productivity of *Chamelea gallina* in the North Adriatic sea.** BMC Microbiol. 2023;23(1):402. doi: 10.1186/s12866-023-03146-8. Carducci F, Biscotti MA, Mosca A, Greco S, Gerdol M, Memmola F, Barucca M, Canapa A. **The Mantle Transcriptome of *Chamelea gallina* (Mollusca: Bivalvia) and Shell Biomineralization.** Animals (Basel). 2022;12(9):1196. doi: 10.3390/ani12091196.
- [3] García-Souto D, et al. **Resolving the Taxonomic Status of *Chamelea gallina* and *C. striatula* (Veneridae, Bivalvia): A Combined Molecular Cytogenetic and Phylogenetic Approach.** Biomed Res Int. 2017;2017:7638790. doi: 10.1155/2017/7638790. Epub 2017 May 7. PMID: 28555195; PMCID: PMC5438835. Corni, et al. (1986). **A chromosomal study of *Chamelea gallina* (L.) (Bivalvia, Veneridae).** Bollettino Di Zoologia, 53(1), 23–24. <https://doi.org/10.1080/11250008609355477>.

***Mytilus galloprovincialis* vs. *Chamelea gallina*: scelta della “specie indicatore” nella gestione del rischio associato alla contaminazione da acido okadaico in un’area della costa emiliano-romagnola**

S. Dall'Ara¹, S. Milandri¹, M. Fabbri², S. Esposito², F. Pino¹, I. Servadei¹, M. Cangini¹

¹⁾ Fondazione Centro Ricerche Marine, LNR per il monitoraggio delle Biotossine Marine – Cesenatico (FC)

²⁾ AUSL Romagna, Processo Aziendale Controllo Ufficiale Igiene degli Alimenti di O.A. – Rimini

Keywords: biotossine marine, acido okadaico, *Dinophysis*, molluschi bivalvi

Introduzione

Le zone classificate di produzione o stabulazione per la raccolta dei molluschi bivalvi sono soggette a specifiche prescrizioni indicate nel Reg. di esecuzione (UE) 2019/627 [1], tra le quali il monitoraggio delle biotossine marine di cui al Reg. (CE) 853/2004 [2]: saxitossine (tossine PSP), acido domoico (tossine ASP) tossine del gruppo acido okadaico (AO, DTXs), Yessotossine (YTXs), azaspiracidi (AZAs). Tale monitoraggio è organizzato in piani di campionamento specifici che prevedono la raccolta congiunta di molluschi, per la ricerca delle suddette biotossine, e acqua di mare, per la ricerca del fitoplancton produttore. Se più specie di molluschi vivono nella stessa zona classificata di produzione o stabulazione, la specie con il tasso più elevato di accumulo delle tossine può essere utilizzata in qualità di specie indicatore. In questo studio preliminare sono valutati gli andamenti temporali (periodo marzo 2024-giugno 2025) dell'accumulo di AO e DTXs (le biotossine che, ad oggi, sono le principali responsabili della sospensione della raccolta del prodotto) da parte di *Mytilus galloprovincialis* e *Chamelea gallina* in un'area della costa emiliano-romagnola (da Bellaria-Igea Marina a Cattolica) [3] dove queste due specie vengono raccolte in zone tra loro prossime. L'individuazione di una specie indicatore tra le due potrebbe portare ad una riduzione dei punti di campionamento includendo tali aree in un dominio più ampio omogeneo per quanto riguarda il rischio biotossicologico, con un'ottimizzazione delle risorse per il controllo, da parte dell'Autorità Competente, e di gestione da parte degli OSA.

Summary

The classified production or relaying areas for the harvesting of bivalve molluscs are subject to specific requirements set out in Implementing Regulation (EU) 2019/627 [1], including the monitoring of marine biotoxins referred to in Regulation (EC) 853/2004 [2]: saxitoxin group (PSP toxins), domoic acid (tossine ASP), okadaic acid group (OA, DTXs), Yessotoxins (YTXs), azaspiracids (AZAs). This monitoring is organised in specific sampling plans which provide for the joint collection of molluscs, for the research of the marine biotoxins, and seawater, for the research of the phytoplankton producing toxins. If more than one species of mollusc lives in the same classified production or relaying area, the species with the highest rate of accumulation of the toxins can be used as an indicator species. This preliminary study evaluates the temporal trends (March 2024–June 2025) of the accumulation of AO and DTXs (the biotoxins that, to date, are primarily responsible for the suspension of harvesting) by *Mytilus galloprovincialis* and *Chamelea gallina* in an area of the Emilia-Romagna coast (from Bellaria-Igea Marina to Cattolica) [3] where these two species are harvested in close proximity. Identifying an indicator species between the two could lead to a reduction in sampling points by including these areas in a larger, homogeneous domain with regard to biotoxicological risk, thus optimizing resources for monitoring by the Competent Authority and management by FBOs.

Materiali e metodi

Le aree di produzione oggetto del presente studio preliminare sono quelle controllate dal Servizio Veterinario dell'AUSL Romagna (Dip. Di Rimini) nelle quali vengono allevate le specie *Mytilus galloprovincialis* e *C. gallina*: 4 aree per la produzione di *M. galloprovincialis* (denominate Bel1, Rica1, Rica2 e Rica 3) e 6 per quella di *C. gallina* (indicate come 15A, 16A, 17A, 18A, 19A, B-Rn). Il Piano di monitoraggio è quello previsto dal Servizio Prevenzione Collettiva e Sanità Pubblica della Regione Emilia-Romagna [3]. Sono stati analizzati i risultati delle determinazioni delle biotossine marine regolamentate previste dal Reg. (CE) 853/2004 [2] sui campioni raccolti durante il monitoraggio ufficiale nel periodo marzo 2024-giugno 2025. In totale sono stati raccolti ed esaminati N.95 campioni di *M. galloprovincialis* e N.49 campioni di *C. gallina*. I metodi ufficiali di analisi sono quelli riportati nel Reg. di esecuzione (UE) 2019/627 [1]. Contestualmente al monitoraggio dei molluschi bivalvi sono stati analizzati anche lo stesso numero di campioni di acqua di mare degli allevamenti per la ricerca del fitoplancton produttore di biotossine marine. La ricerca del fitoplancton tossico è stata eseguita applicando il metodo normato di Utermöhl in microscopia inversa [4]. Le specie da ricercare produttrici di tossine del gruppo dell'acido okadaico solitamente presenti sono le dinoflagellate dei gruppi *Dinophysis* spp., *Phalacroma* spp. e *Prorocentrum lima*.

Risultati e discussione

Le aree classificate di produzione e stabulazione sotto il controllo della regione Emilia-Romagna storicamente sono state soggette a periodi di chiusura determinati dal superamento dei limiti per le tossine DSP (acido okadaico e derivati) e per le Yessotossine [5; 6]. I limiti di legge per le tossine del gruppo dell'acido okadaico (AO e DTXs, fissati in 160 AO eq. µg/kg) e del gruppo delle YTXs (3,75 mg YTX eq./kg) non hanno mai interessato la matrice *C. gallina* fatta eccezione per questo caso studio che documenta la prima contaminazione da acido okadaico in questa matrice. Nonostante nel periodo di studio la frequenza di campionamento non sia coincidente per le due matrici, da questi primi dati si evince come la contaminazione da AO compaia precocemente nella matrice mitili (la prima settimana di marzo) e solo successivamente nelle vongole (a fine mese). La criticità per presenza di acido okadaico si è avuta durante il mese di aprile 2024 quando 3 campioni di *M. galloprovincialis* hanno mostrato concentrazioni superiori al limite (nelle aree Rica2 e Rica3) e 3 campioni valori molto prossimi in Rica1 (il valore se associato alla incertezza di misura superava il valore limite). Anche quando la raccolta dei mitili è stata sospesa per superamento dei limiti normativi i tassi di tossine del gruppo dell'AO nella matrice vongole si mantenevano sempre abbondantemente sotto il valore di 160 AO eq. µg/kg. Per questa matrice, infatti, il valore massimo registrato è stato di 45 AO eq. µg/kg, nonostante il picco di *Dinophysis* spp. fosse registrato proprio in un'area di produzione di *C. gallina*: il valore massimo registrato di *Dinophysis* spp. è stato di $2,7 \cdot 10^3$ cell/L a cui è corrisposto un valore di AO nelle vongole di 36 AO eq. µg/kg nell'area di raccolta denominata 18/A [3]. L'evento di contaminazione si è concluso a giugno dello stesso anno. Nel 2025 solo 3 campioni di mitili hanno registrato tracce di AO (N.1 marzo e N.2 a giugno), con un valore massimo di 49 AO eq. µg/kg e non ha interessato nessuno dei campioni di vongole raccolte. Lo studio ha preso avvio da questo primo evento di contaminazione da AO nella matrice *C. gallina*, mai registrato in questa area da quando è iniziato il monitoraggio delle aree di produzione dei molluschi bivalvi (anni '90). Dobbiamo tuttavia segnalare che solo recentemente la frequenza di campionamento per questa matrice è stata rafforzata. Da questo studio preliminare possiamo ipotizzare che, se i dati derivanti dal monitoraggio verranno confermati, per le aree sottoposte al controllo dell'ASL Romagna, da Bellaria-Igea Marina a Cattolica [3], la matrice *M. galloprovincialis* sarà definita specie indicatore per il monitoraggio delle biotossine algali.

Bibliografia

- [1] EU Council. (2019). Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 of 15 March 2019 laying down uniform practical arrangements for the performance of official controls on products of animal origin intended for human consumption in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulation (EC) No 2074/2005 as regards official controls. Official Journal of the European Union, Series L.,131.
- [2] EU Council. (2004). Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Official Journal of the European Union, Series L.139.
- [3] Regione Emilia-Romagna. (2021). Determinazione del responsabile del Servizio Prevenzione Collettiva e Sanità Pubblica 22 febbraio 2021, N. 3077. Classificazione delle acque marittime antistanti la costa dell'Emilia-Romagna e delle acque interne regionali per la produzione in allevamento e la raccolta dei molluschi bivalvi vivi. Bollettino ufficiale Regione Emilia Romagna, Parte seconda – N. 41, Anno 52, 25 febbraio 2021, N.47.
- [4] Norma EN. (2006). EN 15204:2006. Water quality. Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)
- [5] Zoffoli, G., Pezzolesi, L., Simonazzi, M., Guerrini, F., Vannucci, S., Calfapietra, A., Dall'Ara, S., Servadei, I., Pistocchi, R. (2025). A decade-long study on harful dinoflagellate blooms and biotoxin contamination in mussels from north-western Adriatic Sea (Mediterranean Sea). Harmful Algae, Vol. 146, June 2025, 102870; <https://doi.org/10.1016/j.hal.2025.102870>
- [6] Ravera, G., Cangini, M., Ricci, F., Capellacci, S., Grilli, F., Ferrarin C., Casabianca, S., Milandri, S., prioli, G., Marini, M., Penna, A. (2025). Shellfish farming contamination by marine biotoxins: new insights into the ecological toxic dinoflagellate Dinophysis dynamics and DSP (diarrhetic shellfish poisoning) events for safe production management of marine aquaculture. Marine Pollution Bulletin, volume 217, August 2025, 118053; <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118053>

La tecnologia al servizio della produzione: un sito web per la visualizzazione delle zone di produzione dei molluschi bivalvi nella Regione Veneto (Ambiti Bivalvi Veneto)

C. Casarotto¹, E. Franzago¹, P. Antonelli¹, S. Donini¹, M. Toson¹, M. Ruzza¹, M. Trolese¹, M. Bassan¹, N. Ferrè¹, G. Cherubini², A. Gottardo³, D. Marchesan⁴, M. Corazza⁴, G. Fornasiero⁵, P. Fumelli⁶, G. Manca¹, G. Arcangeli¹, M. Dalla Pozza¹, L. Bille¹

¹⁾Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)

²⁾Regione Veneto, Direzione Agroambiente, programmazione e gestione ittica e faunistico venatoria – Venezia (VE)

³⁾Flag Veneziano, VeGal – Portogruaro (VE)

⁴⁾Az. ULSS 4 Veneto Orientale, San Donà di Piave (VE)

⁵⁾Az. ULSS 3 Serenissima, Venezia (VE)

⁶⁾Az. ULSS 5 Polesana, Rovigo (RO)

Keywords: sistema informativi, visualizzazione dati, zone di produzione molluschi

Introduzione

I molluschi bivalvi in quanto animali filtratori possono accumulare sostanze potenzialmente nocive per l'uomo come microrganismi patogeni, contaminanti chimici e tossine prodotte da fitoplancton. Come previsto dalla normativa vigente, le zone di produzione dei molluschi sono sottoposte ad un costante monitoraggio da parte dei Servizi Veterinari delle Az. ULSS (Autorità Competente) per verificare lo stato sanitario del prodotto. Vista la cospicua produzione molluschicola della Regione Veneto, la valorizzazione del settore in questione risulta di rilevante importanza. A tal fine l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) in collaborazione con la Regione Veneto ha realizzato una serie di progetti finanziati dal Fondo Europeo per gli Affari Marittimi, la Pesca e l'Acquacoltura (FEAMPA) a partire dal 2019 e tuttora in corso per alcune attività.

Tra 2019 e 2020 si è svolto il progetto n. 22/SSL/2017, azione 4 – “Valorizzazione delle produzioni marine per la riqualificazione del settore”, subazione 4 – “Messa a punto di un sistema di autocontrollo sanitario”, regolamento (UE) 508 del 15/05/2014. Negli anni 2022 e 2023 invece è stato sviluppato il progetto n. 04/INP/20/VE, Priorità 1 Misura 1.26 “Innovazione”. Nel 2024 ha preso avvio il nuovo progetto "MUSSEL-AID – Un approccio multidisciplinare per mitigare i danni causati dalle mortalità estive e dalle fioriture algali negli allevamenti di mitili (*M. galloprovincialis*) off-shore in Veneto", nell'ambito dell'Intervento 221502 e dell'Operazione 21 "Studi e ricerche" previsti dal Regolamento (UE) n. 1139 del 7 luglio 2021 (PN FEAMPA 2021-2027), approvato con Deliberazione /CR n. 31 del 21 marzo 2024.

Il primo progetto ha avuto come obiettivo principale la realizzazione di un portale web dove tutti i portatori di interesse potessero consultare le informazioni relative allo stato sanitario delle zone di produzione (zone sottoposte a restrizioni transitorie della raccolta/pesca) attraverso la pubblicazione di mappe dinamiche (1). Con il secondo si è provveduto ad integrare nel sito anche le informazioni relative alla classificazione delle zone di produzione dei molluschi (2). Nel terzo progetto è prevista un'ulteriore implementazione con l'aggiunta delle informazioni riguardanti la presenza di fitoplancton tossico produttore di biotossine marine nei campioni di acqua raccolti nelle zone di produzione del Veneto.

L'obiettivo di questo lavoro è quello di presentare nella sua totalità il sito web Ambiti Bivalvi Veneto, con le nuove funzionalità di prossima introduzione.

Summary

As filter feeders, bivalve molluscs can accumulate substances that are potentially harmful to humans, such as pathogenic microorganisms, chemical contaminants and toxins produced by phytoplankton. As required by current legislation, shellfish production areas are constantly monitored by the Local Veterinary Competent Authorities to verify the health status of the product. Given the significant shellfish production in the Veneto Region, the promotion of this sector is particularly important.

In this context, the Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe), in collaboration with the Veneto Region, has implemented a series of projects financed by the European Maritime, Fisheries and Aquaculture Fund (EMFAF).

The main objective of the first project (2019 - 2020) was to create a web portal where all the stakeholders could consult information on the health status of production areas (i.e. those undergoing temporary harvesting/fishing restrictions) through the publication of dynamic maps. With the second project (2022 - 2023) the website was integrated with information on the classification of shellfish production areas. The third project (2024 - 2026), still in progress, involves further implementation with the addition of information on the results of analyses carried out to detect toxic phytoplankton producing marine biotoxins in water samples.

The aim of this work is to present the Ambiti Bivalvi Veneto website, with the new features recently introduced.

Materiali e metodi

Per la realizzazione del sito web, nel 2019 è stata eseguita un'analisi della domanda che, attraverso delle interviste con i Servizi Veterinari delle Az. ULSS, ha permesso di definire quali fossero gli scenari d'utilizzo futuri del sistema, in modo da identificare di conseguenza le basi informative e i dati necessari alla

realizzazione del portale stesso. Stabilito come fosse necessario un sistema adibito alla raccolta dei dati da visualizzare è stata implementata un'estensione del già presente applicativo regionale QVeNet, in uso presso le Az. ULSS per la stesura delle schede accompagnatorie dei campioni di molluschi. È nata così una sezione dedicata alla stesura dei provvedimenti di restrizione alla pesca/raccolta dei molluschi bivalvi dove i veterinari inseriscono i dati relativi alle non conformità riscontrate e possono ottenere un documento utilizzabile come provvedimento. I dati così inseriti a sistema alimentano dei datamart informativi (sottoinsieme logico o fisico di un data warehouse (DWH), infrastruttura che aggrega dati da diverse origini in un unico archivio centralizzato e coerente, che supporta le analisi statistico/epidemiologiche) sulla base dei quali sono state create le viste necessarie alla realizzazione delle mappe dinamiche e tabelle sullo stato sanitario delle zone pubblicate nel portale web. È stato successivamente realizzato un sistema informativo web-oriented per visualizzare le informazioni sulla classificazione delle zone di produzione, integrando nel DWH i dati forniti dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (IZSAM) e validati dalle Autorità regionali. Lo scambio avviene tramite processi Extract Transform Load (ETL) che consentono di raccogliere, elaborare e integrare i dati in specifici dataset. Sono state create viste logiche per supportare cruscotti di business intelligence e la pubblicazione sul portale. Infine, per realizzare una reportistica automatizzata riferita alla presenza di fitoplancton tossico, sono stati identificati i dataset necessari presenti nel DWH e creato un nuovo datamart informativo, sempre per mezzo di processi ETL.

Risultati e discussione

Nel 2020, a conclusione del primo progetto, è stato messo online il portale Ambiti-Bivalvi-Veneto (<https://ambiti-bivalvi-veneto.izsvenezie.it/>). Nel dettaglio di seguito le sezioni che costituiscono il sito:

- Stato delle Zone: homepage del sito web e cuore del primo progetto. Essa mostra attraverso una mappa dinamica lo stato sanitario delle zone di produzione. Secondo una legenda colorimetrica si può capire se nelle zone sussistono o meno provvedimenti di chiusura o limitazione alla pesca/raccolta dei molluschi. Inoltre, cliccando su una zona nella parte sottostante comparirà una tabella con le analisi svolte negli ultimi 90 giorni se non sussiste un provvedimento in atto o, in caso contrario, saranno visualizzati i dati del o dei provvedimenti (es. tipologia, non conformità e data).
- Archivio provvedimenti: In questa pagina, sempre attraverso una mappa dinamica, è possibile consultare lo storico dei provvedimenti di restrizione alla pesca/raccolta di molluschi bivalvi (attivi e non più attivi), emessi in diversi intervalli temporali. Esistono diverse sotto pagine a causa delle modifiche geografiche apportate nel tempo alle zone di produzione mediante Deliberazioni regionali.
- Classificazione delle Zone: La pagina riporta in una mappa interattiva la classificazione delle zone di produzione sulla base di una legenda colorimetrica. Passando sopra ogni zona si ottiene il relativo codice identificativo e il numero di specie classificate, mentre cliccando nella parte sottostante compare una tabella con le specie e la relativa classificazione.
- Fitoplancton tossico: Questa pagina è di prossima realizzazione, al momento è disponibile solo in ambiente di test. Essa andrà a mostrare attraverso grafici, tabelle e una mappa, i prelievi e le analisi effettuate per l'identificazione e quantificazione di fitoplancton tossico nelle zone di produzione. Ci saranno delle sotto pagine per permettere un'ordinata suddivisione delle specie fitoplanctoniche secondo il tipo di tossine prodotte.
- La molluschicoltura in Veneto: suddivisa in schede, fornisce una serie di informazioni al lettore sul mondo della molluschicoltura.
- Progetti: In questa pagina è riportata una descrizione di ogni progetto, dagli obiettivi alle unità coinvolte nella realizzazione.

Il portale web permette quindi a chiunque di accedere alle informazioni relative lo stato sanitario delle zone, alla loro classificazione e ai controlli effettuati, sottolineando così il costante lavoro di monitoraggio svolto dai Servizi Veterinari delle Az. ULSS a tutela del consumatore.

Conclusioni

Nell'ottica di una valorizzazione della produzione veneta di molluschi bivalvi, il portale offre un livello di trasparenza e accessibilità alle informazioni mai realizzato prima. In questo caso sia i consumatori che anche acquirenti esteri, possono consultare informazioni sui controlli effettuati e verificare quali siano le eventuali problematiche in atto che si rispecchiano poi sul prodotto reperibile sul mercato.

Bibliografia

- [1] Franzago, E., Cocco, A., Toson, M., Casarotto, C., Ruzza, M., Manca, G., Barbagli, E., Lunardi, L., Callegaro, A., Brichese, M., Valeri, P., Cherubini, G., Gottardo, A., Ravarotto, L., Arcangeli, G., Dalla Pozza, M., Bille, L. (2022). "Ambiti Bivalvi Veneto", the Website Dedicated to the Sanitary Status of Bivalve Molluscs Production Areas in Veneto Region. In N. Callaos, J. Horne, B. Sánchez, M. Savoie, Y. Wang (Eds.), Proceedings of the 13th International Multi-Conference on Complexity, Informatics and Cybernetics: IMCIC 2022, Vol. I, pp. 110-113. International Institute of Informatics and Cybernetics. <https://doi.org/10.54808/IMCIC2022.01.110>
- [2] Franzago, E., Casarotto, C., Trolese, M., Toson, M., Ruzza, M., Dalla Pozza, M., Manca, G., Arcangeli, G., Ferrè, N., Bille, L. (2024). New Online Tools for the Data Visualization of Bivalve Molluscs' Production Areas of Veneto Region. In N. Callaos, S. Hashimoto, N. Lace, B. Sánchez, M. Savoie (Eds.), Proceedings of the 15th International Multi-Conference on Complexity, Informatics and Cybernetics: IMCIC 2024, pp. 240-244. International Institute of Informatics and Cybernetics. <https://doi.org/10.54808/IMCIC2024.01.240>

Vongole (*Chamelea gallina*) della costa del Piceno: implementazione di un sistema di Early Warning biotossicologico nel nuovo piano di monitoraggio 2025

C. Ciccarelli¹, A.M. Semeraro¹, V. Di Trani¹, E. Ciccarelli²

¹⁾ Azienda Sanitaria Territoriale Ascoli Piceno

²⁾ Biologo – Reading (UK)

Keywords: Biotossine, Monitoraggio, Early Warning, *Chamelea gallina*, clams

Introduzione

Il Regolamento di esecuzione UE/2019/627 [2] stabilisce che la frequenza, inizialmente settimanale per il monitoraggio dei molluschi bivalvi (MBV) dalle zone di raccolta per la ricerca di biotossine, possa essere ridotta a quindicinale in funzione di una valutazione del rischio biotossicologico che indichi un rischio molto basso di episodi tossici. Di recente, proprio allo scopo di guidare le Autorità Competenti Regionali e Locali (ACR e ACL) nell'elaborazione di questa valutazione del rischio, il Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine, il Centro di Ricerche di Cesenatico, ha redatto la "Procedura Operativa per la Valutazione del Rischio" (Rev. 18/06/2024) (PO VdR biotox) [5]. Sulla base di questa, nella Regione Marche prima il DDVSA 158 del 7/10/2024 ha aggiornato le procedure per la classificazione e il monitoraggio delle zone di produzione dei MBV e poi il recente DDVSA 28 del 6/03/2025 hanno definito le Linee Guida per il monitoraggio biotossicologico delle aree di produzione di *Chamelea gallina*. Tali indicazioni hanno tenuto in considerazione: i dati storici, le caratteristiche biologiche di *C. gallina*, la caratterizzazione delle aree di produzione, l'individuazione dei punti di campionamento, la predisposizione di un sistema di Early Warning biotossicologico (EWb) per la modulazione della frequenza, la coerenza con la PO VdR biotox.

Il presente lavoro descrive il sistema di EWb, adottato dall'AST Ascoli Piceno nel 2025 alla luce delle nuove indicazioni, per le aree di produzione di *Chamelea gallina* presenti nella costa del Piceno.

Summary

As the presence of toxin-producing phytoplankton and the accumulation of biotoxins in bivalves depend on dynamic factors hence unpredictable, a monitoring plan of toxin-producing phytoplankton species in the water column and the biotoxin bioaccumulation in bivalves is required in order to manage the related risks in live bivalve molluscs (LBM) production areas. In fact, according to Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627, the competent authorities shall periodically monitor production areas and the sampling frequency shall be weekly during harvesting periods, but it can be reduced to fortnightly if a bio-toxicological risk assessment suggests a very low risk of toxic episodes. Following National Reference Laboratory Operating Procedure on bio-toxicological risk assessment, aiming at the reduction of the sampling frequency in LBM production areas, and the Regional Competent Authority Statement DDVSA 28/2025, this paper describes the Early Warning system, implemented by AST Ascoli Piceno as Local Competent Authority, regarding *Chamelea gallina* classified harvesting areas on Piceno coast (Italy).

Materiali e Metodi

In applicazione delle nuove disposizioni, l'AST Ascoli Piceno, ha redatto il piano di monitoraggio dei MBV per l'anno 2025: la frequenza del monitoraggio biotossicologico è stata determinata in funzione della valutazione del rischio biotossicologico ed implementando un sistema di EWb articolato in maniera distinta per mitili e vongole *Chamelea gallina*.

Riguardo alle vongole, i dati storici, anche se sono disponibili pochi studi biodinamici riferiti a questa specie [7] e nessuno per il Mare Adriatico, non hanno mai riportato episodi di intossicazione da biotossine algali attribuibili a *Chamelea gallina* raccolta nel Mare Adriatico. Dati locali presenti sul sistema informativo SINVSA, riferiti ai risultati del monitoraggio dei banchi naturali della Regione Marche dal 2015 al 2024, riportano solo un caso di presenza di OA con livelli superiori al LoQ, nel 2015, largamente anticipato dalla positività dei mitili e collegato a una imponente fioritura algale.

D'altronde *Chamelea gallina* conduce vita bentonica già a un mese dalla nascita e la capacità di bioaccumulo di OA è risultata trascurabile già in uno studio spagnolo del 2019 [6].

Come in tutta la costa marchigiana, le vongole pescate mediante draga idraulica provengono da banchi naturali su fondali sabbiosi. Le zone di raccolta sono identificate con codici e, nel tratto di costa di competenza dell'AST Ascoli Piceno, ricadono le aree 19.01-19.02-19.03-19.04-19.05-R.

Sulla base delle indicazioni delle Linee Guida per il monitoraggio del fitoplancton tossico [3], della bozza di Linee guida per il monitoraggio delle biotossine [4] e come da DDVSA 28/2025, sono stati individuati i punti di campionamento e sono stati classificati in categorie:

- **Categoria P1:** stazione sentinella nei confronti della proliferazione locale di fitoplancton tossico individuata nel punto 19.03 3/6 posto in corrispondenza del fiume principale presente nell'area di competenza

- **Categoria P2:** cioè le stazioni sentinella nei confronti della ingressione di fitoplancton tossico, individuate nei punti 19.01 3/6 e R 3/6 posti ai confini nord (in corrispondenza degli allevamenti di mitili 017AP157e 066AP169) e sud dell'area di competenza (in corrispondenza dell'allevamento di mitili 066AP168)
- **Categoria P3:** che comprende tutti gli altri punti di campionamento identificati per ciascuna area classificata: si tratta dei punti 19.02 3/6, 19.04 3/6 e 19.05 3/6.

La frequenza di campionamento, nei periodi in cui viene effettuata la raccolta di *Chamelea gallina*, viene modulata in funzione della categoria e secondo il livello di allarme determinato dal sistema di EWb, seguendo la Tabella 1.

Infatti, il sistema di EWb adottato consente di modulare la frequenza del monitoraggio in funzione della probabilità che si presentino eventi di accumulo di biotossine nei molluschi bivalvi: maggiore è tale probabilità maggiore sarà la frequenza di monitoraggio. La stima di tale probabilità viene fondata sull'analisi di informazioni di tipo anamnestico/epidemiologico e su dati analitici. Informazioni di tipo anamnestico/epidemiologico sono i provvedimenti di chiusura di aree di produzione regionali ed extraregionali e gli episodi di malattie a trasmissione alimentare (MTA) legati a biotossine in *Chamelea gallina*.

Dati di tipo analitico sono i risultati del monitoraggio biotossicologico e del fitoplancton a livello regionale.

Poiché l'espressione delle valutazioni di tipo probabilistico, legate al sistema di EWb, costituisce un giudizio clinico, è stato necessario definire misure di "igiene decisionale" che consentano di ridurre l'effetto di quegli elementi di variabilità che determinano "rumore" nell'ambito dei processi decisionali. Per questo motivo è stato predisposto il prospetto di cui alla Tabella 2, che definisce la tipologia di informazioni da considerare, i diversi valori (input) e le valutazioni conseguenti (output). Tale valutazione avviene con cadenza settimanale nel periodo di raccolta. Nella Figura 1, infine, è stato riportato il relativo Algoritmo decisionale per i tre livelli di allarme.

Risultati e discussione

Le informazioni scientifiche di cui allo stato attuale non indicano *Chamelea gallina* quale elemento rilevante nei confronti del pericolo legato alle biotossine marine, almeno nel Mare Adriatico. Tuttavia è necessario mantenere un elevato livello di attenzione attraverso il monitoraggio biotossicologico, come per gli altri molluschi bivalvi, in modo da intercettare possibili episodi di accumulo di biotossine anche in questa specie. Il sistema di EWb adottato dall'AST Ascoli Piceno rappresenta lo strumento che consente di modulare il giudizio clinico relativo alla frequenza e numerosità dei punti di campionamento su 3 definiti livelli di allarme. Ciò risponde altresì alla logica della normativa unionale, ottimizzando l'utilizzo delle risorse sulla base di una valutazione del rischio fondata su criteri probabilistici in continuo aggiornamento.

Bibliografia

- [1] European Parliament, 2017. Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council of 15 March 2017 on official controls and other official activities performed to ensure the application of food and feed law, rules on animal health and welfare, plant health and plant protection products, amending Regulations (EC) No 999/2001, (EC) No 396/2005, (EC) No 1069/2009, (EC) No 1107/2009, (EU) No 1151/2012, (EU) No 652/2014, (EU) 2016/429 and (EU) 2016/2031 of the European Parliament and of the Council, Council Regulations (EC) No 1/2005 and (EC) No 1099/2009 and Council Directives 98/58/EC, 1999/74/EC, 2007/43/EC, 2008/119/EC and 2008/120/EC, and repealing Regulations (EC) No 854/2004 and (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council, Council Directives 89/608/EEC, 89/662/EEC, 90/425/EEC, 91/496/EEC, 96/23/EC, 96/93/EC and 97/78/EC and Council Decision 92/438/EEC (Official Controls Regulation). In: Official Journal, L 95/1, 07/04/2017.
- [2] European Commission, 2019. Regulation (EU) 2019/627 of the European Commission of 5 March 2019 laying down uniform practical arrangements for the performance of official controls on products of animal origin intended for human consumption in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulation (EC) No 2074/2005 as regards official controls) In: Official Journal, L 131/51, 17/05/2019.
- [3] European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins, 2019. "Monitoring of Toxin-producing Phytoplankton in Bivalve Mollusc Harvesting Areas. Guide to Good Practice: Technical Application". Issue 1: November 2019. URL: https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/docs/docs/procedimientos/Phyto_Monitoring_Guide_DEC_2021.pdf
- [4] European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins, 2021. Draft of "Monitoring of Biotoxins in Bivalve Mollusc Harvesting Areas. Guide to Good Practice: Technical Application". Issue 1: December 2021.
- [5] Centro Ricerche Marine di Cesenatico, Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR) per le Biotossine, 2024. "Procedura Operativa per la Valutazione del Rischio (rev. del 18/06/2024)" URL: https://www.centroricerchmarine.it/public/upl_images/epweb3/P.O.-%20VdR._rev.18-06-2024.pdf
- [6] Raúl Fernández, Luz Mamán, David Jaén, Lourdes Fernández Fuentes, M. Asunción Ocaña, M. Mercedes Gordillo, 2019. Dinophysis Species and Diarrhetic Shellfish Toxins: 20 Years of Monitoring Program in Andalusia, South of Spain. Toxins 2019, 11, 189.
- [7] Stefano Accoroni, Monica Cangini, Roberto Angeletti, Carmen Losasso, Simone Bacchicocchi, Anto-nella Costa, Aurelia Di Taranto, Laura Escalera, Giorgio Fedrizzi, Angela Garzia, Francesca Longo, Andrea Macaluso, Nunzia Melchiorre, Anna Milandri, Stefania Milandri, Marina Montresor, Francesca Neri, Arianna Piersanti, Silva Rubini, Chiara Suraci, Francesca Susini, Maria Rosaria Vadrucci, Alessandro Gra-ziano Mudadu, Barbara Vivaldi, Barbara Soro, Cecilia Totti, Adriana Zingone, 2023. Marine phycotoxin levels in shellfish—14 years of data gathered along the Italian coast. Harmful Algae 131 (2024) 102560.
- [8] FAO, 2011. Assessment and Management of biotoxins risk in bivalve molluscs. FAO FISHERIES AND AQUACULTURE TECHNICAL PAPER 551.

[9] Roberto Poletti. "Biotossine marine: Origine, Diffusione e Controllo". Centro Ricerche Marine di Cesenatico URL: <https://cipesalute.org/cedo/allegati/4500-BiotossineMarine.pdf>

Tabella 1: frequenza di campionamento in base ai livelli di allarme

Livello	Categoria dei punti	Frequenza
L1	P1	quindicinale
L2	P1 e P2	quindicinale o settimanale
L3	P1, P2 e P3	settimanale

Tabella 2: criteri per la valutazione delle informazioni e la determinazione dell'output (viene adottato sempre quello di livello maggiore)

tipologia informazione	input	output
MTA riconducibili <i>Chamelea gallina</i>	Non segnalate	L1 quindicinale
	Segnalate ma non riconducibili a prodotto dell'Adriatico	L1 quindicinale
	Segnalate e riconducibili a prodotto dell'Adriatico	L3(1)(2)
Provvedimenti di chiusura di aree classificate per <i>Chamelea gallina</i> a causa di biotossine	Non presenti	L1 quindicinale
	Presenti a livello extraregionale	L2(2) quindicinale
	Presenti a livello regionale	L3(2)
Fitoplancton tossico nei punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> secondo i seguenti limiti di riferimento: <i>Pseudonitzschia spp.</i> : 106 cell/l Altri generi: 2xLoQ	< ai limiti	L1 quindicinale
	> ai limiti nelle AASSTT confinanti	L2(2) quindicinale
	> ai limiti nei punti P1 o P2 della AST	L2(2)(3) settimanale
Biotossine in altri bivalvi	< limite massimo ammissibile (LMA)	L1 quindicinale
	> Lma nelle AASSTT confinanti e o nella AST	L2(2) quindicinale
Biotossine in <i>Chamelea gallina</i>	< LoQ	L1 quindicinale
	> LoQ AASSTT confinanti	L2(2) settimanale
	> LoQ nella AST	L3(2)

(1) da mantenere per un tempo congruo sulla base dei risultati analitici ottenuti

(2) ricerca mirata nei confronti della biotossina coinvolta

(3) nei punti di campionamento coinvolti

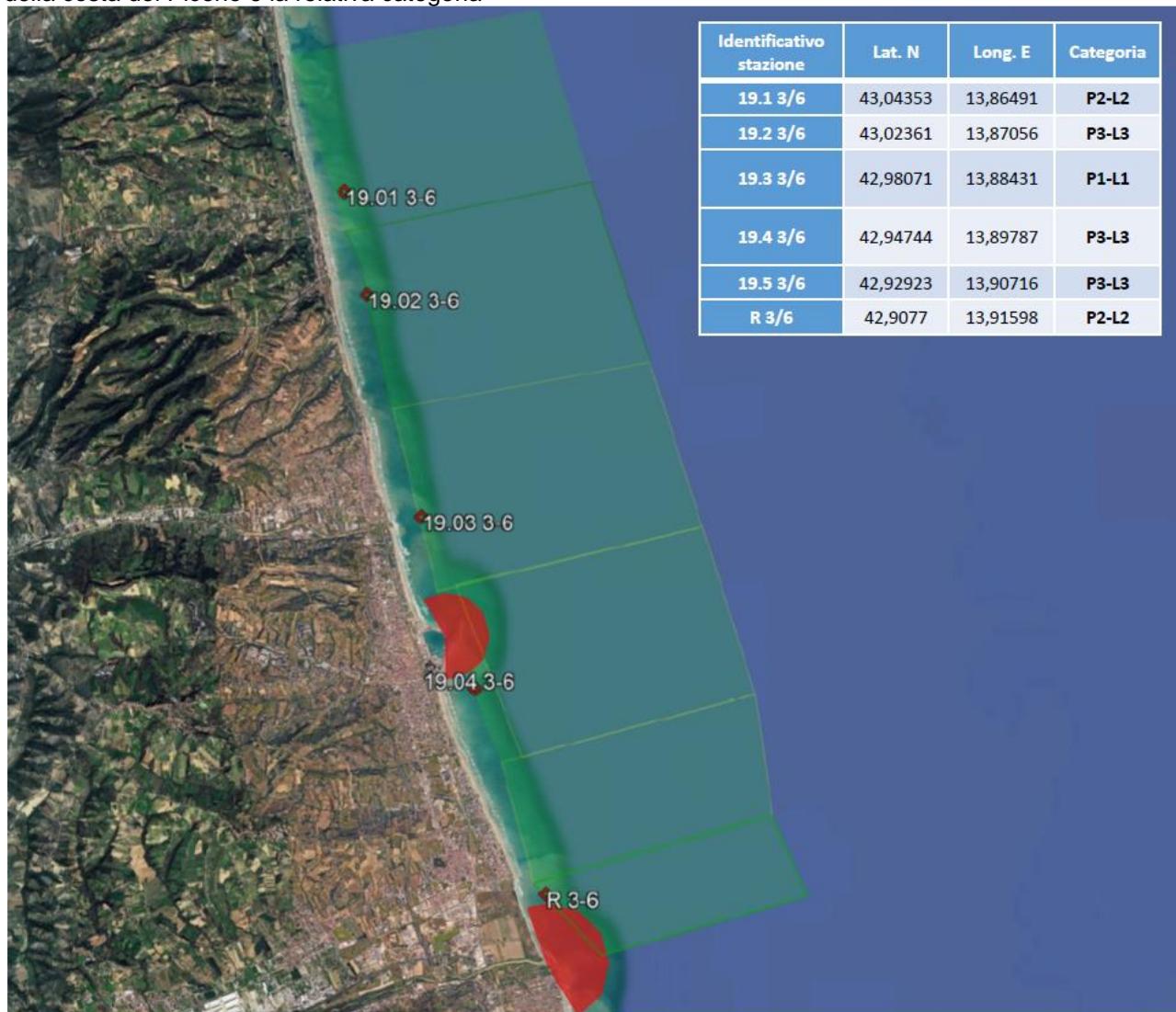
Tabella 3: stazioni di campionamento dei banchi naturali di vongole della costa del Piceno

Identificativo stazione	Lat. N	Long. E	Categoria
19.1 3/6	43,04353	13,86491	P2-L2
19.2 3/6	43,02361	13,87056	P3-L3
19.3 3/6	42,98071	13,88431	P1-L1
19.4 3/6	42,94744	13,89787	P3-L3
19.5 3/6	42,92923	13,90716	P3-L3
R 3/6	42,9077	13,91598	P2-L2

Figura 1: Algoritmo decisionale per i livelli di allarme

QUESITO 1: C'è evidenza di almeno: <input type="checkbox"/> MTA da biotossine riconducibili a <i>Chamelea gallina</i> con origine Mare Adriatico <input type="checkbox"/> Chiusura per biotossine di aree regionali classificate per <i>Chamelea gallina</i> <input type="checkbox"/> Biotossine > LoQ in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nella AST	SI	Livello L3 Campioni dai punti P1, P2 e P3 con frequenza settimanale
NO		
QUESITO 2: C'è evidenza di almeno: <input type="checkbox"/> Fitoplancton tossico oltre i limiti di riferimento in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nella AST <input type="checkbox"/> Biotossine > LoQ in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nelle AASSTT limitrofe	SI	Livello L2 Campioni dai punti P1 e P2 con frequenza settimanale
NO		
QUESITO 3: C'è evidenza di almeno: <input type="checkbox"/> Chiusura per biotossine di aree extraregionali classificate per <i>Chamelea gallina</i> <input type="checkbox"/> Fitoplancton tossico oltre i limiti di riferimento in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nelle AASSTT limitrofe <input type="checkbox"/> Biotossine > Limite ammissibile in altri bivalvi in punti di campionamento nella AST o in quelle limitrofe <input type="checkbox"/> Biotossine > LoQ in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nelle AASSTT limitrofe	SI	Livello L2 Campioni dai punti P1 e P2 con frequenza quindicinale
NO		
QUESITO 4: C'è evidenza di almeno: <input type="checkbox"/> MTA da biotossine riconducibili a <i>Chamelea gallina</i> non segnalate oppure segnalate non riconducibili a prodotto del Mare Adriatico <input type="checkbox"/> Non presenti a livello nazionale provvedimenti di chiusura di aree classificate per <i>Chamelea gallina</i> a causa di biotossine <input type="checkbox"/> Fitoplancton tossico inferiore ai limiti di riferimento in punti di campionamento per <i>Chamelea gallina</i> nella AST e AAS-STT limitrofe <input type="checkbox"/> Biotossine in altri bivalvi < limite ammissibile nella AST e nelle AASSTT confinanti <input type="checkbox"/> Biotossine in <i>Chamelea gallina</i> < LoQ nella AST e nelle AASSTT confinanti	SI	Livello L1 Campioni dai punti P1 con frequenza quindicinale

Figura 2: cartina che riassume la posizione delle stazioni di campionamento dei banchi naturali di vongole della costa del Piceno e la relativa categoria



Analisi dell'andamento della contaminazione da acido Okadaico negli allevamenti e banchi naturali di mitili della Regione Marche nel periodo 2015-2024

C. Ciccarelli¹, V. Di Trani¹, A.M. Semeraro¹, G. D'Aurizio², E. Ciccarelli³

¹⁾ Azienda Sanitaria Territoriale Ascoli Piceno

²⁾ Regione Marche – Azienda Regionale Sanitaria

³⁾ Biologo – Reading (UK)

Keywords: mitili, *Mytilus galloprovincialis*, acido Okadaico, Regione Marche, monitoraggio biotossicologico

Introduzione

I molluschi bivalvi, come cozze, vongole e ostriche, sono organismi filtratori che possono accumulare le biotossine marine prodotte dal fitoplancton causando gravi intossicazioni nel consumatore: il monitoraggio di queste biotossine nei molluschi bivalvi rappresenta quindi un aspetto fondamentale nel garantire la sicurezza alimentare e la tutela della salute pubblica. In questo contesto, il Regolamento (UE) 2019/627 – che stabilisce modalità pratiche uniformi per l'esecuzione dei controlli ufficiali ai sensi del Regolamento (UE) 2017/625 – disciplina anche le attività di campionamento e analisi per la verifica della conformità dei molluschi bivalvi ai criteri di sicurezza alimentare. In particolare, l'articolo 46 del regolamento stabilisce le modalità con cui devono essere effettuati i controlli ufficiali nei siti di produzione e raccolta, includendo la frequenza dei campionamenti, le metodologie di analisi e la responsabilità delle autorità competenti.

Nella Regione Marche, la sorveglianza sanitaria e il controllo ufficiale dei molluschi bivalvi vivi — coerentemente con il Regolamento (UE) 2019/627 — è coordinata nell'ambito del Servizio Sanitario regionale ed attuata attraverso i Servizi di Igiene degli Alimenti di Origine Animale (SIAOA) nelle 5 Aziende Sanitarie Territoriali.

La classificazione e sorveglianza delle zone di produzione è definita attualmente dalla DGR Marche n. 857/2024 che include complessivamente n. 7 banchi naturali di mitili, n. 23 allevamenti di mitili, n. 1 area di stabulazione di mitili e n. 68 banchi naturali di vongole Chamelea gallina.

Il sistema di monitoraggio delle biotossine attualmente adottato è stato articolato in maniera distinta per mitili e vongole ed assicura coerenza con i requisiti del Reg. (UE) 2019/627; è stato basato sulla valutazione del rischio e prevede frequenze prestabilite, protocolli analitici standardizzati ed azioni immediate in caso di anomalie.

Sulla base dei risultati del monitoraggio eseguito negli anni dal 2015 al 2024, e tenuto conto che soltanto l'acido Okadaico (OA) ha dato luogo, e soltanto nei mitili, a fenomeni di accumulo significativi che hanno comportato limitazioni nella raccolta del prodotto, il presente lavoro intende analizzare l'andamento della contaminazione da OA nei mitili *Mytilus galloprovincialis* provenienti dagli allevamenti e dai banchi naturali classificati della Regione Marche, allo scopo di fornire dati utili allo sviluppo ed alla gestione di sistemi di Early Warning biotossicologico a livello regionale.

Summary

This study aims to analyze the trends in Okadaic acid (OA) contamination in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) harvested from classified aquaculture sites and natural beds in the Marche Region (Italy), with the objective of providing data to support the development and management of regional biotoxin Early Warning Systems.

The dataset is based on the results of biotoxin monitoring activities conducted from 2015 to 2024, in accordance with EU Regulation 2019/627. The analysis was limited to data concerning OA, as this was the only toxin that led to significant accumulation phenomena—exclusively in mussels—that resulted in harvesting restrictions.

The study revealed that OA contamination levels were generally low, particularly in the province of Ascoli Piceno. A total of 11 contamination events with OA levels \geq LoQ (Limit of Quantification) were identified. These events varied widely in terms of their duration, geographic distribution, and peak OA concentrations. Only 5 of these events reached levels \geq MPL (Maximum Permitted Level).

The contamination episodes primarily occurred during the late summer to autumn period, although some cases were also observed in the spring. Overall, OA contamination appears to have originated in the northern part of the region and spread southward, with the exception of two events that began in the province of Fermo and showed the opposite trend.

The results of this study provide a valuable dataset to support the development and implementation of regional biotoxin Early Warning Systems in the Marche Region.

Materiali e metodi

Per lo studio sono stati presi in considerazione i risultati di tutti i campioni del monitoraggio biotossicologico, eseguito dal 2015 al 2024 nei confronti dell'OA, per i mitili *Mytilus galloprovincialis* provenienti dagli allevamenti e banchi naturali classificati della Regione Marche. Tutti i campioni sono stati analizzati presso la sezione di

Ancona dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche mediante LC-MS/MS (AESAN EU-RL-MB Lipophilic toxins, ver 5 2015). I dati sono stati ricavati dal Sistema Informativo SINVSA del Ministero della Salute italiano.

I risultati sono stati classificati in quattro classi rispetto al limite di quantificazione ($LoQ=40 \mu\text{g OA eq./kg}$), al limite massimo ammissibile ($Lma = 160 \mu\text{g OA eq./kg}$), ed al valore $OA \geq Lma/2$; quindi sono stati analizzati con tecniche di statistica descrittiva e ne è stato valutato l'andamento temporale, sia a livello generale che su base provinciale.

Inoltre, tali risultati sono stati classificati in episodi omogenei dal punto di vista temporale, sono state analizzate le relative distribuzioni di dati e ne è stato studiato l'ordine di insorgenza su base provinciale.

Risultati e discussione

Complessivamente sono stati presi in considerazione n. 5491 risultati, ottenuti tra il 2015 e il 2024, con il monitoraggio dell'OA in mitili *Mytilus galloprovincialis* da allevamenti e banchi naturali della Regione Marche. La posizione degli allevamenti e dei banchi naturali, come attualmente classificati dalla D.G.R. Marche 857/2024 è riportata nelle Figure 1, 2 e 3. La tabella 1 riassume i campioni prelevati nel decennio 2015-2024, il numero di quelli con risultato $OA \geq LoQ$ ed il tasso relativo, mentre il Grafico 1 mostra l'andamento di questi dati nel corso degli anni.

Appare evidente come, pur se con qualche differenza su base provinciale e per determinati anni, il tasso di risultati $OA \geq LoQ$ sia modesto, complessivamente inferiore al 20%, senza grandi differenze tra le cinque province, ad eccezione di quella di Ascoli Piceno dove il tasso medio è la metà di quello regionale. Su base annuale il risultato "peggiore" è stato osservato nel 2024 con un tasso complessivo di poco superiore al 40%. Il Grafico 2 riporta l'andamento temporale dei risultati suddivisi nelle 4 classi mentre il Grafico 3 riporta i valori numerici ottenuti in ciascuna provincia: è possibile riconoscere 11 episodi distinti nel tempo le cui caratteristiche sono state riassunte nella Tabella 2 e le relative distribuzioni di risultati sono rappresentate mediante box-plot nel Grafico 4. Il numero di aree interessate per ciascun episodio è estremamente variabile, da 5 a 30, con media di 20; anche la durata può variare da 2 a 8 mesi con media di 4. La distribuzione dei valori appare sempre ben contenuta al di sotto del Lma , ad eccezione del primo episodio risalente al 2015.

La distribuzione su base mensile dell'estensione dei singoli episodi, distinta nelle tre classi superiori, è riportata nel Grafico 5. Appaiono, in maniera simile per tutte le classi, due distinti andamenti: uno tardo estivo-autunnale, che comprende la maggior parte degli episodi, ed uno primaverile.

L'ordine di insorgenza del primo valore $OA \geq LoQ$ per ciascuna provincia, è riportato nel Grafico 6: Pesaro Urbino fa la parte del leone con 7/11, mentre 2 casi a testa hanno Fermo ed Ancona. Generalmente si osserva come la direzione di diffusione degli episodi segua l'asse nord-sud, con l'eccezione degli episodi 1 e 5 che, iniziati a Fermo, si sono diffusi dapprima verso nord.

Per i valori $OA \geq Lma$ l'ordine di insorgenza a livello provinciale è rappresentato nel Grafico 7: in questo caso l'ordine non segue un andamento regolare.

L'analisi dei risultati ottenuti nel decennio 2015-2024 con il monitoraggio biotossicologico dei mitili *Mytilus galloprovincialis* da allevamenti e banchi naturali della Regione Marche ha permesso di riconoscere come il livello di contaminazione da OA sia stato generalmente basso, particolarmente nella provincia di Ascoli Piceno. È stato possibile riconoscere 11 episodi complessivi con valori $OA \geq LoQ$, estremamente disomogenei per quanto riguarda la loro estensione temporale, le province interessate ed i valori raggiunti: in 5 di questi episodi si sono avuti valori $OA \geq Lma$. Si è trattato di episodi che hanno interessato particolarmente il periodo tardo estivo-autunnale ma alcuni casi si sono verificati anche nel periodo primaverile. La contaminazione ha mostrato, generalmente, la tendenza ad insorgere nella parte nord della regione e a diffondersi a sud con l'eccezione di due episodi, iniziati nel fermano, che hanno mostrato tendenza opposta.

I risultati ottenuti possono costituire una base di dati utile allo sviluppo ed alla gestione di sistemi di Early Warning biotossicologico a livello della Regione Marche.

Bibliografia

- [1] Stefano Accoroni, Monica Cangini, Roberto Angeletti, Carmen Losasso, Simone Bacchicocchi, Anto-nella Costa, Aurelia Di Taranto, Laura Escalera, Giorgio Fedrizzi, Angela Garzia, Francesca Longo, Andrea Macaluso, Nunzia Melchiorre, Anna Milandri, Stefania Milandri, Marina Montresor, Francesca Neri, Arianna Piersanti, Silva Rubini, Chiara Suraci, Francesca Susini, Maria Rosaria Vadrucci, Alessandro Graziano Mudadu, Barbara Vivaldi, Barbara Soro, Cecilia Totti, Adriana Zingone, 2023. Marine phycotoxin levels in shellfish—14 years of data gathered along the Italian coast. Harmful Algae 131 (2024) 102560.
- [2] Juan Blanco, 2018. Accumulation of Dinophysis Toxins in Bivalve Molluscs. Toxins 10 (453).
- [3] Ciccarelli C, Barchiesi F, D'Aurizio G, Semeraro AM, Di Trani V, Massi A, 2022. Biotossine algali nei molluschi bivalvi prodotti nelle Marche: analisi dei risultati del monitoraggio condotto a partire dal 2016. Atti del IX Convegno Nazionale SIRAM, Trieste.
- [4] Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 of 15 March 2019 laying down uniform practical arrangements for the performance of official controls on products of animal origin intended for human consumption in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Regulation (EC) No 2074/2005 as regards official controls. Official Journal of the European Union, Series, L 131, 17.5.2019, p. 51–100.
- [5] Deliberazione della Giunta Regionale Marche del 4 giugno 2024, n. 857. *Riclassificazione sanitaria delle zone di produzione/stabulazione dei molluschi bivalvi vivi ai sensi del regolamento UE del 15 marzo 2019, n. 627; revoca della Deliberazione di Giunta del 20 giugno 2022, n. 773. BUR n. 53 del 14/06/2024.*

- [6] FAO, 2011. Assessment and Management of biotoxins risk in bivalve molluscs. FAO FISHERIES AND AQUACULTURE TECHNICAL PAPER 551.
- [7] Roberto Poletti. "Biotossine marine: Origine, Diffusione e Controllo". Centro Ricerche Marine di Cesenatico URL: <https://cipesalute.org/cedo/allegati/4500-BiotossineMarine.pdf>
- [8] Soliani Lamberto (2005). Manuale di statistica per la ricerca e la professione; statistica univariata e bivariata parametrica e non parametrica per le discipline ambientali e biologiche. Cap 1: Elementi di statistica descrittiva per distribuzioni univariate. <https://www.dsa.unipr.it/soliani/soliani.html>.

Figura 1: cartina con la posizione degli allevamenti e dei banchi naturali classificati di mitili nella provincia di Pesaro Urbino (Fonte: D.G.R. Marche n. 857/2024).

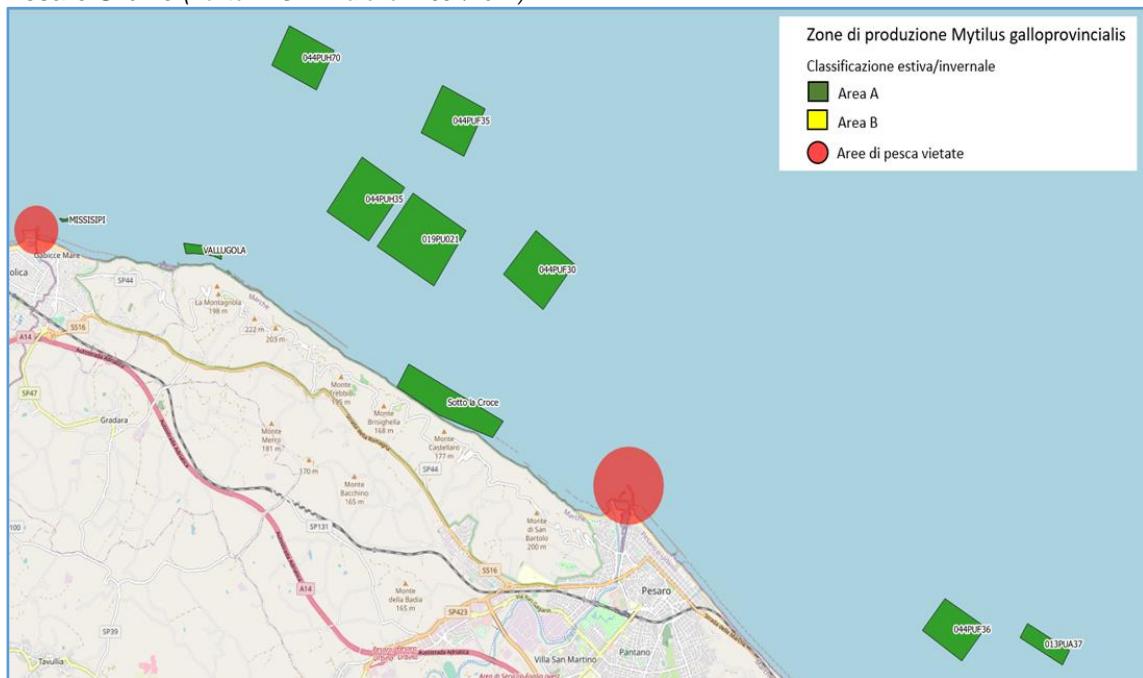


Figura 2: cartina con la posizione degli allevamenti e dei banchi naturali classificati di mitili nella provincia di Ancona (Fonte: D.G.R. Marche n. 857/2024).

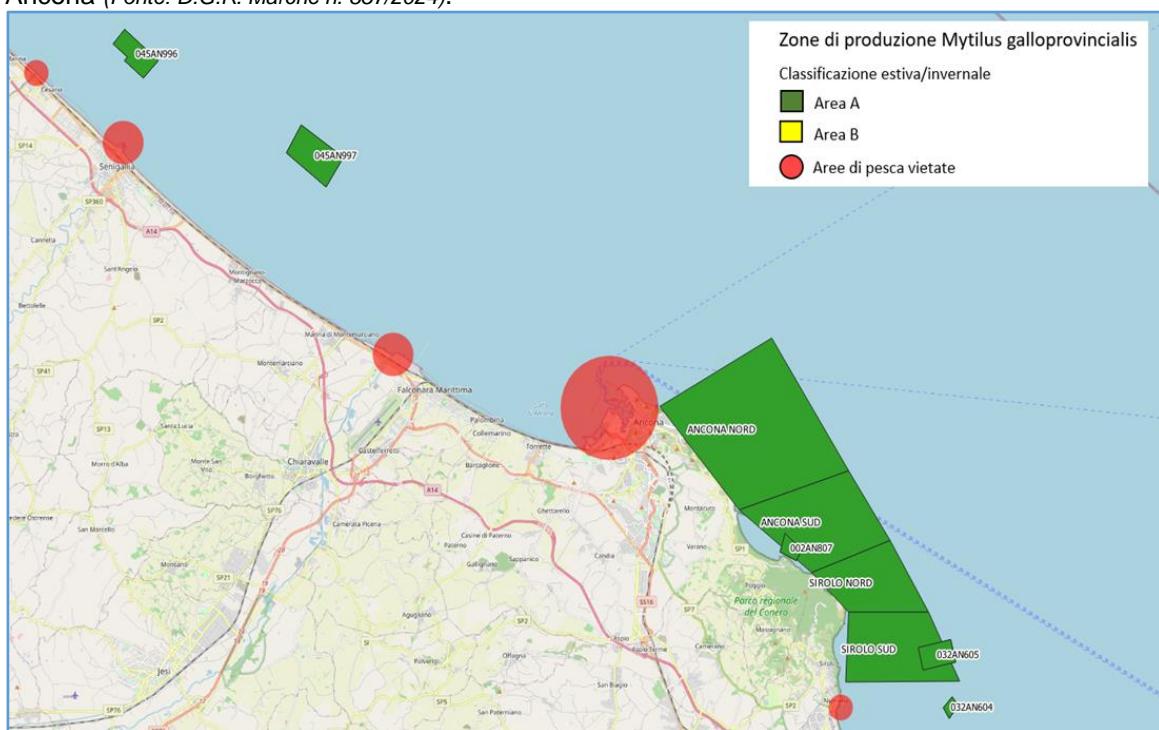


Figura 3: cartina con la posizione degli allevamenti classificati di mitili nelle province di Macerata, Fermo e Ascoli Piceno (Fonte: D.G.R. Marche n. 857/2024).

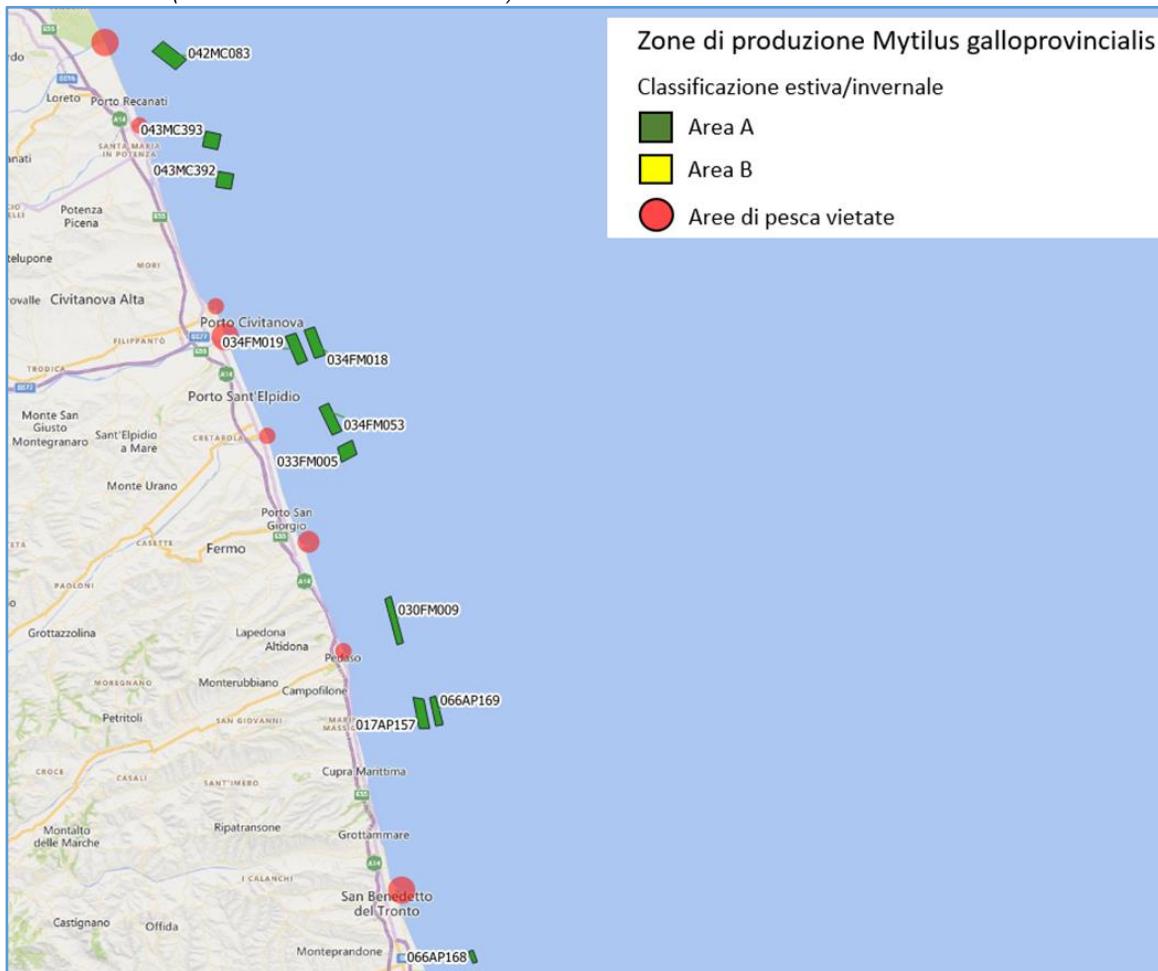


Tabella 1: riepilogo risultati ottenuti nel decennio 2015-2024

	campioni	\geq LoQ	tasso \geq LoQ
ANCONA	1561	239	0,15
ASCOLI PICENO	456	42	0,09
FERMO	756	149	0,20
MACERATA	769	144	0,19
PESARO-URBINO	1949	435	0,22
Totale Regione Marche	5491	1009	0,18

Tabella 2: episodi con valori OA \geq LoQ

episodio	periodo	Valore massimo $\mu\text{g OA eq./kg}$	N° aree interessate	Province interessate e ordine d'insorgenza del primo valore OA \geq LoQ	Province interessate e ordine d'insorgenza del primo valore OA \geq Lma	Durata in mesi dell'episodio		
						OA \geq LoQ	OA \geq Lma/2	OA \geq Lma
Ep_1	Set-Dic 2015	1373	26	FM-AN-MC-PU-AP	AN-MC-PU-AP-FM	4	3	3
Ep_2	Set-Dic 2017	692	24	AN-MC-PU-FM-AP	PU-MC-AP-AN	4	3	2
Ep_3	Giu-Lug 2019	136	5	AN-MC		2	1	
Ep_4	Ott-Dic 2019	147	20	PU-AN-MC-FM		3	2	
Ep_5	Mar-Giu 2020	255	24	FM-MC-AP	MC-AP-FM	4	3	3
Ep_6	Ago-Dic 2020	156	22	PU-AN-AP-FM-MC		5	5	
Ep_7	Ago2021 – Mar 2022	415	30	PU-AN-MC-FM-AP	PU-AN-FM-MC	8	6	4
Ep_8	Ott-Dic 2022	125	16	PU-AN-MC-FM		2	2	
Ep_9	Mar-Apr 2023	74	9	PU-AN-FM		2		
Ep_10	Feb-Lug 2024	325	29	PU-AN-MC-FM-AP	PU-AN-FM	6	5	4
Ep_11	Ago-Ott 2024	73	11	PU-MC-FM-AN		3	3	

Grafico 1: campioni prelevati, distinti per provincia e per anno, ed il relativo tasso di risultati OA \geq LoQ.

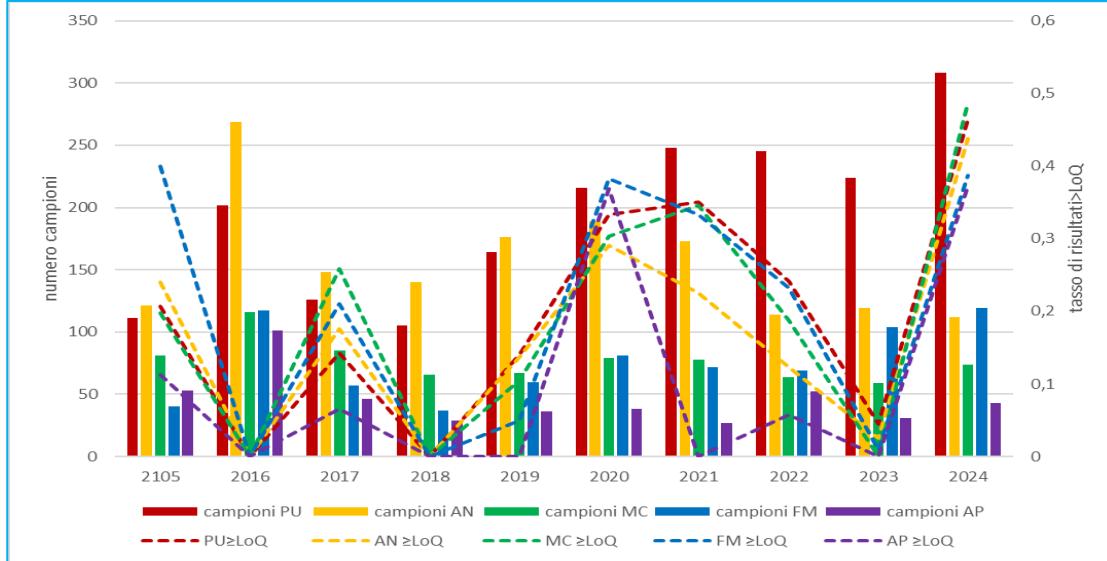


Grafico 2: rappresentazione temporale dei valori di OA ottenuti suddivisi in classi

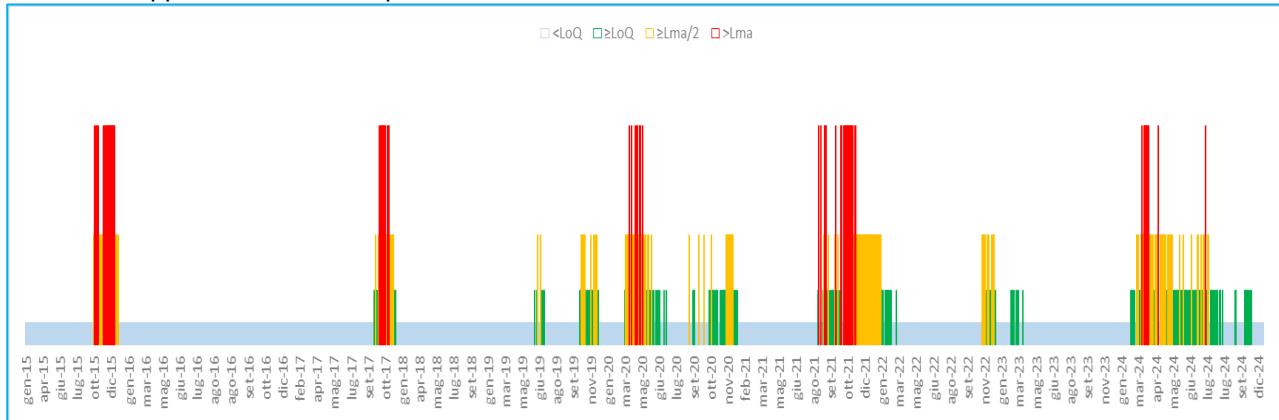


Grafico 3: rappresentazione temporale dei valori di OA>LoQ nelle province della Regione Marche

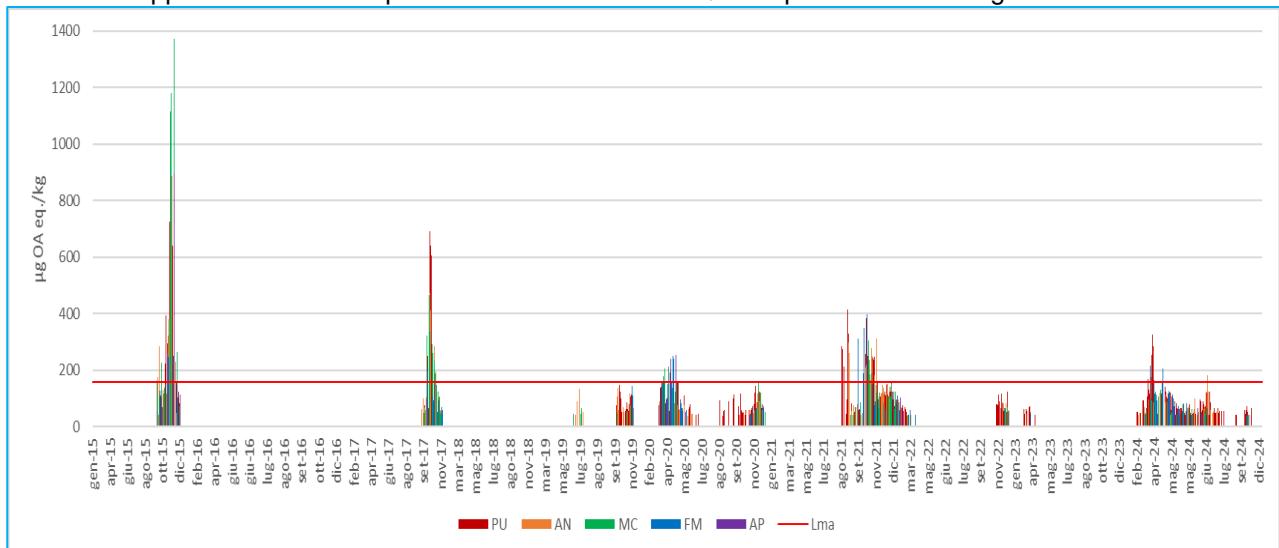


Grafico 4: rappresentazione mediante box plot delle distribuzioni di valori negli episodi identificati

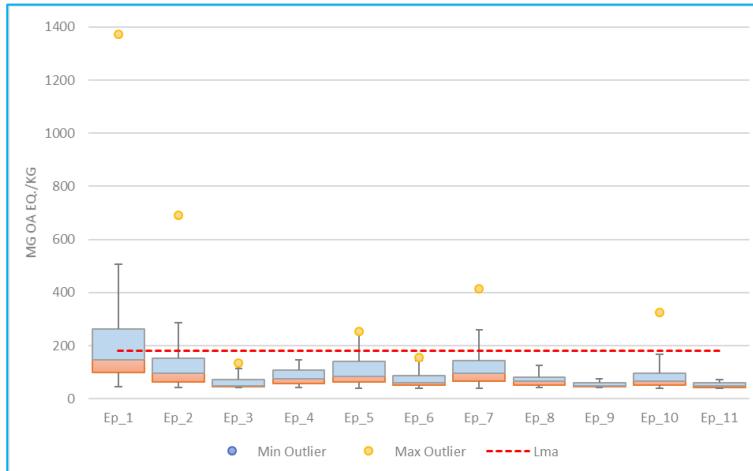


Grafico 5: distribuzione mensile delle classi di valori OA \geq LoQ suddivisi nelle tre classi

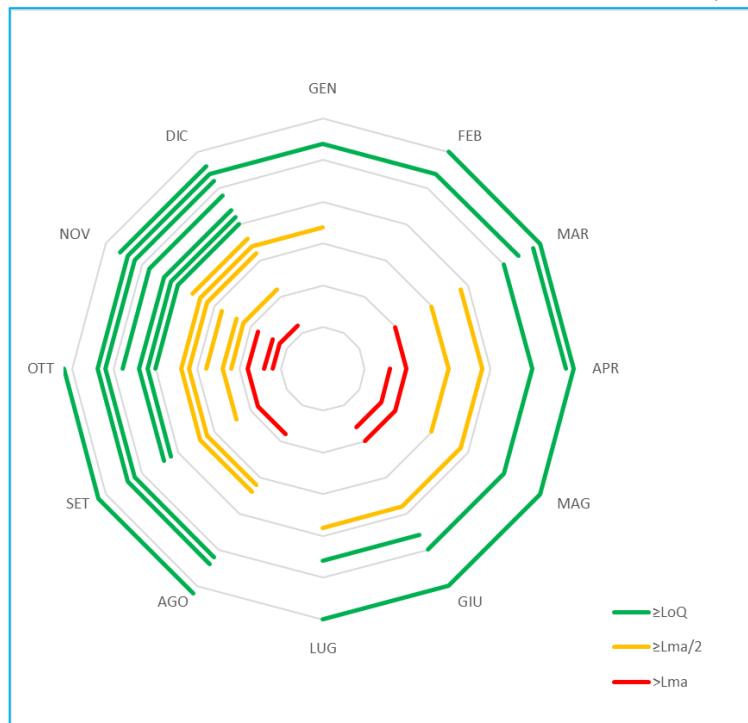


Grafico 6: ordine di insorgenza del primo valore OA \geq LoQ a livello provinciale per ciascun episodio (l'ordine progressivo procede dall'esterno verso l'interno)

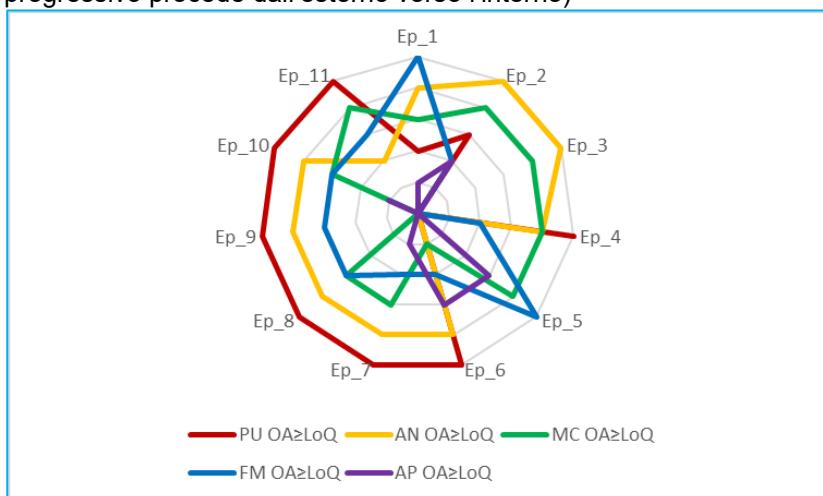
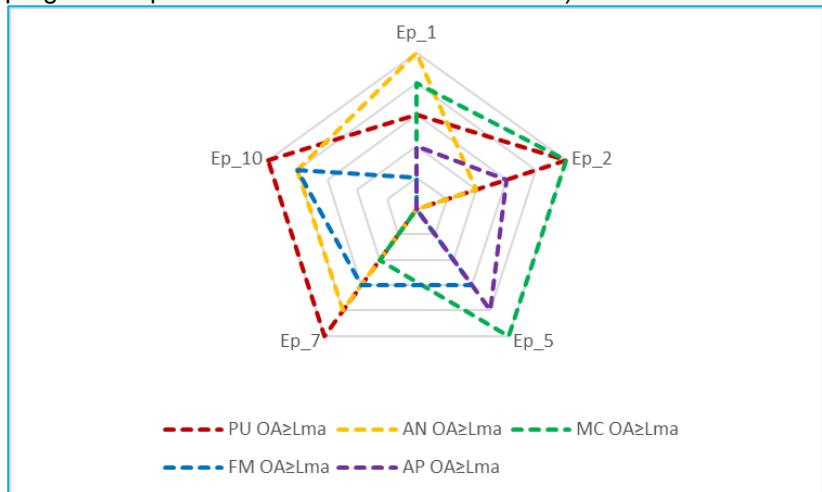


Grafico 7: ordine di insorgenza del primo valore $OA \geq Lma$ a livello provinciale per ciascun episodio (l'ordine progressivo procede dall'esterno verso l'interno)



Biotossine algali e fitoplancton nelle aree di molluschicoltura del Golfo della Spezia: evoluzione dei controlli ufficiali negli ultimi 10 anni

E. Costa¹, B. Betti¹, E. Bazzali¹, M. Orlandi¹

¹Azienda Sociosanitaria Ligure 5 – Struttura Complessa Igiene degli Alimenti di Origine Animale – La Spezia

Keywords: biotossine, fitoplancton, molluschi bivalvi, monitoraggio

Introduzione

La molluschicoltura nel Golfo della Spezia rappresenta una realtà ad elevato valore socio-economico con una produzione di 12.600 quintali di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) e 347 quintali di ostriche (*Crassostrea gigas*) nell'anno 2024. I molluschi bivalvi, in quanto filtratori, possono accumulare biotossine in relazione alla concentrazione di fitoplancton tossico presente nell'ambiente acquatico ed alla capacità di filtrazione della specie. ASL 5 rappresenta l'Autorità Competente Locale responsabile dell'esecuzione del monitoraggio delle zone di allevamento dei molluschi bivalvi (1) per assicurare il rispetto dei parametri biotossicologici previsti dalla normativa cogente (2). Attualmente non sono disponibili limiti normativi per il fitoplancton potenzialmente tossico. Questo lavoro analizza l'evoluzione del programma di monitoraggio ufficiale e delle strategie di gestione del rischio biotossine nei molluschi bivalvi nel decennio 2015-2024. Attraverso una revisione dei dati ufficiali, dei protocolli operativi e delle normative di riferimento, lo studio descrive la transizione da un sistema di controllo basato principalmente sulla raccolta dei dati analitici verso un approccio più performante ed integrato.

Summary

Shellfish production in the Gulf of La Spezia represents a sector of considerable social and economic relevance. As filter-feeding organisms, bivalve molluscs are particularly susceptible to the accumulation of algal biotoxins, making them a key target for food safety monitoring. The Local Competent Authority (ASL 5) conducts systematic surveillance of bivalve production areas to ensure compliance with biotoxicological thresholds established by current regulatory requirements. However, regulatory limits for potentially toxic phytoplankton species have not yet been formally defined. This study aims to describe the progressive intensification and methodological evolution of biotoxin and phytoplankton monitoring activities between 2015 and 2024, based on empirical data, scientific evidence, and relevant regulatory developments.

Materiali e metodi

Nel Golfo della Spezia sono presenti le aree di molluschicoltura "Diga Foranea" e "Baia di Portovenere" suddivise in 7 zone di produzione denominate "Diga Foranea Interna Levante", "Diga Foranea Interna Centro", "Diga Foranea Interna Ponente", "Diga Foranea Esterna Levante", "Diga Foranea Esterna Ponente", "Portovenere" e "Palmaria". Per ogni zona è stato individuato un punto di campionamento rappresentativo dei rischi associati a fitoplancton potenzialmente tossico e biotossine. I mitili sono caratterizzati da una maggiore capacità fisiologica di accumulo rispetto ad altri organismi filtratori e sono pertanto utilizzati come specie sentinella per la ricerca di biotossine contestualmente al piano di monitoraggio delle suddette zone (3). In ciascuna stazione è effettuato il prelievo di pool di mitili di taglia commerciale in diversi punti della rete a tre livelli di profondità (sul fondo, a metà ed in superficie) per la ricerca delle biotossine. Negli stessi punti viene effettuato un prelievo di acqua di mare mediante retino Apstein per la valutazione qualitativa del fitoplancton e tre ulteriori prelievi con bottiglia di Niskin a tre profondità (sul fondo, a metà ed in superficie) per la ricerca quantitativa di fitoplancton. Le concentrazioni delle biotossine vengono correlate a quelle dei ceppi algali potenzialmente tossici rilevati contemporaneamente nella stessa stazione di campionamento (4).

Risultati e discussione

Nel corso dell'attività di monitoraggio svolta nel periodo 2015-2024 sono stati raccolti n. 1372 campioni di mitili e n. 5152 campioni di acqua di mare. Nel periodo considerato, sono stati identificati complessivamente n. 5 casi di positività nei mitili, n. 2 associati all'acido okadaico e n. 3 all'acido domoico. A partire dall'anno 2018, a scopo cautelativo sono stati definiti livelli di attenzione di biotossine e cellule algali oltre i quali incrementare la frequenza degli interventi di monitoraggio adottando un approccio "Early Warning System" che prevede l'intensificazione degli interventi di monitoraggio in caso di eccedenza delle concentrazioni limite assunte per le popolazioni algali, in concomitanza con il superamento dei livelli di attenzione stabiliti per le biotossine, fino al rientro dei valori al di sotto dei limiti stabiliti. Per le biotossine è stato adottato quale livello di attenzione un valore pari al 50% dei limiti stabiliti dalla normativa di riferimento (2). I livelli di attenzione della concentrazione del fitoplancton potenzialmente tossico per ciascuna delle specie algali riscontrate più frequentemente sono stati definiti sulla base dell'analisi dei dati rilevati nel corso delle campagne di monitoraggio effettuate nel periodo 2000-2018. Negli anni 2021 e 2023 è stato implementato il numero di specie fitoplanctoniche potenzialmente tossiche oggetto di analisi, introducendo anche la ricerca di fitoplancton produttore di

biotossine marine a rischio emergente (5). Nel periodo 2018-2024 sono state effettuate complessivamente n. 1022 sessioni di campionamento per il prelievo di mitili ed acqua di mare destinati alla ricerca di biotossine e fitoplancton potenzialmente tossico. Si è riscontrato il superamento dei livelli di attenzione: *Alexandrium spp* (PSP) 1%, *Dynophysis spp.* (DSP) 1%, *Pseudo-nitzschia spp* (ASP) 1%, *Gonyaulax spinifera* (YTX) 0,49%, *Lingulodinium polyedra* (YTX) 14%, *Protoceratium reticulatum* (YTX) 0,49% ed altre alghe produttrici di yessotossine 0,29%. In tutti i casi di superamento dei livelli di attenzione del fitoplancton non sono stati superati i valori soglia fissati per le relative biotossine. A giugno 2023 in 3 stazioni di monitoraggio è stato riscontrato l'innalzamento della concentrazione di acido domoico nei mitili oltre i livelli di attenzione non accompagnato dal superamento dei valori soglia del fitoplancton produttore. Nell'anno 2025, sulla base della letteratura scientifica (6) e dell'analisi dei dati analitici raccolti, si è ritenuto opportuno innalzare il valore soglia di alcune specie algali.

Nel periodo considerato, la frequenza del campionamento per la ricerca delle biotossine algali (ASP, DSP, PSP) e di fitoplancton potenzialmente tossico è aumentata, passando da prelievi mensili durante l'anno e quindicinale limitatamente al periodo maggio-settembre ad un sistema di monitoraggio quindicinale continuativo. A partire dall'anno 2024 è stata introdotta una strategia di campionamento "a scacchiera" che prevede il prelievo alternato di campioni di mitili ed acqua di mare provenienti dalle zone "Diga Foranea Interna Levante", "Diga Foranea Interna Centro", "Diga Foranea Interna Ponente" e "Diga Foranea Esterna Levante" e dalle zone "Portovenere", "Palmaria" e "Diga Foranea Esterna Ponente", predisponendo un sistema di chiusure preventive mirate delle singole zone campionate fino all'esito negativo di tutte le analisi effettuate. Questo approccio, condiviso e sostenuto dall'operatore del settore alimentare, ha permesso di evitare l'immissione in commercio di molluschi bivalvi eventualmente non conformi. Fino al 2024, il protocollo di monitoraggio prevedeva il prelievo di campioni di acqua di mare a tre diverse profondità, con l'obiettivo di garantire un controllo quantitativo delle popolazioni fitoplanctoniche lungo la colonna d'acqua. Tale approccio consente di ottenere, per ciascuna stazione di monitoraggio, tre campioni distinti ed indicativi della composizione fitoplanctonica verticale ai diversi strati. Successivamente, è stato adottato un campionamento integrato, ottenuto mediante la miscelazione dei prelievi effettuati alle diverse profondità. Questa strategia consente di ottenere un unico campione, più rappresentativo del fitoplancton potenzialmente produttore di biotossine presente nelle zone di produzione, ottimizzando al contempo l'efficienza del monitoraggio. Per l'anno 2026 è previsto l'utilizzo del tubo flessibile (7). Le modifiche apportate al protocollo di monitoraggio nel decennio 2015-2024 rappresentano un'evoluzione verso un approccio più proattivo, integrato e basato sul rischio, in linea con le raccomandazioni scientifiche internazionali e con gli obiettivi di tutela della salute pubblica.

Bibliografia

- [1] Regolamento (UE) n. 2019/627 del 15 marzo 2019 che stabilisce modalità pratiche uniformi per l'esecuzione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano in conformità al Regolamento (UE) n. 2017/625 e che modifica il Regolamento (CE) n. 2074/2005 per quanto riguarda i controlli ufficiali
- [2] Regolamento (CE) n. 853/2004 del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale
- [3] "Biotossine marine. Origine, diffusione e controllo"- Centro Ricerche Marine, Regione Emilia Romagna, a cura di Roberto Poletti.
- [4] "Elenco fitoplancton produttore di biotossine marine regolamentate (rev. marzo 2025)"- Fondazione Centro Ricerche Marine, Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine
https://www.centroricerchemarine.it/public/upl_images/epweb3/rev-specie_tox_2025-BM-reg.pdf
- [5] "Elenco fitoplancton produttore di biotossine marine a rischio emergente (rev. marzo 2025)"- Fondazione Centro Ricerche Marine, Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine
https://www.centroricerchemarine.it/public/upl_images/epweb3/rev-specie_tox_2025-BM-emerg.pdf
- [6] E. Vaccaro, V. Ciccarelli, P. Olivieri, R. Battistini, C. Capelli, S. Lottici, N. Melchiorre, E. Smirnova, M. Ferro, E. Costa, B. Betti, B. Vivaldi, C. Masotti, L. Serracca, F. Iacona, M. Orlandi, C. Ercolini, 2023. "Shellfish sanitation monitoring in La Spezia gulf: Chemometric evaluation of data from 2015 to 2021". Heliyon 9 (2023) e17032.
- [7] Istruzioni operative per la raccolta di campioni di acqua per l'analisi di fitoplancton potenzialmente produttore di biotossine marine, in conformità al Reg. di esecuzione (UE) 2019/627" rev. 9/05/2023"- Fondazione Centro Ricerche Marine, Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine
https://www.centroricerchemarine.it/public/upl_images/epweb3/I.O.-Raccolta-campioni-fito_ver.09-05-2023.pdf

Mitili come filtri biologici: metagenomica shotgun di geni di antibiotico resistenza e patogeni accumulati dall'ambiente marino

S. Dalle Palle¹, A. Peruzzo^{1A}, P. L. Antonelli^{1A}, G. Fabbri^{1A}, A. Dall'Occo¹, P. Sivalingam³, G. Arcangeli², R. Sabatino³, A. Di Cesare³, C. Losasso³

¹⁾Laboratorio di Ecologia Microbica e Genomica dei Microrganismi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Italia

²⁾Centro Specialistico Ittico, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Italia

³⁾Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) – Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA), Largo Tonolli 50, 28922 Verbania, Italia

^APhD National Programme in One Health Approaches to Infectious Diseases and Life Science Research, Department of Public Health, Experimental and Forensice Medicine, University of Pavia, Pavia 27100, Italy

Keywords: Antibiotico resistenza, Mitili, Patobioma

Introduzione

L'ambiente marino è riconosciuto come uno dei maggiori serbatoi di geni di antibiotico resistenza (ARGs), ormai considerati inquinanti ambientali (Hatosy & Martiny, 2015). Tali geni possono essere presenti sia come DNA intracellulare (iDNA), integrato nel genoma delle comunità batteriche residenti (Sabatino et al., 2020) sia come DNA extracellulare (eDNA), componente stabile e diffusibile della colonna d'acqua e del sedimento, ancora scarsamente caratterizzato nonostante il suo potenziale ruolo nel trasferimento orizzontale (Zhou et al., 2019). Proprio l'eDNA rappresenta una delle rotte inesplorate attraverso cui gli ARGs possono raggiungere la catena alimentare marina e il microbiota degli organismi filtratori edibili, come i molluschi bivalvi sessili (MBS), con possibili implicazioni per la salute pubblica.

In questo studio abbiamo caratterizzato gli ARGs associati sia alla frazione intra- che extracellulare in diverse matrici (acqua, sedimento e tessuti di MBS), utilizzando approcci basati sulla metagenomica shotgun, dimostrando che entrambe le componenti possono contribuire al carico genetico trasferibile. Inoltre, attraverso un esperimento di esposizione controllata, abbiamo fornito la prima evidenza sperimentale del trasferimento di ARGs da DNA extracellulare al microbiota di *Mytilus galloprovincialis*, utilizzando un plasmide ingegnerizzato come vettore modello. Questo approccio ci ha permesso di stimare la frequenza di trasferimento e di evidenziare l'importanza dell'eDNA come via concreta di diffusione degli ARGs dall'ambiente marino agli organismi acquatici edibili.

Summary

The marine environment is recognized as one of the major reservoirs of antibiotic resistance genes (ARGs), which are now considered environmental pollutants (Hatosy & Martiny, 2015). These genes can be present either as intracellular DNA (iDNA), integrated into the genome of resident bacterial communities (Sabatino et al., 2020), or as extracellular DNA (eDNA), a stable and diffusible component of the water column and sediment. Despite its potential role in horizontal gene transfer, eDNA remains poorly characterized (Zhou et al., 2019). eDNA represents one of the unexplored pathways through which ARGs can reach the marine food chain and the microbiota of edible filter-feeding organisms, such as sessile bivalve mollusks (SBMs), with possible implications for public health.

In this study, we characterized ARGs associated with both the intra- and extracellular fractions in various matrices (water, sediment, and SBM tissues), using shotgun metagenomics approaches. We demonstrated that both components can contribute to the transferable genetic load. Furthermore, through a controlled exposure experiment, we provided the first experimental evidence of ARG transfer from extracellular DNA to the microbiota of *Mytilus galloprovincialis*, using an engineered plasmid as a model vector. This approach allowed us to estimate the transfer frequency and highlight the importance of eDNA as a concrete route for the dissemination of ARGs from the marine environment to edible aquatic organisms.

Materiali e metodi

Studio di campo

Il campionamento è stato effettuato nella laguna di Venezia, in prossimità di Chioggia. In ciascuna sessione di campionamento sono state prelevate tre matrici: mitili selvatici (*Mytilus galloprovincialis*), acqua marina e sedimento. I mitili sono stati prelevati da pali in legno presenti nella laguna, con una quantità complessiva di circa 1 kg per sessione. Il sedimento è stato raccolto manualmente dal fondale nello stesso punto di campionamento scelto per i mitili, (~ 0,5 kg), mentre l'acqua marina è stata prelevata con bottiglie di vetro sterili immerse direttamente nella colonna d'acqua (~ 3 L). Tutti i campioni sono stati mantenuti a 4°C durante il trasporto e processati in laboratorio entro 24 ore dalla raccolta.

Per l'eDNA è stato seguito, il protocollo descritto da Sivalingam et al. (2024) con alcune modifiche minori. Per l'iDNA, 1,5 L di acqua marina o il surnatante ottenuto durante l'estrazione dell'eDNA dal sedimento, sono stati filtrati direttamente su membrane di cellulosa da 0,22 µm. I filtri sono stati conservati a -20°C fino all'estrazione, o in alternativa, processati immediatamente. Le membrane sono state frammentate in condizioni sterili all'interno di una cappa a flusso laminare. L'estrazione del iDNA è stata effettuata con il kit QIAamp DNA Mini (Qiagen, Hilden, Germania), seguendo le istruzioni del produttore. Il DNA estratto è stato risospeso in 150 µL di acqua priva di nucleasi e conservato a -20°C fino alle analisi successive. Lo stesso kit è stato impiegato anche per l'estrazione del DNA totale dai mitili con risospensione finale del DNA in 200 µL.

Per la metagenomica shotgun, il sequenziamento è stato effettuato da IGA Technology Service S.R.L (Udine, Italia) con protocollo per preparazione di librerie Ovation® Ultralow V2 DNA-Seq Library Preparation Kit (Tecan Genomics, Redwood City, CA). Le librerie sono quindi state sequenziate su Novaseq 6000 in modalità paired-end. Le sequenze paired-end sono state processate con Trimmomatic (v0.39) (Bolger et al., 2014). Le sequenze più corte di 50 bp dopo il trimming sono state scartate. Le sequenze così ripulite sono state mappate contro geni noti di resistenza agli antibiotici utilizzando il modulo bwt di RGI (v6.0.3) (Alcock et al., 2023). L'identificazione degli ARGs è stata effettuata sulla base delle annotazioni presenti nel database CARD (v3.3.0) e nella sua estensione Resistomes & Variants (v4.0.2). La classificazione tassonomica è stata eseguita con Kraken2 (v2.1.3) (Wood et al., 2019) utilizzando il database standard; i risultati sono stati ottenuti in formato MetaPhlAn (--use-mpa-style).

Le analisi di diversità alfa e beta sono state effettuate in R (v4.4.2). I dati di abbondanza aggregati sono stati riformattati, integrati con i metadati dei campioni e organizzati in oggetti phyloseq (v3.21) (McMurdie & Holmes, 2013). La normalizzazione delle conte è stata eseguita con il metodo GMPR (Chen et al., 2018). Per la diversità alfa sono stati calcolati: numero di specie osservate, indice di Shannon e indice di Pielou, utilizzando il pacchetto microbiome (Lahti et al., 2017) e confrontati tra gruppi con test di Wilcoxon a coppie, correggendo i p-value con il metodo FDR. La diversità beta è stata visualizzata tramite NMDS con distanza Bray-Curtis (ordinate di phyloseq), mentre le differenze tra gruppi sono state valutate con confronti a coppie usando il pacchetto pairwiseAdonis (Martinez, 2020).

L'analisi della differenza di abbondanza, misurata in differenza logaritmica di espressione, per ARG e taxa è stata eseguita con il pacchetto ANCOM-BC2 (Lin & Peddada, 2020). Sono stati esclusi i ARGs e i generi patogeni con prevalenza <5% e <10%, o con meno di 100 e 500 letture rispettivamente. I p-value sono stati corretti con il metodo di Holm. Sono stati stimati anche gli zeri strutturali (assenze sistematiche tra gruppi di matrici) e condotta un'analisi di sensibilità sull'uso delle pseudo-conte. I confronti tra gruppi sono stati considerati significativi con $\alpha = 0.05$.

Studio di esposizione

Nell'ambito di questo studio è stato utilizzato un ceppo di *Escherichia coli* opportunamente ingegnerizzato con il plasmide pSEVA431-Gfp-aadA, carrier di geni di antibiotico resistenza (ARGs) agli aminoglicosidi e con un gene marcatore codificante per la Green Fluorescent Protein (GFP). Il ceppo è stato incubato a 37°C su terreno di coltura in piastra (Luria Bertani) addizionato con antibiotico streptomicina, al fine di ottenere una sufficiente quantità di plasmide da utilizzare nell'esperimento di esposizione, come riportato di seguito.

Il DNA totale del di *E. coli* è stato estratto utilizzando un kit commerciale QIAprep Spin Miniprep (Qiagen, Hilden, Germania) seguendo le istruzioni del produttore. Questo al fine di ottenere una concentrazione iniziale di plasmide di 2.50×10^7 copie di gfp/µL.

Il DNA plasmidico è stato quantificato mediante qPCR seguendo il metodo di Sivalingam e colleghi (2024), utilizzando un RT thermocycler CFX Connect (Biorad, Hercules, USA). I seguenti primer sono stati utilizzati in fase di amplificazione: GFP_RT_f CACTGGAGTTGCCCAATT e GFP_RT_r GCCATGGAACAGGTA. La mix, con un volume di 20 µL era così composta: 2 µL di DNA, 0,5 µM di ogni primer, 10 µL di SSoAdvanced universal SYBR Greensupermix (Biorad, Hercules, USA) e il resto con MilliQ water (Merk Millipore, Germany) per raggiungere il volume finale. Infine, è stato utilizzato il seguente profilo termico per il processo di amplificazione: 95 °C per 30 s, 35 cicli di 95 °C per 10 s, 60 °C per 30 s e 72 °C for 10 s, seguito da una curva di melting con un incremento da 60°C a 95°C di 0,5°C/5s per valutare la purezza degli amplificati.

Per la prova sperimentale di esposizione sono stati allestiti becher di vetro contenenti 250 mL di acqua di mare aerata mediante appositi diffusori, al fine di garantire la sopravvivenza dei mitili per tutta la durata dell'esperimento. Nello specifico, sono state predisposte quattro condizioni sperimentali distinte, ciascuna con quattro repliche (A, B, C, D):

Condizione 1: 3 mitili per becher, streptomicina (10 mg/L) e plasmide ($3,63 \times 10^7$ copie/µL);

Condizione 2: streptomicina (10 mg/L) e plasmide ($3,63 \times 10^7$ copie/µL), senza mitili;

Condizione 3: 3 mitili per becher e streptomicina (10 mg/L);

Condizione 4 (controllo): 3 mitili per becher in sola acqua di mare.

Dopo 48 ore dall'inizio dell'esperimento, i mitili sono stati prelevati e l'acqua residua di ciascuna replica è stata filtrata su membrane da 0,22 µm utilizzando un sistema a vuoto. I mitili sono stati sezionati, separando i seguenti distretti anatomici: mantello, epatopancreas, liquido intravalvare e branchie. Da ciascun distretto è stato estratto il DNA totale mediante il kit QIAamp DNA Microbiome (Qiagen, Hilden, Germania), ottenendo complessivamente 48 campioni corrispondenti alle condizioni 1, 3 e 4.

Per quanto riguarda i filtri di acqua, anch'essi sono stati processati per l'estrazione del DNA totale utilizzando il kit DNeasy PowerWater (Qiagen, Hilden, Germania), per un totale di 54 campioni, corrispondenti alle quattro repliche delle quattro condizioni sperimentali.

Gli estratti di DNA provenienti sia dai mitili che dai filtri sono stati analizzati mediante qPCR, utilizzando le stesse condizioni e reagenti descritti in precedenza.

Risultati e discussione

Studio di campo

Le analisi di alfa diversità hanno evidenziato una quantità significativamente inferiore di ARGs nei mitili rispetto alle matrici ambientali, con valori minimi di ricchezza osservata, diversità (indice di Shannon) ed equità (indice di Pielou). Al contrario, i campioni di acqua marina e sedimenti, sia in frazione eDNA che iDNA, presentavano una maggiore complessità del resistoma. È emerso inoltre un gradiente, con il resistoma della colonna d'acqua leggermente più ricco rispetto a quello del sedimento, e la frazione eDNA leggermente più abbondante rispetto alla frazione iDNA. Tuttavia, tra le matrici ambientali, l'unico confronto statisticamente significativo ha riguardato la diversità tra la frazione eDNA della colonna d'acqua e le due frazioni (eDNA e iDNA) del sedimento.

L'analisi di alfa diversità del patobioma ha mostrato una maggiore ricchezza complessiva di generi nella colonna d'acqua e nel sedimento. Tuttavia, in questo caso, gli indici di diversità ed equità risultavano significativamente più elevati nei mitili, suggerendo una comunità patogena più bilanciata.

La ARGs ha evidenziato differenze significative nella struttura dei resistomi. I mitili si distinguevano da tutte le altre matrici. Analogamente, anche il resistoma presentava strutture significativamente diverse tra le varie matrici, comunità patogene specifiche per ciascun contesto. L'analisi ha mostrato differenze significative esclusivamente nei confronti tra mitili e matrici ambientali. Tra gli ARGs più rappresentativi figurano *mexM* (resistenza agli amfenicoli), *leuO* (resistenza a nucleosidi e disinfettanti) ed *emrB* (resistenza ai fluorochinoloni), tutti più abbondanti nella frazione eDNA della colonna d'acqua rispetto ai mitili. Anche la frazione eDNA della colonna d'acqua risultava la più ricca per questi marker rispetto alle altre matrici, sebbene senza significatività statistica, con l'eccezione di *ermB*, che risultava significativamente più abbondante anche nella frazione iDNA del sedimento rispetto ai mitili.

AAC(6')-bl-cr6 (resistenza ad aminoglicosidi e fluorochinoloni) era più rappresentato nei mitili rispetto a tutte le matrici, con differenza significativa rispetto alla frazione eDNA dell'acqua marina. Questo gene era abbondante anche nel sedimento (in particolare nella frazione eDNA), rispetto al quale i mitili mostravano scarti quantitativi più ridotti. Un pattern simile è stato osservato per *acrB* (resistenza multipla), significativamente più abbondante nei mitili rispetto alle due frazioni della colonna d'acqua e anch'esso ben rappresentato nel sedimento.

La resistenza agli aminoglicosidi mostrava differenze significative solo rispetto alla frazione iDNA della colonna d'acqua e alla frazione eDNA del sedimento, con massima abbondanza nella frazione eDNA della colonna d'acqua, che risultava anche la più vicina ai livelli riscontrati nei mitili. In tutti i casi, le frazioni ambientali più ricche di specifici geni possono essere considerate potenziali serbatoi e fonti di accumulo per i mitili.

Per quanto riguarda il patobioma, diversi generi patogeni mostravano differenze significative tra le matrici. In generale, i confronti tra colonna d'acqua e sedimento evidenziavano una maggiore ricchezza patogena in quest'ultimo. I confronti significativi tra mitili e ambiente erano concordi in entrambe le matrici, con la maggior parte dei confronti con l'acqua che indicavano un arricchimento di patogeni nei mitili, mentre i confronti con il sedimento mostravano un trend opposto. Ciò suggerisce un possibile ruolo del sedimento come serbatoio di patogeni, i quali, una volta risospesi, possono essere filtrati e accumulati dai mitili.

In sintesi, *Mytilus galloprovincialis* presenta un resistoma povero ma distinto rispetto a quello delle matrici ambientali, sia per composizione che per abbondanza. I risultati suggeriscono che i mitili non riflettano semplicemente il resistoma ambientale, ma possono accumulare selettivamente specifici ARGs, con origini potenzialmente riconducibili a più matrici e frazioni di DNA. Tale accumulo sembra mediato dal microbiota associato e dai microrganismi filtrati dall'ambiente, inclusi i patogeni. Nel complesso, i dati supportano il ruolo dei mitili come possibili vettori alimentari nella diffusione di ARGs e patogeni, con rilevanti implicazioni per la salute pubblica.

Studio di esposizione

La concentrazione di plasmide iniziale è stata verificata mediante qPCR, risultando pari a $2,50 \times 10^7$ copie/ μl mentre la concentrazione rilevata all'interno delle vasche è stata di $3,81 \times 10^3$ copie/ μl .

La presenza del plasmide nei mitili è stata riscontrata in tutte le repliche (A, B, C, D) della condizione 1 ad eccezione dell'epatopancreas della replica B. Al contrario, le condizioni 3 e 4 sono risultate negative alla presenza del plasmide. I filtri di acqua marina delle condizioni 1 e 2 hanno dato esito positivo alla qPCR, mentre nelle condizioni 3 e 4 il plasmide non è stato rilevato.

Dall'analisi delle concentrazioni di plasmide nei diversi distretti anatomici dei mitili è emerso che la maggiore abbondanza si osserva nelle branchie, seguiti da epatopancreas, liquido intravalvare e mantello. Questo risultato riflette il ruolo delle branchie come primo distretto anatomico a contatto diretto con il mezzo esterno,

in funzione di trofismo e respirazione. La struttura lamellare delle branchie, con un'ampia superficie di assorbimento, potrebbe facilitare il trasferimento degli ARGs nei molluschi bivalvi.

I risultati confermano inoltre che le condizioni sperimentali in cui il plasmide era presente nell'acqua con i mitili riflettevano la sua rilevabilità tramite qPCR, mentre nelle condizioni in cui il plasmide non era stato aggiunto non è stato rilevato. Futuri studi potrebbero approfondire l'impatto di un eventuale trasferimento del plasmide ARGs-portatore sulla comunità microbica dei mitili e dell'acqua di mare, anche in presenza simultanea di streptomicina, antibiotico al quale il plasmide conferisce resistenza.

Nonostante ciò, i dati confermano che i mitili possono fungere da serbatoio per ARGs e che questi geni possono essere facilmente acquisiti dall'ambiente esterno, anche grazie all'elevata stabilità del DNA extracellulare.

Questo studio fornisce, per la prima volta, evidenza sperimentale del trasferimento di geni di resistenza agli antibiotici (ARGs) dall'ambiente marino a una matrice alimentare edibile (*Mytilus galloprovincialis*) a partire da DNA extracellulare (eDNA) liberamente presente nella colonna d'acqua. I risultati dimostrano che l'eDNA può agire come un veicolo concreto di ARGs, trasferendoli al microbiota dei mitili, con una distribuzione preferenziale in specifici distretti anatomici come le branchie, principali interfacce con l'ambiente esterno.

Questi dati hanno importanti implicazioni per la sicurezza alimentare, in quanto confermano che i molluschi filtratori possono accumulare ARGs direttamente dall'ambiente marino, diventando potenziali veicoli di resistenza agli antibiotici per il consumo umano. Lo studio evidenzia inoltre l'importanza di considerare non solo i microrganismi intracellulari, ma anche il DNA extracellulare come fonte attiva di trasferimento genico, ampliando la nostra comprensione dei meccanismi di diffusione della resistenza in ambienti naturali.

A livello di salute pubblica, i risultati suggeriscono che il monitoraggio dei livelli di ARGs nell'ambiente acquatico e la valutazione della loro capacità di trasferimento agli organismi filtratori edibili dovrebbero essere considerate strategie fondamentali per mitigare il rischio di diffusione di resistenze lungo la catena alimentare. Nel complesso, lo studio apre nuove prospettive per la gestione del rischio legato ai contaminanti genetici emergenti e per lo sviluppo di linee guida finalizzate a garantire la sicurezza dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura, riconoscendo il ruolo dei mitili sia come sentinelle ambientali sia come potenziali vettori di ARGs.

Bibliografia

- [1] Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A. R., Wlodarski, M. A., ... & McArthur, A. G. (2023). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. Nucleic acids research, 51(D1), D690-D699.
- [2] Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics, 30(15), 2114-2120.
- [3] Chen, L., Reeve, J., Zhang, L., Huang, S., Wang, X., & Chen, J. (2018). GMPR: A robust normalization method for zero-inflated count data with application to microbiome sequencing data. PeerJ, 6, e4600.
- [4] Hatosy, S. M., & Martiny, A. C. (2015). The ocean as a global reservoir of antibiotic resistance genes. Applied and environmental microbiology, 81(21), 7593-7599.
- [5] Lahti, L. & Shetty, S. (2017). Tools for microbiome analysis in R. Available at: <http://microbiome.github.com/microbiome>.
- [6] Lin, D., & Peddada, S. D. (2020). Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. Nature Communications, 11(1), 3514.
- [7] Martinez A., P. (2020). pairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonis. R package version 0.4.
- [8] McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. PloS one, 8(4), e61217.
- [9] Sabatino, R., Di Cesare, A., Dzhembekova, N., Fontaneto, D., Eckert, E. M., Corno, G., Moncheva, S., Bertoni, R. & Callieri, C. (2020). Spatial distribution of antibiotic and heavy metal resistance genes in the Black Sea. Marine Pollution Bulletin, 160, 111635.
- [10] Sivalingam, P., Sabatino, R., Sbaffi, T., Corno, G., Fontaneto, D., Borgomaneiro, G., Rogora, M., Crotti, E., Mapelli, F., Borin, S., Pilar, A., L., Eckert, E., M. & Di Cesare, A. (2024). Anthropogenic pollution may enhance natural transformation in water, favouring the spread of antibiotic resistance genes. Journal of Hazardous Materials, 475, 134885.
- [11] Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. Genome biology, 20(1), 257.
- [12] Zhou, S., Zhu, Y., Yan, Y., Wang, W., & Wang, Y. (2019). Deciphering extracellular antibiotic resistance genes (eARGs) in activated sludge by metagenome. Water research, 161, 610-620.

L'eparina preserva la vitalità, mantiene inalterate le glicoproteine di membrana e preserva l'attività fagocitaria degli emotici di mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*)

T. De Iorio¹, C. Profico², F. Capoccioni¹, G. Di Francesco², F. Di Giacinto², A. Martini¹, M. Martinoli¹, R. Napolitano¹, N. Tonachella¹, D. Pulcini¹

¹⁾Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (CREA) – Centro di ricerca in Zootecnia e Acquacoltura – Monterotondo (RM)

²⁾Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale, Teramo (TE)

Keywords: *Mytilus galloprovincialis*, benessere animale, funzionalità cellulare, emolinfa, emotici

Introduzione

L'approccio One Health ci pone sempre più di fronte alla necessità di valutare il benessere degli animali in allevamento, anche al fine di garantire una maggiore resilienza delle produzioni alle sfide sanitarie poste dal cambiamento climatico. Tuttavia, valutare il benessere dei molluschi bivalvi in acquacoltura non è una pratica comune, dato il dibattito aperto sul loro essere o meno animali senzienti [1].

Negli ultimi anni, sono state sviluppate diverse strategie per valutare *in vitro* il benessere degli animali allevati, tra queste molte sono focalizzate sullo studio delle cellule immunitarie, che forniscono una panoramica della capacità dell'animale di contrastare infezioni da parte di microrganismi esogeni. In questo contesto, l'isolamento delle cellule immunitarie dall'individuo gioca un ruolo chiave nello studio della funzionalità cellulare. Il prelievo di emolinfa nel mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*) viene in genere effettuato precaricando una siringa di soluzione antiaggregante, la Marine Alsever Solution (MAS), contenente due tipi di antiaggreganti, l'EDTA e il sodio citrato [2]. Recentemente, alcuni studi hanno utilizzato acqua marina filtrata (FSW) per analisi funzionali su emotici di mitilo [3,4].

Sono pochi gli studi che analizzano l'influenza dell'anticoagulante usato nel prelievo sulla funzionalità degli emotici, per questo motivo non esistono linee guida universali sull'antiaggregante di elezione in base all'applicazione. È stato dimostrato che il prelievo in MAS risulta diminuire l'attività enzimatica e le funzioni emotitarie, mentre l'eparina preserva al meglio l'attività enzimatica nell'emolinfa [2].

Pertanto, questo studio ha lo scopo di contribuire all'identificazione del miglior antiaggregante da utilizzare per preservare al meglio la vitalità e l'attività fagocitaria di emotici di mitilo mediterraneo.

Summary

Farmed animal welfare is becoming a socially relevant issue. However, assessing the welfare of bivalves in aquaculture is not a common practice. There is still considerable uncertainty regarding whether bivalves are sentient and whether welfare is a relevant issue in their production [1].

During the last years, several strategies have been developed to assess the welfare of farmed animals *in vitro*, mainly focused on the study of immune cells, which provide insight into the animal's ability to counteract infections by exogenous microorganisms. In this context, the isolation of immune cells plays a key role in studying the *in vitro* cell function. Hemolymph collection from Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) is usually performed by preloading a syringe with Marine Alsever Solution (MAS), a solution containing two types of antiaggregating agents: EDTA and sodium citrate [2]. However, some recent studies used filtered seawater (FSW) for functional analyses on mussel hemocytes [3,4].

Few studies analysed the influence of the anticoagulant used in haemolymph collection on haemocyte function. Indeed, there are no universal guidelines for the choice of the right antiaggregating agent based on the application. However, it has been shown that MAS collection decreases enzymatic activity and some haemocyte function, while heparin best preserves enzymatic activity in the haemolymph [2]. Therefore, this study aims to evaluate the best antiaggregating agent to promote the viability and phagocytic activity of Mediterranean mussel haemocytes.

Materiali e metodi

Per questo studio sono stati usati 140 individui acquistati vivi (taglia media 53.4 ± 8.5 mm), mantenuti in acquario dotato di un sistema a ricircolo per almeno 3 giorni prima del prelievo (temperatura media: 24°C). L'emolinfa è stata campionata dal muscolo adduttore posteriore di ciascun individuo. Gli animali sono stati divisi randomicamente in 4 gruppi, in base all'anti-aggregante usato per il prelievo: 1) Modified Leibovitz' 15 medium (ML15), 2) Eparina+ML15, 3) MAS e 4) FSW. Gli emotici sono stati contati con emoticitometro Neubauer-improved per ottenere la conta assoluta di emotici (THC), successivamente sono stati diluiti con il mezzo usato per il prelievo ad una concentrazione di $2,5 \times 10^5$ cells/mL. Per valutare la vitalità degli emotici sono stati usati i saggi Crystal Violet (CV) e Neutral Red Uptake (NRU) in piastra sterile da 96 pozetti. L'assorbanza a 540nm è stata rilevata attraverso il MultiskanFC (Thermo Fisher), i dati sono stati analizzati con il software SkanIT v.7.0 (Thermo Fisher). Il mantenimento delle glicoproteine di membrana, necessarie per le principali funzioni immunitarie, è stato stimato con la Wheat Germ Agglutinin (WGA) coniugata con Alexa

Fluor 594, mentre l'attività fagocitaria è stata rilevata mediante challenge *in vitro* con *E.coli-pHrodoTM* verde, i nuclei sono stati marcati con 4',6-diamidino-2-fenilindolo (DAPI). I campioni sono stati analizzati mediante microscopio a fluorescenza (Zeiss), dotato di camera digitale Fi3 (Nikon). Le immagini sono state acquisite ed analizzate con il software NIS (Nikon).

Le differenze tra i valori medi di THC sono state testate tramite ANOVA. Data la distribuzione non normale dei dati di NRU e WGA, le differenze tra gruppi sono state analizzate mediante test di Mann-Whitney. L'influenza dei fattori anti-aggregante ed il tempo di esposizione sul CV nei gruppi sperimentali sono stati analizzati mediante PERMANOVA a due vie. I test statistici sono stati effettuati con il software Past v. 4.14 (<https://www.nhm.uio.no/past/>, RRID: SCR_019129), considerando significativi valori di $p \leq 0.05$.

Risultati e discussione

La taglia degli individui non è risultata significativamente diversa tra i gruppi, per questo motivo tutte le differenze rilevate nei parametri analizzati sono da considerarsi ascrivibili al solo anti-aggregante. La THC è risultata significativamente maggiore nel gruppo MAS rispetto a tutti gli altri gruppi sperimentali, suggerendo che sia l'anti-aggregante di elezione per la conta emocitaria.

Il saggio CV non ha rilevato un'influenza del tempo sulla vitalità degli emociti, mentre il NRU ha individuato una maggiore vitalità in emociti prelevati in Eparina+ML15, rispetto a quelli dei gruppi MAS e FSW, indicando una maggiore attività metabolica nelle cellule prelevate con Eparina+ML15. Il saggio WGA fluorescente ha rilevato un'intensità maggiore in emociti del gruppo Eparina+ML15 rispetto a MAS e FSW, suggerendo un miglior mantenimento delle glicoproteine di membrana, fondamentali per le attività funzionali cellulari, tra cui la fagocitosi [5,6]. In linea con questi dati, i risultati del challenge *in vitro* con batteri inattivati, ingegnerizzati per emettere fluorescenza solo a seguito di fagocitosi, ha rilevato una maggior percentuale di emociti fagocitanti (maggiore attività fagocitaria) ed una maggior emissione di fluorescenza (direttamente proporzionale al numero di batteri fagocitati – maggiore capacità fagocitaria) nel gruppo di prelievo Eparina+ML15, rispetto a ML15, MAS e FSW. Questi dati indicano che il prelievo con eparina preserva l'attività immunitaria innata di emociti del mitilo mediterraneo e sono in accordo con risultati pubblicati in precedenza che dimostrano che l'eparina promuove l'attività enzimatica e la funzionalità di emociti della vongola a sangue rosso *Scapharca broughtonii* [2].

Nel complesso, i risultati ottenuti suggeriscono che l'antiaggregante di elezione per la conta totale di emociti sia la MAS, mentre per gli studi funzionali su emociti è consigliato usare Eparina addizionata con ML15, perché preserva al meglio la vitalità degli emociti, le glicoproteine di membrana, l'attività e la capacità fagocitaria.

Bibliografia

- [1] Schotanus, J., van de Vis, H., & Steins, N. (2022). *Welfare of bivalves in aquaculture? A first literature scan and plan for a comprehensive search.* (Wageningen Marine Research report; No. C057/22). Wageningen Marine Research. <https://doi.org/10.18174/577988>
- [2] Zhou, L., Yang, A., Liu, Z., Wu, B., Sun, X., Lv, Z., Tian, J., Du, M. (2017). *Changes in hemolymph characteristics of ark shell Scapharaca broughtonii dealt with Vibrio anguillarum challenge in vivo and various of anticoagulants in vitro.* Fish & Shellfish Immunology, 61, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.031>
- [3] Park Y, Abihssira-García IS, Thalmann S, Wiegertjes GF, Barreda DR, Olsvik PA, Kiron V. (2020) Imaging Flow Cytometry Protocols for Examining Phagocytosis of Microplastics and Bioparticles by Immune Cells of Aquatic Animals. Front Immunol.18:11:203. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00203>
- [4] Udayan, G., Giordano, M.E., Pagliara, P., Lionetto, M. G. *Motility of *Mytilus galloprovincialis* hemocytes: Sensitivity to paracetamol in vitro exposure,* (2023). Aquatic Toxicology. 265, <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106779>
- [5] Beukers, H., Deierkauf, F.A., Blom, C.P., Deierkauf, M., Scheffers, C.C., Riemersma, L.C. (1980). *Latex phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes: Role of sialic acid groups.*, 33(1), 91–100. [http://doi.org/10.1016/0009-2797\(80\)90046-0](http://doi.org/10.1016/0009-2797(80)90046-0)
- [6] Yang, S., Liu, H., Ni, H., Jiang, L., Yang, M., Chen, Q., Zhou, J., Yu, F. (2023). *O-GlcNAcylation regulates phagocytosis by promoting Ezrin localization at the cell cortex.* Journal of Genetics and Genomics, 33(7), 486-496, <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.02.003>.

High Performance Computing (HPC) e Artificial Intelligence (AI) per la sicurezza alimentare nella mitilicoltura

D. Di Luccio¹, F. Barchiesi², E. Calandri², F. Leoni², E. Rocchegiani², S. Bacchiocchi², G. Colarusso³, M. Della Rotonda⁴, G. Smaldone⁴, M. Esposito⁴, R. Montella¹

¹⁾ Università degli Studi di Napoli “Parthenope”, Dipartimento di Scienze e Tecnologie, Napoli (NA)

²⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Umbria e delle Marche “Togo Rosati” - CEREM, Ancona (AN)

³⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno di Portici, Portici (NA)

⁴⁾ Regione Campania - UOS Prevenzione e Sanità Pubblica Veterinaria, Napoli (NA)

Keywords: mitilicoltura, modellistica ambientale, sicurezza alimentare, intelligenza artificiale, HPC.

Introduzione

I molluschi bivalvi vivi (MBV), secondo la normativa nazionale e comunitaria (Regolamento (UE) 2017/625; Regolamento (UE) 2019/624; Regolamento (UE) 2019/627; Linee guida molluschi – Intesa Stato-Regioni 8 luglio 2010), possono essere immessi sul mercato esclusivamente se allevati e raccolti in aree di produzione classificate dalle Autorità Competenti (AC) e se conformi alle prescrizioni sanitarie riportate nell’allegato III, sezione VII, capitolo V del Regolamento (CE) n. 853/2004, nonché ai tenori massimi di alcuni contaminanti stabiliti dal Regolamento (UE) 2023/915. La conoscenza dello stato sanitario delle acque destinate alla molluschicoltura costituisce, pertanto, uno strumento essenziale di prevenzione a tutela della salute del consumatore e consente di gestire la commercializzazione dei prodotti in conformità alla normativa vigente. La normativa prevede che le aree di produzione siano sottoposte a monitoraggio affinché i requisiti microbiologici, chimici e biotossicologici rientrino nei limiti stabiliti dalla stessa, al fine di garantire la sicurezza alimentare. Al fine di supportare tale attività di monitoraggio delle aree di produzione, che richiede un notevole impiego di risorse in termini economici e logistici, e di fornire indicazioni sull’evoluzione spazio-temporale degli eventi di contaminazione, è stato sviluppato MytilEX (*Extended Modelling Mytilus Farming System with High Performance Computing and Artificial Intelligence* – <https://meteo.uniparthenope.it/mytilex>), un sistema integrato basato su modelli numerici ad alte prestazioni (HPC) e tecniche di Intelligenza Artificiale (AI) in grado di prevedere, a breve e medio termine, l’andamento dei livelli di *E. coli* in prossimità delle aree di raccolta dei MBV in funzione delle previsioni meteorologiche, dell’idrodinamica costiera, delle fonti note di emissione in mare e delle analisi microbiologiche periodicamente effettuate dalle Istituzioni preposte [1]. Attualmente, MytilEX è utilizzato come strumento di supporto alla gestione del settore della mitilicoltura in Campania (IT) e, grazie alla sua modularità ed espandibilità, è in fase di sperimentazione per altre regioni costiere (es. Regione Marche) in cui il settore della mitilicoltura ha un’importanza strategica per l’economia locale.

Summary

Monitoring the impacts of pollutants on marine environments is essential for sustaining coastal activities, such as aquaculture. Mussel and fish farms require constant surveillance to ensure food safety and prevent health risks. However, continuous microbiological testing is both costly and logically challenging. We present MytilEX (*Extended Modeling mytilus farming System with High Performance Computing and Artificial Intelligence* - <https://meteo.uniparthenope.it/mytilex>), an integrated system that combines in-situ monitoring with high-performance computing (HPC) and artificial intelligence (AI). By coupling coastal hydrodynamics with pollution sources, MytilEX supports the competent authorities in order to predict the microbiological quality of live bivalve molluscs in relation to the classified production, through categorized indices, providing a proactive tool for sustainable aquaculture management.

Materiali e Metodi

MytilEX si fonda su una catena modellistica integrata, progettata per garantire previsioni accurate e dettagliate nell’area di interesse, che comprende un modello atmosferico ad alta risoluzione sull’area di interesse (1 Km, *Weather Research and Forecast*, WRF), un modello di dinamica costiera ad altissima risoluzione (135 m, *Regional Ocean Model System*, ROMS), un modello lagrangiano per la simulazione dei fenomeni di trasporto e diffusione di traccianti passivi (*Water quality Community Model Plus Plus*, WaComM++) [2] ed un modulo basato sull’AI (*Artificial Intelligence-based water QUality Model Plus Plus*, AIQUAM++) che integra un insieme di modelli di machine learning (ML) per affrontare il problema della classificazione di serie temporali (TSC) legato alla natura dinamica della contaminazione batterica nei MBV, garantendo un’elevata accuratezza predittiva e la capacità di rilevare sia picchi di contaminazione a breve termine sia tendenze di inquinamento a lungo termine [3]. Le previsioni a grande scala prodotte dal modello *Global Forecasting System* (GFS, <https://www.ncei.noaa.gov/products/weather-climate-models/global-forecast>) per la componente atmosferica e dal modello di circolazione del Mediterraneo (*Copernicus Marine Service*, <https://marine.copernicus.eu>) per il mare, forniscono le condizioni iniziali e al contorno che permettono di mantenere aggiornate e affidabili le previsioni locali, insieme alla localizzazione delle sorgenti di emissione costiere (deflussi fluviali, scarichi urbani

e industriali) e al profilo temporale di sversamento. Per supportare la complessità computazionale richiesta, MytilEX si avvale di un sistema di calcolo ad alte prestazioni denominato BlackJeans (<https://rcf.uniparthenope.it>). Tutti i risultati delle simulazioni sono liberamente accessibili, in formato NETCDF, tramite server OPeNDAP (*Open-source Project for a Network Data Access Protocol*) e API RESTful, con cadenza oraria. Questo approccio garantisce la massima interoperabilità e facilità di utilizzo da parte di ricercatori, enti di controllo ambientale e stakeholders, che possono così integrare le informazioni previsionali di MytilEX nei propri workflow in tempo reale.

Risultati e discussione

Il sistema proposto è stato implementato nella Regione Campania, un'area caratterizzata da una rilevante realtà produttiva legata alla miticoltura, con l'obiettivo di validare le diverse componenti della catena modellistica [1,4,5] e dimostrarne l'efficacia in applicazioni pratiche per questo settore. Il sistema, già operativo per le AC, ha raggiunto, sotto le condizioni sperimentali indicate in [1-4], un tasso di accuratezza prossimo al 90% nella classificazione dei livelli di presenza di *E. coli* nei MBV, consentendo previsioni tempestive e accurate. MytilEX rappresenta un significativo avanzamento nel settore dell'acquacoltura, configurandosi come uno strumento decisionale avanzato per enti locali e operatori del comparto. Il sistema permette l'attivazione tempestiva di interventi di mitigazione in risposta a eventi di contaminazione, fornendo al contempo una piattaforma robusta e flessibile per la gestione operativa e integrata della qualità ambientale negli ecosistemi marini costieri. Al fine di verificare l'esportabilità del sistema ad altri contesti applicativi nazionali, è in corso l'implementazione di un prototipo costituito assemblando, mediante uno schema di calcolo basato su un grafo aciclico unidirezionale eseguito su un'infrastruttura computazionale ad alte prestazioni, le stesse componenti modellistiche utilizzate per la Regione Campania, ma opportunamente parametrizzate per la Costa Adriatica (Regione Marche).

Bibliografia

- [1] De Vita, C. G., Mellone, G., Blas, F. J. G., Ciaramella, A., Barchiesi, F., & Di Luccio, D. (2025, May). The Prediction of Bacteria Contamination in Farmed Mussels at Scale: HPC and AI Join the Forces. In 2025 IEEE 25th International Symposium on Cluster, Cloud and Internet Computing Workshops (CCGridW) (pp. 1-10). IEEE.
- [2] Montella, R., Di Luccio, D., De Vita, C. G., Mellone, G., Lapegna, M., Ortega, G., ... & Giunta, G. (2023, March). A highly scalable high-performance Lagrangian transport and diffusion model for marine pollutants assessment. In 2023 31st Euromicro International Conference on Parallel, Distributed and Network-Based Processing (PDP) (pp. 17-26). IEEE.
- [3] De Vita, C. G., Mellone, G., Di Luccio, D., Kosta, S., Ciaramella, A., & Montella, R. (2022, October). AIQUAM: Artificial Intelligence-based water QUAlity Model. In 2022 IEEE 18th International Conference on e-Science (e-Science) (pp. 401-402). IEEE.
- [4] De Vita, C. G., Mellone, G., Barchiesi, F., Di Luccio, D., Ciaramella, A., & Montella, R. (2022, October). Artificial Intelligence for mussels farm quality assessment and prediction. In 2022 IEEE International Workshop on Metrology for the Sea; Learning to Measure Sea Health Parameters (MetroSea) (pp. 33-38). IEEE.
- [5] Mellone, G., De Vita, C. G., Zambianchi, E., Singh, D. E., Di Luccio, D., & Montella, R. (2022, October). Democratizing the computational environmental marine data science: using the high-performance cloud-native computing for inert transport and diffusion lagrangian modelling. In 2022 IEEE International Workshop on Metrology for the Sea; Learning to Measure Sea Health Parameters (MetroSea) (pp. 267-272). IEEE.

Analisi preliminare per l'identificazione e la localizzazione di biomarcatori dello stato di salute e di risposta allo stress ambientale in ostrica piatta (*Ostrea edulis*)

F. Errani¹, D. Volpatti¹, A. Vetri², N. Scapin², G. Arcangeli², M. Galeotti¹

¹⁾Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine, Udine, Italia

²⁾Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

Keywords: *Ostrea edulis*, Immunoistochimica, IMTA, marker di stress

Introduzione

L'Ostrica piatta è un mollusco bivalve della famiglia Ostreidae, originario dell'Europa. In passato il suo areale di distribuzione era ampio e si estendeva nell'intero bacino del Mediterraneo, Mar Nero e Oceano Atlantico. Tuttavia, diversi fattori, tra cui l'eccessivo sfruttamento della risorsa, il deterioramento degli habitat e l'intensificarsi di episodi di mortalità dovuti a patogeni, ha portato ad un declino delle popolazioni selvatiche e allevate.

Ad oggi, diversi studi sono stati finalizzati al ripristino di questa risorsa, sia per la sua importanza in termini di biodiversità sia per il suo elevato valore economico.¹

Uno degli obiettivi del progetto Interreg Italia – Croazia "MARINET" è quello di verificare la fattibilità dell'allevamento di ostriche piatte in Italia e Croazia, utilizzando varie tecniche di allevamento offshore, tra cui l'acquacoltura multi-trofica integrata (IMTA).

L'IMTA è un sistema di policoltura in cui le sostanze di scarto (residui alimentari, nutrienti) derivanti da un sistema di allevamento (es. allevamento ittico) vengono recuperate e convertite in nuove risorse per un altro processo produttivo (es. allevamento di molluschi bivalvi).² Questa tipologia di allevamento integrato può garantire una maggiore sostenibilità ambientale ed economica del settore acquacoltura.

Lo scopo del presente lavoro è quello di monitorare, tramite indagini immunoistochimiche, lo stato di salute e la risposta allo stress ambientale di esemplari di *Ostrea edulis*, campionati in vari siti IMTA.

Summary

The flat oyster (*Ostrea edulis*), Ostreidae family, is a bivalve mollusk native to Europe. In recent years, the intensification of mortality episodes, due to pathogens, the excessive exploitation of the resource and the habitat deterioration have led to a progressive decline in wild and farmed populations. To date, several studies have been finalized to restore this resource, both for its importance in terms of biodiversity and for its high economic value.

The present investigation, that is part of the MARINET project, represents a preliminary approach to monitor the health status and response to environmental stress of *Ostrea edulis* through immunohistochemistry (IHC). For the implementation of the research, flat oysters were sampled from different IMTA sites and tested by IHC to detect and localize selected biomarkers indicating response to thermal stress (HSP70), oxidative stress (NT, 4-HNE, MDA); response to xenobiotics (CYP1A); inflammation (iNOS, COX-2). Additionally, indicators of apoptosis (Casp-3) and microbial activity (Lyz) were tested.

IHC assays provided positive results for some of the biomarkers analyzed. These findings, although still preliminary and requiring further validation by Western blotting, may serve as a knowledge base for the monitoring of the integrity of wild/farmed flat oyster populations and for improving farming techniques, in order to ensure the animals well-being and to increase productivity.

Materiali e Metodi

Per l'attuazione della ricerca, campioni di ostrica piatta sono stati campionati in diversi siti produttivi di IMTA, collocati sia in Italia che Croazia. All'interno dello stesso sito, le ostriche sono state prelevate da diversi punti (vicino/lontano dalle gabbie galleggianti, a diverse profondità). Inoltre in uno dei siti target, le ostriche sono state campionate in due diverse stagioni (inverno ed estate).

Sezioni trasversali di ciascun individuo sono state fissate in Davidson e processate per l'istologia. Lo studio si è focalizzato sull'individuazione di markers cellulari che indicano: risposta a stress termico come Heat Shock Protein 70 (HSP70); stress ossidativo come Nitrotirosina, 4-Idrossinonenale e Malondialdeide; risposta a xenobiotici come citocromo P450 1 A (CYP1A); infiammazione come inducibile Nitric Oxide Synthase (iNOS) e ciclossigenasi 2 (COX-2). Inoltre, sono stati testati anche indicatori di apoptosi come la Caspasi-3 e di attività antimicrobica come il Lisozima.

Risultati e discussione

Il metodo IHC ha mostrato risultati positivi per alcuni dei biomarcatori testati. In particolare, una immunopositività citoplasmatica era evidente per i markers di risposta a stress termico (HSP70), apoptosi (Caspasi-3), infiammazione (iNOS, COX-2), e di risposta alla presenza di xenobiotici (CYP1A) in alcuni dei tessuti testati (epatopancreas, apparato digerente, gonadi, branchie).

Questi risultati, ancora preliminari, e che richiederanno una validazione con tecnica di western blotting, potranno servire come base conoscitiva per il monitoraggio dello stato di integrità delle popolazioni selvatiche/allevate e per il miglioramento delle tecniche di allevamento dell'ostrica piatta, al fine di garantirne il benessere e aumentare la produttività.

Bibliografia

- [1] Pogoda B. (2019). Current status of European oyster decline and restoration in Germany. *Humanities*, 8(1).
- [2] Chopin T., Robinson S.M.C., Troell M., Neori A., Buschmann A.H., Fang J. (2008) Multitrophic integration for sustainable marine aquaculture. *Encyclopedia of Ecology*, 2463-2475.

Tassonomia integrativa e coinvolgimento degli allevatori per tracciare i vermi parassiti non-nativi *Polydora* nell'ostricoltura dell'Adriatico

E. Fossi^{1,2}, F. Costantini^{3,4,5}, M.A. Colangelo^{3,4,5}, S. Dessim⁴, G. Prioli², M. Pećarević⁶, K. Bonačić⁶, B. Mavrič⁷, V. Pitacco⁷, B. Mikac^{1,4}

¹⁾ Department of Cultural Heritage, University of Bologna, Ravenna, Italy

²⁾ M.A.R.E Soc. coop. a.r.l, Cattolica, Italy

³⁾ Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, University of Bologna, Ravenna, Italy

⁴⁾ Interdepartmental Center for Industrial Research Renewable Sources, Environment, Sea and Energy (CIRI-FRAME), University of Bologna, Ravenna, Italy

⁵⁾ National Interuniversity Consortium for Marine Sciences (CoNISMa), Rome, Italy

⁶⁾ Department of Applied Ecology, University of Dubrovnik, Dubrovnik, Croatia

⁷⁾ Marine Biology Station Piran, National Institute of Biology, Piran, Slovenia

Keywords: Acquacoltura, *Magallana gigas*, *Ostrea edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, Analisi molecolari, Local Ecological Knowledge, specie aliene, Vie di introduzione.

Introduzione

L'allevamento dei molluschi rappresenta uno dei principali vettori di introduzione di specie non native (NNS) nel Mediterraneo [1]. Questo percorso è principalmente legato al trasferimento di molluschi giovanili, utilizzati negli impianti per l'avvio di nuovi cicli produttivi, e di adulti per la re-immersione, tra diversi allevamenti. Tali movimenti, che possono avvenire sia all'interno che oltre i confini nazionali e dei bacini marini, favoriscono la traslocazione involontaria di organismi associati, parassiti e patogeni assieme agli stock allevati [2]. Tra questi, i policheti del genere *Polydora* sono noti parassiti che vivono perforando i gusci di ostriche e che stanno invadendo gli impianti di molluschicoltura a livello globale, causando gravi danni a questa industria. A causa della presenza di specie criptiche, la corretta identificazione delle specie di *Polydora* richiede spesso la conferma tramite analisi molecolari. Parallelamente, la conoscenza ecologica locale degli allevatori (Local Ecological Knowledge, LEK) può fornire agli scienziati informazioni preziose sull'insorgenza dei parassiti e delle specie potenzialmente dannose negli allevamenti e sulle pratiche operative che possono favorirne la diffusione [3]. Presentiamo qui i risultati di un'ampia ricerca transdisciplinare sui polydorini in allevamenti di ostriche lungo le coste italiane, croate e slovene dell'Adriatico, condotta dall'Università di Bologna in collaborazione con la cooperativa M.A.R.E. e partner croati e sloveni. L'integrazione di tassonomia morfologica e molecolare e il coinvolgimento diretto degli allevatori di cozze e ostriche si sono rivelati fondamentali per rilevare nuove specie non native, definirne la distribuzione nell'Adriatico e formulare ipotesi sulle vie di introduzione e diffusione.

Summary

Molluscs' farming is one of the main vectors for the introduction of non-native species (NNS) in the Mediterranean. We herein present the results of extensive transdisciplinary research on non-native species and polydorid polychaete pests in mollusks farms in the Adriatic Sea. Oysters were samples from farms along Italian, Slovenian and Croatian coasts, while mussels were sampled from few Italian Nord Adriatic farms. Moreover, survey was done with Italian mussels and oysters' farmers to get insights in their Local Ecological Knowledge (LEK) regarding non-native and pest species in aquaculture and mollusks' translocation activities that might contribute to their expansion. By combining morphological and molecular analyses, we revealed for the first time new non-native *Polydora* pests in the Mediterranean, *Polydora websteri* and *P. caeca*, boring in mussels and oysters' shells. Composition of polydorids was different between Italian, Slovenian and Croatian coasts, which may be caused by different farming techniques, translocation practices or farmed species along the three coasts. Most of the molluscs' farmers knew what non-native species are but only few of them were able to precisely indicate a limited number of species. Moreover, they observed increasing abundance of *Polydora* in their farms. Farmers reported translocations of juvenile and adult mussels and oysters between Italy, Greece, France and Spain, both within and outside the Mediterranean basin. Our results confirm that integration of morphological and molecular taxonomy and involvement of mussels and oysters' farmers are crucial to detect new non-native species, reveal their distribution in the basin and draw hypothesis on their introduction and spreading pathways. Training programs should be implemented to improve farmers' ability to recognize non-native species and contribute to their early detection. Furthermore, cross-border collaboration between scientists, policymakers, and farmers is crucial to reveal non-native and pest species and limit their spread through aquaculture in the Mediterranean. Our ongoing and future research activities are going in this direction.

Materiali e metodi

Le ostriche giapponesi (*Magallana gigas*) ed europee (*Ostrea edulis*) sono state campionate tra il 2020 e il 2024 in 10 allevamenti italiani, 5 croati e 1 sloveno lungo le coste dell'Adriatico. Inoltre, le cozze mediterranee (*Mytilus galloprovincialis*) sono state raccolte in 3 allevamenti italiani dell'alto Adriatico. I policheti perforanti sono stati estratti dai gusci e analizzati morfologicamente al microscopio. Le analisi molecolari per la conferma dell'identità delle specie sono state condotte seguendo il protocollo descritto in [4].

Nel 2024 è stata inoltre realizzata un'indagine con allevatori di 24 impianti di mitilicoltura e 11 di ostricoltura distribuiti lungo tutta la costa adriatica italiana. Un questionario semi-strutturato con domande sia chiuse che aperte è stato sottoposto agli allevatori tramite interviste telefoniche. Gli argomenti includevano: informazioni generali sugli allevamenti (specie allevate, tipologia di impianto, anno di fondazione dell'impresa), pratiche di trasferimento degli stock di mitili e ostriche, osservazioni degli allevatori su cambiamenti nella fauna associata, presenza di specie non native e specie parassite, impatti percepiti di tali organismi sugli allevamenti ed eventuali misure di mitigazione adottate.

Risultati e discussione

Abbiamo documentato per la prima volta due nuove specie non native per il Mediterraneo, negli allevamenti italiani di mitili e ostriche: *Polydora caeca* Webster, 1879 (originariamente descritta nell'Atlantico nord-occidentale e mai segnalata prima in acque europee) e *P. websteri* Hartman in Loosanoff e Engle, 1943 (probabilmente originaria del Pacifico asiatico e già riportata in Europa) [4]. Queste due specie si stanno diffondendo a livello globale, principalmente attraverso il trasporto di molluschi infestati, causando gravi danni all'acquacoltura [5][6][7]. Il loro rinvenimento nel Mediterraneo conferma l'espansione del loro areale di distribuzione. Sono attualmente in corso analisi di genomica di popolazione per chiarire le connessioni tra le popolazioni adriatiche e creare le basi per ulteriori studi sui percorsi di introduzione.

La composizione dei polydorini variava tra gli allevamenti di ostriche lungo le coste adriatiche: in Italia abbiamo rilevato *P. caeca*, *P. websteri*, *Polydora hoplura* Claparède, 1868 e *Polydora cornuta* Bosch, 1802; in Croazia solo *P. hoplura* e *Dipolydora giardi* (Mesnil, 1893); in Slovenia *P. hoplura*, *P. caeca* e *D. giardi*. Tutte queste specie sono parassite non indigene e, tranne *P. cornuta*, perforatori dei gusci di ostriche. Mentre *P. websteri* è stata trovata in quasi tutti gli allevamenti italiani con densità elevate, non è stata rilevata in Croazia e Slovenia. Le ragioni di tale differenza potrebbero risiedere in diverse pratiche di allevamento e trasferimento degli stock, nonché nelle diverse specie allevate (in Italia *M. gigas*, in Croazia *O. edulis*). Queste ipotesi saranno approfondite nelle ricerche future.

La maggior parte degli allevatori intervistati sapeva cosa sono le specie non native e ha segnalato la loro presenza negli impianti [8]. Tuttavia, solo pochi sono stati in grado di identificare correttamente un numero limitato di specie. Gli allevatori hanno osservato un aumento di vermi piatti (Platyhelminthes), ascidie, cirripedi, idrozoi e *Polydora*, che ritenevano dannosi per i molluschi e in grado di ridurne la commerciabilità. Sono state inoltre riportate pratiche di trasferimento di seme (cioè, esemplari giovanili) e molluschi adulti tra Italia, Grecia, Francia e Spagna, sia all'interno che oltre il bacino mediterraneo. Tali movimenti probabilmente facilitano l'introduzione e la diffusione di specie non native e parassiti, inclusi i nuovi polydorini individuati. I nostri risultati evidenziano come il Local Ecological Knowledge sia uno strumento prezioso per affrontare le problematiche legate alla gestione delle specie non native in acquacoltura.

In conclusione, l'integrazione dei metodi di tassonomia tradizionale e molecolare è fondamentale per la precisa identificazione delle specie non native e dannose negli impianti di acquacoltura. Sarebbe necessario implementare programmi di formazione per migliorare la capacità degli allevatori di riconoscere le specie non native e contribuire alla loro individuazione precoce. Inoltre, la collaborazione transfrontaliera tra scienziati, decisori politici e allevatori è cruciale per contenere la diffusione delle specie non native attraverso le pratiche di acquacoltura nel Mediterraneo. Le nostre attività di ricerca in corso e future sono rivolte in questa direzione.

Bibliografia

- [1] Katsanevakis, S., Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Ben Rais Lasram, F., Zenetos, A., Cardoso, A.A.A.C., 2014. Invading the Mediterranean Sea: biodiversity patterns shaped by human activities. *Front Mar. Sci.* 1, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2014.00032>.
- [2] Di Blasio, L., Chiesa, S., Arcangeli, G., Donadelli, V., Marino, G. (2023). Alien species associated with new introductions and translocations of commercial bivalves in Italian marine waters. *Sustainability*, 15(4), 3536.
- [3] Azzurro, E. (2018). Local Ecological Knowledge: witness of a changing sea. CIESM Workshop Monograph n° 50 [F. Briand, Ed.] CIESM Publisher. Monaco: 39-45.
- [4] Mikac, B., Radashevsky, V. I., Fossi, E., Pankova, V. V., Colangelo, M. A., Prioli, G., Abbiati, M., Costantini, F. (2025). First record of non-native polychaetes *Polydora websteri* and *P. caeca* invading cultured and wild populations of mussels and oysters in the Mediterranean. *Aquaculture Reports*, 42, 102713. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102713>
- [5] Malan, A., Williams, J.D., Abe, H., Sato-Okoshi, W., Matthee, C.A., Simon, C.A., 2020. Clarifying the cryptogenic species *Polydora neocaeca* Williams & Radashevsky, 1999 (Annelida: Spionidae): a shell-boring invasive pest of molluscs from locations worldwide. *Mar. Biodivers.* 50, 51. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01066-8>.
- [6] Radashevsky, V.I., 2025. Review of *Polydora* species from Brazil, with identification key and description of two new species (Annelida: Spionidae). *Ocean Coast. Res.* 72 (Suppl. 1), 1–30. <https://doi.org/10.1590/2675-2824072.23149>.

- [7] Sato-Okoshi, W., Okoshi, K., Abe, H., Dauvin, J.-C., 2023. Polydorid species (Annelida: Spionidae) associated with commercially important oyster shells and their shell infestation along the coast of Normandy, in the English Channel, France. *Aquac. Int.* 31, 195–230. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00971-y>.
- [8] Fossi, E., Costantini, F., Colangelo, M.A., Palazzi Rossi, L., Prioli, G., Mikac, B. (*submitted*) Exploring farmers' knowledge to trace Non-Native Species in aquaculture. *Ocean and Coastal Management*.

Attività di expert elicitation per l’assegnazione di un grado d’importanza (pesatura) alle misure di biosicurezza negli stabilimenti di molluschicoltura

E. Franzago¹, D. Pandolfo², P. Fumelli³, C. Ciccarelli⁴, E. Rossetti⁵, S. Gilebbi⁶, A. Fabris⁷, G. Prioli⁸, G. Arcangeli¹, L. Bille¹, M. Dalla Pozza¹

¹⁾Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

²⁾Azienda ULSS3 Serenissima

³⁾Azienda ULSS5 Polesana

⁴⁾Azienda Sanitaria Territoriale Ascoli Piceno

⁵⁾Consorzio Cooperativo Pescatori del Polesine

⁶⁾O. P. Mitili Veneto Società Cooperativa

⁷⁾Associazione Piscicoltori Italiani

⁸⁾M.A.R.E. Soc. Coop. a r.l.

Keywords: Molluschi, Biosicurezza, Expert Elicitation

Introduzione

Il Regolamento (UE) 2016/429, definito come “Animal Health Law” (AHL), va a sostituire le precedenti norme sulla sanità animale, stabilendo un quadro normativo armonizzato basato sul principio “prevenire è meglio che curare”. Il Regolamento delegato (UE) 2020/691 integra l’AHL, fornendo direttive dettagliate sulle misure di biosicurezza da applicare negli stabilimenti di acquacoltura, inclusa la molluschicoltura, e durante il trasporto di animali acquatici, al fine di prevenire l’introduzione e diffusione di malattie elencate o emergenti. Le misure di biosicurezza in questione includono la separazione funzionale degli spazi, il controllo degli accessi, la sanificazione di attrezzature e veicoli e il monitoraggio della salute degli animali. In risposta al contesto normativo europeo, l’Italia ha emanato il D.lgs. 136/2022, che sottolinea l’importanza della prevenzione attraverso la sorveglianza e l’applicazione della biosicurezza stabilendo anche l’emanazione di specifici Decreti ministeriali applicativi. Per quanto riguarda l’acquacoltura, nell’autunno del 2024 è stato emanato il Decreto Ministeriale 25 settembre 2024 - Requisiti di biosicurezza per stabilimenti d’acquacoltura riconosciuti e di altre tipologie di attività ad essi correlate. Esso riprende in sostanza quanto descritto nel Reg. delegato (UE) 2020/691. A maggio 2025 sono state promulgate le “Linee guida operative in materia di biosicurezza in acquacoltura” che forniscono agli operatori degli stabilimenti, indicazioni pratiche e modelli di raccolta dati per la predisposizione di un piano di biosicurezza. Se da un lato l’operatore è ora in possesso di tutte le indicazioni utili per adempiere agli obblighi normativi, l’Autorità Competente non ha ancora in mano gli strumenti per poter effettuare i controlli ufficiali in materia di biosicurezza all’interno degli stabilimenti.

Il Ministero della Salute ha incaricato il Centro di Referenza Nazionale per lo studio e la diagnosi delle patologie di pesci, molluschi e crostacei (con sede presso l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie) di elaborare delle checklist utili all’Autorità Competente per effettuare i controlli in materia di biosicurezza. Sempre su indicazione del Ministero è stata poi instaurata una collaborazione con l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell’Emilia-Romagna “BRUNO UBERTINI”, sviluppatore e gestore del sistema Classyfarm, per poter inserire le checklist all’interno del sistema informativo. Per fare ciò è stato necessario redigere i documenti in formato cartaceo secondo uno schema poi confacente con l’informatizzazione, nonché assegnare ad ogni misura di biosicurezza un peso d’importanza. Tale pesatura è stata svolta mediate un’attività di expert elicitation e il presente lavoro si pone come obiettivo quello di descriverla per la molluschicoltura.

Summary

Regulation (EU) 2016/429, referred to as the Animal Health Law (AHL), replaces previous animal health legislation, establishing a harmonised regulatory framework based on the principle “prevention is better than cure”. Biosecurity becomes the responsibility of the operator and requires the drawing up of a specific plan for each establishment and the appointment of a person responsible for its implementation. Delegated Regulation (EU) 2020/691 complements the AHL by providing detailed guidelines on biosecurity measures to be taken in aquaculture establishments, including molluscs farming. In response to the European context, Italy issued the Ministerial Decree of 25 September 2024 - Biosecurity Requirements for Recognised Aquaculture Establishments and Other Related Activities that essentially takes over what is stated in Delegated Regulation (EU) 2020/691, already comprehensive on the subject for the different types of aquaculture establishments. In May 2025, the “Operational Guidelines on Biosecurity in Aquaculture” were promulgated, providing establishment operators with practical guidance and data collection templates for the preparation of a biosecurity plan.

The Ministry of Health has instructed the National Reference Centre for the study and diagnosis of fish, molluscs and crustacean diseases to draw up checklists for the Competent Authority to carry out biosecurity checks. Again on the instructions of the Ministry, a collaboration was then established with the Experimental

Zooprophylactic Institute of Lombardy and Emilia-Romagna "BRUNO UBERTINI" in order to include the checklists within the Classyfarm information system. In order to do this, it was necessary to draw up the checklists according to a scheme that was then suitable for computerisation and to assign a weight of importance to each biosecurity measure. This paper aims to describe the expert elicitation activity carried out for this purpose.

Materiali e metodi

Per poter assegnare un "peso", ossia un livello di importanza alle diverse misure di biosicurezza, si è primariamente cercato in bibliografia se ci fossero studi che avessero indagato tale argomento. Non è stato trovato nulla che proponesse una valutazione metodica, quindi si è deciso di effettuare un'attività di expert elicitation standardizzata. Essa è un metodo sistematico per ottenere e combinare giudizi di esperti, particolarmente utile quando i dati sono insufficienti o inesistenti. Sono stati individuati 8 esperti del settore molluschicoltura che appartenessero sia al settore produttivo che alle Aziende Sanitarie, così da raccogliere opinioni diverse a seconda del tipo di background personale di ognuno.

Attraverso un questionario suddiviso in due parti, una per stabilimenti situati in mare/laguna e l'altra per stabilimenti situati a terra, è stato chiesto loro un livello di importanza di ogni singola misura e il livello di certezza con cui fornivano tale risposta. Una volta acquisite tutte le risposte degli esperti, i dati sono stati resi anonimi e convertiti in valori numerici, sia per la valutazione dell'importanza dei fattori ('bassa' = 1, 'medio-bassa' = 3; 'media' = 5; 'medio-alta' = 7; 'alta' = 9), sia per la certezza della risposta ('decisamente incerto' = 1; 'incerto' = 3; 'neutro' = 5; 'sicuro' = 7; 'molto sicuro' = 9). È stata fatta poi una media pesata fra importanza e certezza.

Risultati e discussione

In tabella 1 sono riportati tutti i pesi delle diverse misure di biosicurezza ottenuti dall'expert elicitation. I risultati sono stati tenuti divisi a seconda del tipo di stabilimenti, poiché essi sono talmente differenti che le misure di biosicurezza possono avere un'importanza variabile.

Tabella 1 – Misure di biosicurezza indagate tramite expert elicitation e relativo peso ottenuto dall'analisi.

Misure di biosicurezza indagate	Peso attribuito per tipo di stabilimento	
	MARE/LAGUNA*	TERRA°
Verifica dell'immissione nello stabilimento di partite con mortalità in atto o segni di evidente sofferenza.	8,67	8,77
Disponibilità di un registro della mortalità degli animali (in caso di CDM e CSM, registro di scarto di lavorazione/moria).	7,86	7,74
Adozione di un registro di carico e scarico degli animali.	7,78	7,74
Verifica sistematica durante le operazioni di lavorazione, dello stato di salute degli animali e dell'assenza di mortalità di rilievo.	7,69	7,82
Fare la segnalazione ai servizi veterinari se una partita introdotta in allevamento presenta mortalità in atto o segni di evidente sofferenza.	7,39	7,76
Formazione del personale dello stabilimento	7,35	7,47
Consultazione di un veterinario in caso di mortalità anomala.	7,21	7,04
Disponibilità di adeguate procedure di gestione degli animali morti.	6,68	7,38
Applicazione di procedure previste dal "manuale di buone prassi igieniche per la produzione primaria".	4,73	5,81
Pulizia e lavaggio delle attrezzature di lavorazione dello stabilimento.	4,33	7,30
Disidratazione all'aria e esposizione al sole delle attrezzature post pulizia.	4,24	
Pulizia, lavaggio e manutenzione delle superfici delle attrezzature con cui i molluschi allevati vengono a contatto.	4,04	5,50
Delimitazione e identificazione dei settori di produzione.		6,83
Disporre di proprie attrezzature non condivise con altri stabilimenti, in caso contrario applicazione di misure di pulizia e sanificazione delle attrezzature.		6,70
Separazione dei molluschi di nuova introduzione in aree identificate fino alla verifica del loro stato sanitario.		6,63

Misure di biosicurezza indagate	Peso attribuito per tipo di stabilimento	
	MARE/LAGUNA*	TERRA°
Protocolli di lavaggio dei settori e attrezzature in caso di svuotamento.		6,00
Disponibilità di protocolli di lavaggio e sanificazione dei mezzi.		5,68
Applicazione di procedure previste dal “manuale di buone prassi igieniche per la produzione post-primaria”.		5,44
Adeguata delimitazione dello stabilimento al fine della sua identificazione spaziale.		5,43
Verifica dei registri di sanificazione dei mezzi dei trasportatori.		4,64
Adozione di misure appropriate di controllo dei predatori.		3,71

* es. preingrassi, ingrassi, zone di stabulazione, CSM galleggianti.

° es. schiuditoi, preingrassi, CDM, CSM.

Per entrambe le tipologie di stabilimenti la misura di biosicurezza più importante è risultata essere la verifica dello stato di salute delle nuove partite introdotte in allevamento. Questo a sottolineare come sia fondamentale prevenire l'entrata delle malattie in allevamento, attraverso la consapevolezza dell'allevatore rispetto ai rischi di introduzione delle malattie e la relativa applicazione di adeguate misure di biosicurezza.

A seguire, per gli stabilimenti che si trovano in mare/laguna troviamo l'adozione dei registri di mortalità e di carico/scarico. Questo rispecchia l'importanza di effettuare un monitoraggio costante degli animali e la verifica della tracciabilità, poiché in un ambiente aperto dove non è possibile effettuare un controllo sulle condizioni che circondano l'allevamento, gli unici strumenti disponibili per il contrasto dell'introduzione e diffusione di patogeni sono l'eventuale rimozione di animali che presentano mortalità o anomalie e la verifica delle movimentazioni. Questo è quanto anche emerge dalla bibliografia disponibile che riporta come fattore di rischio più importante l'introduzione in allevamento di animali di dubbia provenienza (1, 2, 3, 4).

Anche le misure che seguono rientrano nel filone della verifica costante dello stato di salute degli animali e della formazione dell'operatore. Invece quelle ritenute meno importanti sono risultate essere quelle inerenti la pulizia e lavaggio delle attrezzature e delle superfici, per cui effettivamente nemmeno in letteratura si trovano informazioni che testimonino il loro ruolo come vettori meccanici di malattia. L'unico esempio di trasmissione meccanica è quella a lunga distanza dovuta alle acque di zavorra delle navi da trasporto e da pesca (4); viene inoltre ipotizzata una diffusione a breve distanza per l'intervento degli uccelli selvatici, ma sono necessari ancora degli approfondimenti sul tema (4).

Per quanto riguarda gli stabilimenti situati a terra sono state prese in considerazione un numero maggiore di misure di biosicurezza da applicare. Nonostante ciò, dall'analisi emerge che le misure più importanti sono quelle già evidenziate per gli stabilimenti a mare. Nello specifico, si può notare come ai primi posti ci sia la prevenzione tramite controllo dello stato di salute degli animali, la presenza di registri di mortalità e carico/scarico e la formazione degli operatori. Le misure che riguardano la pulizia e lavaggio ottengono punteggi più alti rispetto a quelli degli stabilimenti in mare/laguna, in quanto di fatto sono stabilimenti con più possibilità di applicare le procedure di pulizia e disinfezione classiche. Agli ultimi posti si trovano le misure di delimitazione degli stabilimenti, la verifica dei trasportatori e la protezione contro i predatori. Per i molluschi sono fattori che non rappresentano un potenziale rischio di introduzione di patogeni e per questo hanno ottenuto punteggi più bassi.

Conclusioni

Questa attività ha permesso per la prima volta di ottenere delle informazioni standardizzate su quelle che sono le misure di biosicurezza più importanti da considerare nel settore della molluschicoltura. Ciò che è emerso rispecchia quanto ribadito dalla normativa in sanità animale, ossia “Prevenire è meglio che curare”, tanto più in un contesto dove gli interventi diretti ed effettivi che si possono attuare sugli animali sono di fatto solo la loro rimozione rapida in caso di mortalità. Risulta quindi fondamentale verificare lo stato sanitario degli stabilimenti da cui vengono acquistati gli animali e monitorare il loro stato di salute sia prima che durante la loro permanenza all'interno dello stabilimento, per quanto possibile.

Bibliografia

- [1] Fox, M., Christley, R., Lupo, C. et al. Preventing and mitigating farmed bivalve disease: a Northern Ireland case study. Aquacult Int 28, 2397–2417 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00597-y>
- [2] Gustafson, L., Remmenga, M., Duncan, C., Bliss, C., Bushek, D., Carnegie, R. B., Giray, C., Meyers, T., Davis, K., Hartman, K., & Elston, R. (2025). Risk-based valuation of surveillance data in open environments: Methods application to a key shellfish aquaculture production region. Journal of the World Aquaculture Society, 56(1), e13109. <https://doi.org/10.1111/jwas.13109>
- [3] Rodgers CJ, Mohan CV, Peeler EJ. The spread of pathogens through trade in aquatic animals and their products. Rev Sci Tech. 2011 Apr;30(1):241-56. doi: 10.20506/rst.30.1.2034. PMID: 21809767.
- [4] Thrush MA, Pearce FM, Gubbins MJ, Oidtmann BC, Peeler EJ. A Simple Model to Rank Shellfish Farming Areas Based on the Risk of Disease Introduction and Spread. Transbound Emerg Dis. 2017 Aug;64(4):1200-1209. doi: 10.1111/tbed.12492. Epub 2016 Mar 9. PMID: 26961676.

Cambiamenti climatici e mitilicoltura abruzzese: la calda estate 2024 vista da satellite

C. Ippoliti¹, R. Salini¹, F. Di Giacinto¹, S. Tora¹, L. Di Renzo¹, S. Recchi¹, A. Cameli², M. Di Domenicantonio², P. Spina³, E. Di Giandomenico³, F. Di Fonzo⁴, F. Barbone⁴, F. Pagano⁴, G. Torzi⁴, F. Pizzurro¹, C. Profico¹, E. Nerone¹, A. Conte¹, G. Di Francesco¹, G. Migliorati¹

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", via Campo Boario snc, 64100 Teramo

²⁾ Azienda Sanitaria Locale di Teramo, Circ.ne Ragusa n.1, 64100 Teramo

³⁾ Azienda Sanitaria Locale di Pescara, Via Renato Paolini n. 47, 65124 Pescara

⁴⁾ Azienda Sanitaria Locale di Lanciano, Vasto e Chieti, via dei Vestini snc, 66100 Chieti

Keywords: mitilicoltura, *Mytilus galloprovincialis*, Mar Adriatico, telerilevamento, temperatura superficiale, marine heatwave

Introduzione

L'allevamento di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) è un'attività chiave nell'acquacoltura marina abruzzese, con una produzione annuale che si attesta intorno a 1.823 tonnellate e un valore di circa 2,5 milioni di euro. Gli impianti, collocati in ambiente offshore, sono esposti a condizioni meteomarine avverse. L'estate del 2024 è stata caratterizzata da una massiccia mortalità di novellame ed esemplari adulti, che ha compromesso l'intero settore. Su richiesta del Dipartimento Agricoltura della Regione Abruzzo, è stata istituita una rete interistituzionale (IZS Teramo, ARPA Abruzzo, ASL) per indagare sulle cause di questo evento. Il presente studio si concentra sull'analisi della temperatura superficiale del mare (SST), una Variabile Climatica Essenziale (ECV) [1], per valutare il suo ruolo nella mortalità dei mitili. L'analisi della serie storica (2008-2024) suggerisce che ondate di calore marino prolungate e intense nell'estate 2024 potrebbero aver influito significativamente sulla vitalità dei molluschi.

Summary

Mussel farming (*Mytilus galloprovincialis*) along the Abruzzo coast, a significant economic activity, suffered a severe and widespread mass mortality event during the summer of 2024. To investigate its causes, an inter-institutional collaboration was established. This study focuses on the analysis of sea surface temperature (SST), an Essential Climate Variable, as a potential triggering factor. The investigation combined in-situ sanitary and physic-chemical monitoring with the analysis of historical satellite data series (2008-2024) from the Copernicus Marine Service. While laboratory analyses did not reveal specific pathologies in the mussels or nutrient deficiencies in the water, satellite analysis detected an exceptional and prolonged marine heatwave in the summer of 2024, with surface temperatures exceeding 30°C near the farms. This event, coupled with anomalous warming that extended into the autumn, suggests a significant correlation between the extreme thermal conditions and the mortality of the molluscs. The results highlight a warming trend in the central Adriatic Sea SST, reinforcing the urgency for early warning systems and resilient management strategies for the mussel farming sector.

Materiali e Metodi

Tra il 28 agosto e il 4 settembre 2024, sono stati condotti otto sopralluoghi congiunti per un monitoraggio sanitario e il campionamento di mitili e acque marine. Sono stati rilevati parametri chimico-fisici dell'acqua come temperatura, salinità, ossigeno dissolto e clorofilla A. Contestualmente, sono stati analizzati i dati di SST satellitari del Copernicus Marine Service (dataset "Mediterranean Sea High Resolution and Ultra High Resolution Sea Surface Temperature Analysis" [2]) per il periodo 2008-2024. Questo dataset, con una risoluzione spaziale di circa 1 km, è stato utilizzato per analizzare le serie temporali della SST nei punti rappresentativi degli impianti. I dati sono stati scomposti nelle componenti di trend, stagionalità e variabilità residua [3,4]. Per identificare le tendenze di riscaldamento è stato utilizzato il test di Mann-Kendall, mentre la regressione lineare è stata applicata ai dati destagionalizzati per quantificare i tassi di variazione.

Risultati e Discussione

Le indagini di laboratorio non hanno evidenziato patologie specifiche nei mitili, ma hanno rivelato segni di sofferenza come emaciazione e una quiescenza gonadica senza produzione attiva di gameti. L'esame delle acque marine non ha mostrato valori anomali per quanto riguarda la concentrazione dei nutrienti e delle popolazioni fitoplanctoniche. L'analisi dei dati satellitari ha, invece, rilevato un'eccezionale ondata di calore marino (marine heatwave) nell'estate 2024, della durata di circa 60 giorni, con temperature superficiali che hanno superato i 30°C in alcune aree. Il riscaldamento prolungato fino a novembre, e la quasi totale assenza di ondate di freddo nell'autunno 2023, hanno probabilmente aggravato lo stress per la vita marina, influenzando la vitalità dei mitili [5]. Sebbene lo studio si basi su un periodo relativamente breve, evidenzia una significativa tendenza all'aumento della SST nell'Adriatico centrale, in linea con quanto riscontrato in altri studi sul Mediterraneo [6, 7].

Conclusioni

Questo studio rafforza la necessità di implementare sistemi integrati di allerta precoce [8] e di sviluppare strategie di gestione dell'acquacoltura più resilienti. La collaborazione tra gli enti preposti è fondamentale per un supporto scientifico ed efficace alla mitilicoltura, al fine di mitigare gli impatti dei cambiamenti climatici sul settore.

Bibliografia

- [1] Filippone F., Valentini E., & Taramelli A. (2017). Sea surface temperature changes analysis, an essential climate variable for ecosystems service provisioning. In Proceedings of the 2017 9th International Workshop of Multitemporal Remote Sensing Images (MultiTemp2017), Brugge, Belgium, 27–29 June 2017 (pp. 244–251).
- [2] Buongiorno Nardelli B., Tronconi C., Pisano A. & Santoleri R. (2013). High and Ultra-High resolution processing of satellite Sea Surface Temperature data over Southern European Seas in the framework of MyOcean project. *Remote Sensing of Environment*, 129, 1-16. doi:10.1016/j.rse.2012.10.012
- [3] Shumway R.H. & Stoffer D.S. (2017). Time Series Analysis and Its Applications: With R Examples. Springer- Verlag, New York
- [4] Salini R., Tora S., Filippone, F., Conte A., Giansante C., & Ippoliti C. (2024). Analyzing trend and heatwaves of 15 years of sea surface temperature variations along the Italian Adriatic Coast. *Veterinaria Italiana*, 60(4). <https://doi.org/10.12834/VetIt.3583.27524.2>
- [5] Bracchetti L., Capriotti M., Fazzini M., Cocci P. & Palermo F.A. (2024). Mass Mortality Event of Mediterranean Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Middle Adriatic: Potential Implications of the Climate Crisis for Marine Ecosystems. *Diversity*, 16, 130. <https://doi.org/10.3390/d16030130>.
- [6] Garrabou J., Gómez-Gras D., Medrano A., Cerrano C., Ponti M., Schlegel R., Bensoussan N., Turicchia E., Sini M. & Gerovasileiou M. (2022). Marine heatwaves drive recurrent mass mortalities in the Mediterranean Sea. *Global Change Biology*, 28, 5708–5725.
- [7] Pastor F., Valiente J.A. & Khodayar S. (2020). A Warming Mediterranean: 38 Years of Increasing Sea Surface Temperature. *Remote Sensing*, 12(17), 2687. <https://doi.org/10.3390/rs12172687>.
- [8] Di Giacinto F., Conti F., Mascilongo G., Colaiuda V., Tomassetti B., Lombardi A., Capoccioni F., Pulcini D., Di Francesco G., Di Renzo, L., Profico C., Moranduzzo T., Ippoliti C., Giansante C. & Ferri N. (2023). An early warning system for mussel aquaculture adapting to climate changes. In GeoVet 2023 International Conference Abstract Book (Poster P02.4, pp. 191–192). Teramo: Edizioni IZSTe-press - Digital Publishing. ISBN 978-88-9365-041-0.

Il progetto SMART-WATER SHELL: sviluppo di un sistema modulare di monitoraggio in tempo reale per la sostenibilità della molluschicoltura costiera

L. Lanci¹, F. Mosca¹, G. Vignola¹, A. Di Cesare¹, Lotito R.², Solmi S.² P. G. Tiscar¹

¹⁾ Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy

²⁾ Orion srl, Veggiano (PD), Italy

Keywords: Smart Monitoring Systems, Coastal Ecosystem Management, Early Warning Systems

Introduzione

L'intensificarsi delle pressioni ambientali sui sistemi marini costieri, anche in relazione ai cambiamenti climatici e all'aumento dell'impatto antropico, sta ponendo nuove sfide nella gestione degli ecosistemi marini e delle attività produttive connesse, come la molluschicoltura^{1,2}. In questo scenario, il monitoraggio ambientale assume un ruolo essenziale, soprattutto laddove finalizzato a fornire dati ad alta risoluzione spaziale e temporale, capaci di supportare decisioni operative e politiche basate su evidenze oggettive. Le osservazioni satellitari costituiscono una risorsa imprescindibile su larga scala, ma risultano spesso insufficienti per cogliere la variabilità fine e gli eventi acuti che caratterizzano i contesti marini costieri, fortemente eterogenei e dinamici. In quest'ottica, la disponibilità di sistemi di monitoraggio in situ, modulari e replicabili, costituisce un'opportunità concreta per migliorare la gestione sostenibile degli impianti di molluschicoltura, in linea con i principi della Blue Economy e con le strategie dell'Unione Europea sulla resilienza degli ambienti costieri. In tale contesto si inserisce il progetto SMART WATER-SHELL (Sustainable Monitoring Automation Reporting Techniques - Water Analysis Technology for Environmental Research - Sensors Handled by Efficient Logging Locator), NextGenerationEU, PNRR, Missione 4, Componente 2, Investimento 1.5, SAMOTHRACE, cod. ECS00000022. Il progetto mira allo sviluppo e alla validazione di un sistema modulare e scalabile per il monitoraggio in tempo reale delle acque marine, mediante l'impiego di sensoristica avanzata e automatizzata. L'obiettivo primario è quello di fornire strumenti di supporto alle decisioni per la gestione sostenibile delle risorse idriche, con particolare attenzione alla mitigazione dell'inquinamento in aree adibite alla produzione molluschicola. Il progetto, avviato il 9 settembre 2024 e della durata complessiva di 12 mesi, coinvolge l'impianto di mitilicoltura *long-line* Adriatica Offshore srl, situato lungo la costa abruzzese, al largo di Giulianova (TE), già sede di precedenti attività progettuali di ricerca e sperimentazione. Il partenariato è composto da ORION srl, azienda con pluriennale esperienza nella progettazione di tecnologie per il monitoraggio ambientale, e dal Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Teramo (UNITE-DMV), che coordina le attività scientifiche, le attività di campionamento e l'analisi dei dati.

Summary

Coastal marine systems are increasingly threatened by climate change and human pressures, raising major challenges for ecosystem management and productive activities such as shellfish farming^{1,2}. Environmental monitoring is therefore essential, particularly through high-resolution spatial and temporal data able to support evidence-based decision-making. While satellite observations provide indispensable large-scale information, they often fail to capture fine-scale variability and acute events in dynamic coastal environments. The SMART WATER-SHELL project (PNRR, SAMOTHRACE, cod. ECS00000022) addresses this need by developing and validating a modular, scalable, real-time monitoring system based on advanced sensor technologies. Launched in September 2024 with a duration of 12 months, the project is being implemented at the Adriatica Offshore srl long-line mussel farm (Giulianova, TE), a site already involved in previous research projects. The partnership involves ORION srl, a company with extensive expertise in the design of environmental monitoring technologies, and the Department of Veterinary Medicine, University of Teramo (UNITE-DMV), which is responsible for coordinating scientific activities, sampling operations, and data analysis.

Materiali e metodi

Il progetto SMART WATER-SHELL è stato articolato in quattro attività, a loro volta suddivise in Work Packages (WP). L'Attività 1, "Innovazioni nel monitoraggio delle acque costiere", comprendente due WP, ha riguardato lo studio delle metodologie innovative di monitoraggio attualmente disponibili e l'analisi delle esigenze specifiche del comparto molluschicolo. In particolare, nell'ambito del WP 1.1, attraverso un'accurata revisione della letteratura scientifica e dei principali database, sono stati individuati i parametri prioritari da monitorare nei sistemi marini costieri, con un approfondimento sui metodi già consolidati e sulle tecnologie emergenti. Contestualmente, è stata condotta un'analisi dei dati satellitari pregressi relativi al sito produttivo Adriatica Offshore srl, finalizzata a fornire una base conoscitiva utile al successivo confronto con i dati che verranno raccolti in situ. Nell'ambito del WP 1.2, è stata invece condotta un'analisi degli stakeholder mediante la raccolta di dati economici e produttivi sul comparto molluschicolo a livello globale, europeo e nazionale e la somministrazione di un questionario tecnico rivolto agli operatori italiani del settore. Tale indagine ha consentito di raccogliere informazioni sui sistemi di monitoraggio attualmente impiegati, sulle criticità

riscontrate e sulle esigenze operative, successivamente discusse in un incontro dedicato con i molluschicoltori della costa abruzzese. L'Attività 2, "Monitoraggi innovativi per la molluschicoltura", è stata dedicata allo studio comparativo delle sonde e dei sensori presenti sul mercato, con l'obiettivo di individuare le soluzioni tecnologiche più idonee alla rilevazione dei parametri ambientali e degli inquinanti di interesse, integrando i risultati emersi dalle attività precedenti. Risultano attualmente in corso le Attività 3, "Implementazione del sistema di monitoraggio impiegato" e l'Attività 4, "Installazione e validazione in campo". L'Attività 3 riguarda lo sviluppo del sistema prototipale, comprendente la progettazione e la validazione in laboratorio dell'hardware (WP 3.1), nonché lo sviluppo del software per la gestione delle funzionalità, l'acquisizione, la trasmissione e la visualizzazione dei dati (WP 3.2). L'Attività 4 comprende l'installazione e validazione del sistema presso l'impianto di mitilicoltura Adriatica Offshore srl con sede a Giulianova, Abruzzo. Tale fase prevede controlli periodici congiunti tra i tecnici dell'impianto e il personale scientifico del progetto (WP 4.1), oltre al confronto dei dati acquisiti con misurazioni satellitari e rilievi puntiformi lungo la colonna d'acqua effettuati mediante sonda multiparametrica (WP 4.2), al fine di verificarne l'affidabilità e la rappresentatività. L'attività di validazione sarà inoltre integrata da una strategia di comunicazione trasversale, che includerà la creazione di materiali di comunicazione specifici (brochure), l'allestimento di pagine social (Instagram e Facebook) dedicate al progetto e l'utilizzo di strumenti appropriati per raggiungere e coinvolgere i diversi stakeholder.

Risultati e discussione

L'analisi condotta nell'ambito dell'attività 1.1 ha evidenziato la necessità di un approccio integrato che combini osservazioni satellitari e sistemi in situ, poiché i primi, pur garantendo una visione sinottica di lungo periodo, presentano limiti nella risoluzione e nella continuità dei dati in ambiente costiero. Le sonde multiparametriche si sono quindi confermate come strumenti indispensabili per il monitoraggio puntuale e in tempo reale, capaci di rilevare le variazioni locali e di rispondere meglio alle esigenze operative della molluschicoltura. L'analisi dei dati satellitari pregressi relativi al sito Adriatica Offshore srl ha confermato queste considerazioni. I risultati hanno portato allo sviluppo di un'idea di sistema di monitoraggio basato su quattro boe modulari di piccole dimensioni, ciascuna dedicata a specifici parametri ambientali: temperatura, torbidità e correnti marine tramite sensore ADCP (boa 1); clorofilla, fitoplancton e torbidità (boa 2); Domanda Biochimica di Ossigeno equivalente (BODEq) e concentrazione di Escherichia coli (boa 3); dati meteorologici e trasmissione in tempo reale attraverso protocolli NB-IoT (boa 4). La configurazione, integrata in una piattaforma software predisposta per algoritmi di intelligenza artificiale e sistemi di supporto decisionale (DSS), consentirà l'acquisizione e la condivisione di dati ad alta risoluzione spaziale e temporale.

I risultati dell'Attività 1.2, incentrata sull'analisi degli stakeholder, hanno messo in luce aspetti essenziali per l'effettiva implementazione del sistema. La diffusione di un questionario su scala nazionale ha prodotto un numero limitato di risposte, non sufficiente a costituire un campione rappresentativo. Tale criticità riflette difficoltà strutturali del settore: scarsa familiarità con strumenti digitali, ridotta propensione a partecipare a processi di innovazione e percezione di distanza tra ricerca e operatività aziendale. Per superare questo limite, l'indagine è stata integrata con interviste dirette e incontri con molluschicoltori, che hanno permesso di acquisire preziose informazioni qualitative. Dalle interviste è emersa una prevalenza di impianti di piccole dimensioni e a conduzione familiare, accanto a realtà più strutturate con maggiori capacità di investimento. La maggior parte degli operatori monitora solo parametri di base (temperatura, salinità, ossigeno dissolto), mentre risultano meno diffusi rilievi su clorofilla, nutrienti e torbidità, con frequenze di controllo disomogenee e spesso non sistematiche. Le principali barriere individuate riguardano i costi di installazione e manutenzione, ritenuti elevati dalla quasi totalità degli intervistati, e le difficoltà di gestione tecnica delle strumentazioni, soprattutto in contesti produttivi caratterizzati da scarsità di risorse umane e finanziarie. L'incontro con i molluschicoltori della costa abruzzese ha permesso di definire requisiti concreti per le boe, tra cui dimensioni contenute e caratteristiche di galleggiabilità compatibili con le strutture già presenti, per non ostacolare le lavorazioni. La semplicità di manutenzione è emersa come requisito fondamentale, unitamente alla necessità di costi contenuti e sostenibili. Gli operatori hanno inoltre espresso interesse per l'accesso a dati in tempo reale, da utilizzare sia per garantire la conformità normativa e la sicurezza alimentare, che come strumento di supporto gestionale, in grado di ottimizzare semina, raccolta e interventi preventivi in caso di eventi avversi. Si tratta, chiaramente, di risultati preliminari che hanno orientato lo sviluppo del prototipo. Le attività successive di implementazione e validazione del sistema sono tuttora in corso.

Bibliografia

- [1] EEA (2020) – Marine messages II. Navigating the course towards clean, healthy and productive seas through implementation of an ecosystem-based approach.
- [2] Hossain, M. S., Zaman, B., Khan, M. A., Shihab, M. Y. K., & Nielsen, R. (2025). Impact of climate change and adaptation strategy in aquaculture: A systematic review. *Aquaculture International*, 33, 330–357.

Impatto del cambiamento climatico sull'acquacoltura dei bivalvi e principali strategie di mitigazione: una revisione sistematica

L. Lenci¹, C. Amatetti¹, E. Renzi¹, P. G. Tiscar¹

¹⁾Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy

Keywords: Bivalve Aquaculture, Climate Change, Mitigation and Adaptation Strategies

Introduzione

Il cambiamento climatico costituisce una delle principali minacce sistemiche per gli ecosistemi marini, con impatti diretti sulla struttura, funzionalità e resilienza degli ambienti costieri. Tra i settori maggiormente esposti a tali pressioni, l'acquacoltura dei bivalvi costituisce un comparto particolarmente vulnerabile, in ragione della sua elevata dipendenza dalle condizioni ambientali e dell'impossibilità di controllare direttamente i principali parametri fisico-chimici dell'ambiente di allevamento. L'alterazione dei regimi termici, l'acidificazione delle acque, l'aumento dell'ipossia costiera e la crescente frequenza di eventi estremi influenzano in maniera significativa i processi biologici alla base della produttività dei bivalvi, con impatti diretti su mortalità, accrescimento, metabolismo, calcificazione e riproduzione^{1,2}. Inoltre, il margine di intervento in risposta ad eventi avversi nel comparto molluschicolo è limitato rispetto ad altri contesti produttivi, sia per vincoli strutturali e tecnologici, sia per la diffusa presenza di piccole realtà aziendali con ridotta capacità di innovazione e adattamento³. In questo contesto, la valutazione dell'impatto del cambiamento climatico sulla produttività del settore, unitamente all'identificazione di strategie di mitigazione efficaci, capaci di aumentare la resilienza degli impianti e ridurre la vulnerabilità delle produzioni, risulta ormai indispensabile. Nonostante negli ultimi anni la letteratura scientifica in merito sia in costante aumento, i relativi studi risultano spesso eterogenei per obiettivi, scala di analisi e rigore metodologico. La maggior parte di essi si concentra su contesti geografici delimitati o su categorie produttive aggregate, adottando approcci descrittivi piuttosto che sistematici, e raramente l'analisi degli effetti biotici è integrata con quella delle misure di mitigazione. Pertanto, l'obiettivo della presente revisione sistematica è quello di fornire una sintesi metodologicamente strutturata e aggiornata della letteratura internazionale sugli effetti dei principali driver climatici (temperatura, pH, ossigeno dissolto, salinità) su quattro outcome produttivi (mortalità, accrescimento, calcificazione e riproduzione) nel settore dell'acquacoltura dei bivalvi e valutare le strategie di mitigazione proposte o attuate nel settore al fine di individuare criticità, lacune conoscitive e possibili soluzioni applicabili al contesto nazionale, a supporto della definizione di politiche adattive e interventi mirati.

Summary

Bivalve aquaculture is highly vulnerable to climate change, as it is strongly dependent on environmental conditions and offers limited opportunities for direct intervention in farming environments. Key climate drivers such as ocean warming, acidification, hypoxia, and salinity fluctuations are already exerting measurable impacts on physiological processes essential for production, including growth, calcification, reproduction, and survival^{1,2}. These stressors pose major risks to the sustainability and profitability of the sector, particularly given its structural and technological constraints and the prevalence of small-scale enterprises with limited adaptive capacity³. While research on the effects of climate change on aquaculture has expanded significantly in recent years, existing studies often remain fragmented, focusing on specific regions, species, or management practices, and rarely integrating the assessment of biological impacts with the analysis of mitigation strategies. This systematic review aims to provide a structured synthesis of the international literature, evaluating the impacts of climate change on four key production outcomes in bivalves - mortality, growth, calcification, and reproduction - and mapping the mitigation strategies proposed or implemented worldwide. By highlighting knowledge gaps, recurring challenges, and potential solutions transferable to the national context, the review intends to support evidence-based adaptive policies and foster the resilience of the shellfish aquaculture sector.

Materiali e metodi

La revisione sistematica è stata svolta sulla base delle più recenti linee guida PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), secondo le quali in presenza di dati estremamente eterogenei non è necessario condurre una meta-analisi. Questo metodo viene utilizzato per garantire un processo sistematico, trasparente e riproducibile di selezione. La ricerca è stata condotta attraverso i seguenti database: Web of science, Science direct, Scopus e Pubmed ed è stata utilizzata una stringa basata sugli operatori booleani adattata alle caratteristiche di ciascuno di essi. Le parole chiave impiegate sono state: "climate change", "global warming", "ocean acidification", "temperature rise", "adaptation", "resilience", "mitigation", "climate strategy", "management strategy", "climate policy", "bivalve", "aquaculture", "shellfish farming" e loro diverse combinazioni e sinonimi. Il range temporale di ricerca prefissato è stato di 10 anni, dal 2015 al 2025. Sono stati inoltre stabiliti i criteri di inclusione/esclusione. In particolare, sono stati inclusi solo

articoli disponibili in full-text e in lingua inglese, riguardanti esclusivamente l'acquacoltura marina, a livello globale, di bivalvi di interesse commerciale che valutassero: (1) l'impatto di uno o più driver climatici (temperatura, acidificazione, variazione della salinità e ipossia) su almeno uno dei seguenti outcome: mortalità, crescita, calcificazione e riproduzione; (2) strategie di mitigazione applicabili al contesto dell'acquacoltura dei bivalvi; (3) entrambi gli aspetti. Inoltre, sono stati considerati solo articoli di riviste sottoposte a revisione dei pari. Sono stati altresì esclusi studi basati su review, libri, capitoli di libri e articoli di conferenze, ricerche basate sull'osservazione dei bivalvi in ambiente naturale non legate al cambiamento climatico, studi riguardanti la valutazione di outcome diversi, come metabolismo, microbioma e aspetti di trascrittomica e metabolomica. Il processo di selezione degli studi è stato articolato in più fasi: esportazione degli articoli in estensione RIS dai suddetti database, eliminazione dei duplicati mediante il software Zotero, screening preliminare attraverso valutazione del titolo e dell'abstract sulla piattaforma Rayyan, lettura in full-text ed estrazione dei dati. Il processo è stato documentato con un diagramma integrale PRISMA: identificazione (n. articoli trovati), screening, idoneità, inclusione definitiva. La valutazione dei bias è stata condotta mediante MMAT (Mixed Methods Appraisal Tool), uno strumento di analisi critica progettato per la revisione sistematica di studi misti.

Risultati e discussione

Il processo di identificazione e selezione degli articoli è sintetizzato nel diagramma PRISMA. La ricerca ha restituito 4.191 record, ridotti a 3.860 dopo la rimozione dei duplicati. In seguito allo screening preliminare, 311 articoli sono stati analizzati in full-text e, al termine della valutazione, 150 sono risultati idonei all'inclusione. Tra i fattori climatici, la temperatura è lo stressor più indagato, con studi prevalentemente focalizzati su specie appartenenti a *Mytilidae* e *Ostreidae*, condotti soprattutto in Asia e area mediterranea. L'outcome più frequentemente valutato è la mortalità, che risulta generalmente incrementata oltre i 26–28 °C, pur con variabilità intra- e interspecifica legata a popolazione e stadio vitale. La crescita è stata indagata in misura minore, con evidenze di riduzione della biomassa tissutale, mentre riproduzione e calcificazione risultano marginalmente considerate. L'acidificazione degli oceani rappresenta uno stressor di grande rilevanza per il settore dell'acquacoltura dei bivalvi, con un numero consistente di studi su *Ostreidae*, *Veneridae* e *Mytilidae*, prevalentemente condotti in Cina e Nord America. Gli outcome maggiormente analizzati sono crescita e mortalità, i cui effetti negativi risultano più frequenti negli stadi larvali e giovanili. Gli studi relativi agli effetti del pH sulla calcificazione mostrano una ridotta deposizione di carbonato e una maggiore fragilità della conchiglia. La riproduzione, seppur scarsamente indagata, mostra alterazioni della maturazione gonadica e risposte sesso-specifiche, con alcuni studi che segnalano resilienza intergenerazionale. La letteratura sull'ipossia come singolo stressor risulta molto limitata. Le evidenze disponibili mostrano un chiaro incremento della mortalità in condizioni ipossiche, seppur con differenze a livello di popolazione e dimensione degli individui, mentre gli altri outcome risultano scarsamente documentati. Le variazioni di salinità sono associate ad effetti negativi sia in condizioni di iposalinità (<10–12 psu) che di ipersalinità (>38–40 psu). La crescita appare ottimale a valori intermedi e compromessa agli estremi, soprattutto negli stadi larvali. È stata rilevata un'ampia variabilità intra- e interspecifica, con popolazioni acclimatate o selezionate che mostrano una maggiore tolleranza. Le strategie di mitigazione identificate sono state classificate in tre categorie principali. Gli approcci biologico-ambientali, come la co-coltura con macroalghe e fanerogame o l'impiego di supplementi antiossidanti, mostrano potenziale nel tamponare acidificazione e stress ossidativo, ma rimangono spesso confinati su scala sperimentale. Le strategie genetiche, basate su programmi di selezione e breeding assistito, hanno evidenziato un incremento della resilienza in ostriche e mitili esposti a stress termici e acidificazione, pur presentando limiti in termini di tempi di applicazione e rischio di erosione della diversità genetica. Infine, le misure gestionali, che includono l'uso di modelli previsionali, la diversificazione dei siti e indagini socio-economiche, hanno messo in luce criticità strutturali, finanziarie e culturali che limitano l'adozione diffusa di pratiche innovative. L'analisi evidenzia come gli stressors climatici incidano in maniera significativa su mortalità, crescita e calcificazione dei bivalvi, mentre restano più incerte le conoscenze relative agli aspetti riproduttivi. Le strategie di mitigazione disponibili delineano prospettive promettenti, ma la loro applicazione concreta richiede una più stretta integrazione tra ricerca sperimentale, produzione e strumenti di governance, al fine di rafforzare la resilienza del comparto e orientare politiche di adattamento mirate.

Bibliografia

- [1] Cueto-Vega R, Flye-Sainte-Marie J., García-Corona J. L., Palacios F., Jean F., Aguirre-Velarde A., Gil-Kodaka P., Mendo J. & Thouzeau G., 2024. Trade-off between growth and reproduction in *Argopecten purpuratus* (L.) scallops exposed to medium-term hypoxia and acidification. *Aquaculture* 586: 740713.
- [2] Rato A, Joaquim S, Matias AM, Roque C, Marques A and Matias D (2022) The Impact of Climate Change on Bivalve Farming: Combined Effect of Temperature and Salinity on Survival and Feeding Behavior of Clams *Ruditapes decussatus*. *Front. Mar. Sci.* 9:932310.
- [3] Steeves, Laura & Filgueira, Ramón. (2019). Stakeholder perceptions of climate change in the context of bivalve aquaculture. *Marine Policy*. 103. 121-129.

Molluschicoltura, cambiamenti climatici e Blue Economy: alcuni risultati del monitoraggio ambientale nel Golfo della Spezia (Liguria)

L. Martella¹, R.M. Bertolotto¹, F. Cipolletta¹, M. Lecchini¹, N. Melchiorre¹, I. Mozzone¹, M. Vergassola¹, F. Zaccagna², M. Feletti³, S. Coppo¹

¹⁾ Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure

²⁾ Università degli Studi di Genova

³⁾ Regione Liguria - Settore Politiche Agricole e della Pesca

Keywords: molluschi bivalvi, servizi ecosistemici, Liguria, Blue Economy

Introduzione

L'allevamento dei mitili (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) nel Golfo della Spezia risale al 1887 e costituisce una realtà consolidata e rilevante dal punto di vista socio-economico. L'allevamento si effettua su aree marine in concessione demaniale per una superficie di circa 65 ha ettari, con una produzione di circa 12.600 quintali di mitili e 347 quintali di ostriche nell'anno 2024. L'attività di molluschicoltura spezzina è l'unica in Regione Liguria. Nelle zone destinate alla molluschicoltura del Golfo della Spezia, in ottemperanza a quanto stabilito dal D. Lgs. 152/06, ARPAL svolge un programma di monitoraggio ambientale integrato e coordinato con il monitoraggio di tipo sanitario. Il monitoraggio ambientale valuta le condizioni ambientali sotto il profilo pianificatorio. La presenza di una non conformità non incide sulla commerciabilità del prodotto, ma indica agli enti di governo la necessità di intervenire, in termini preventivi, sulla mitigazione o sulla eliminazione delle cause.

I dati analitici acquisiti dal monitoraggio ambientale, nel periodo 2015-2025, hanno fornito informazioni importanti per la valutazione delle tendenze di alcuni parametri, in particolare della temperatura dell'acqua. Il processo di regolamentazione climatica svolto dal mare "... è fondamentale per mantenere l'equilibrio del sistema climatico del nostro pianeta. Tuttavia, questo processo sta mettendo a dura prova il nostro ambiente. Le conseguenze includono gravi impatti sulle specie e sugli habitat marini e un preoccupante aumento degli eventi meteorologici e climatici estremi, come le ondate di caldo marino" (Programma Europeo Copernicus). Negli ultimi anni, le alte temperature dell'acqua insieme a fenomeni di predazione, hanno contribuito alla diminuzione della performance produttiva negli impianti del Golfo della Spezia. L'acquacoltura a basso impatto e i servizi ecosistemici connessi possono, se ulteriormente sviluppati, contribuire alla *Blue Economy* e allo "sviluppo locale autosostenibile" del territorio interessato.

Summary

Mussel farming (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) in the Gulf of La Spezia dates back to 1887 and is a consolidated and relevant reality from a socio-economic point of view. Farming is carried out on marine areas under state concession covering an area of about 65 hectares, with a production of about 12,600 quintals of mussels and 347 quintals of oysters in the year 2024. La Spezia's shellfish farming activity is the only one in the Liguria Region. In the shellfish farming areas of the Gulf of La Spezia, in compliance with Legislative Decree 152/06, ARPAL carries out an environmental monitoring programme integrated and coordinated with health monitoring. Environmental monitoring assesses environmental conditions from a planning perspective. The presence of a non-conformity does not affect the marketability of the product, but indicates to the governing bodies the need to intervene, in preventive terms, to mitigate or eliminate the causes.

The analytical data acquired from environmental monitoring over the period 2015-2025 provided important information for assessing trends in certain parameters, particularly water temperature. The climate regulation process carried out by the sea "... is fundamental to maintaining the balance of our planet's climate system. However, this process is putting a strain on our environment. The consequences include severe impacts on marine species and habitats and a worrying increase in extreme weather and climate events, such as marine heatwaves" (Copernicus European Programme). In recent years, high water temperatures coupled with predation phenomena have contributed to a decrease in production performance in facilities in the Gulf of La Spezia. Low-impact aquaculture and related ecosystem services can, if further developed, contribute to the *Blue Economy* and to the "self-sustainable local development" of the area concerned.

Materiali e metodi

Il presente lavoro considera i risultati ottenuti nel periodo compreso tra agosto 2015 e luglio 2025 nell'ambito delle attività di monitoraggio ambientale delle zone di produzione di molluschi bivalvi nel Golfo della Spezia, raccolti da personale ARPAL nelle 7 stazioni di campionamento, tre delle quali situate all'interno della diga foranea della Spezia, due all'esterno di questa e due nella rada di Portovenere. Tenuto conto di quanto disposto dal D.Lgs.n. 152/2006 [1] (Allegato 2, Sezione C, Tab.1/C) e considerati gli aspetti gestionali e organizzativi, le frequenze del monitoraggio sono state implementate, in particolare i parametri da campo sono misurati con frequenza quindicinale a diverse profondità (0,5 - 1,5 - 3,0 - 5,0 m). In questa sede si riportano le

valutazioni sulla temperatura dell'acqua, sull'ossigeno dissolto e sulla salinità. Il biota (*M. galloprovincialis*) viene campionato e analizzato 4 volte l'anno per la determinazione dei *Coliformi totali* e 2 volte l'anno per i metalli. Ad integrazione dei controlli previsti sulle matrici acqua e biota per la vita dei molluschi, vengono effettuate anche indagini sul fitoplancton potenzialmente tossico, con frequenza quindicinale, allo scopo di individuare l'eventuale presenza di specie algali potenzialmente responsabili della produzione di biotossine algali.

Risultati e discussione

L'incremento della temperatura media delle acque marine del Mediterraneo sta determinando la migrazione verso latitudini superiori di specie marine maggiormente adattate a tale cambiamento (ref.). L'indicatore MTC - *Mean Temperature of the Catch* - che rappresenta l'affinità termica media delle catture della pesca commerciale, evidenzia come nel Mediterraneo occidentale (Divisione FAO 37.1.3) l'affinità termica media delle catture delle flotte italiane è aumentata da 20,5 a 22,5 °C (1987-2022), con un aumento annuo significativo di +0,07 °C [2] [3]. Le canicole marine sono legate al rapido riscaldamento del Mar Mediterraneo, con conseguenti minacce agli ecosistemi marini e l'aumento di eventi meteorologici estremi [2]. Il 15 agosto 2024 la temperatura media giornaliera della superficie del Mar Mediterraneo ha raggiunto i 28,90 °C, battendo il record di 28,71 °C registrato il 24 luglio 2023 [4]. L'anomalia termica di +3 o addirittura +4°C sopra la norma è stata particolarmente significativa a metà agosto 2024 nel Golfo di Venezia, nel Mar Ligure e tra la Sicilia e la penisola, con temperature vicine o superiori a 30 °C (fig. 1a). I climatologi chiamano «*ondata di calore marino*» (*Marine Heat Wave - MHW*) il fenomeno che si verifica quando la temperatura del mare supera una soglia estrema per più di cinque giorni consecutivi. Nell'ultimo secolo il numero totale di giorni con MHW in media su tutto il globo, è aumentato del 54% [5] [6]. L'aumento della forza, della frequenza e della durata delle onde di calore marine è previsto in aumento per il futuro a causa dei cambiamenti climatici [7]. Oltre ad influenzare il clima, lo strato più superficiale dell'acqua stratificandosi, diventa una vera e propria barriera che impedisce lo scambio di ossigeno e il rimescolamento dei nutrienti con le acque profonde [7]. La temperatura superficiale del mare è un'importante indicatore del cambiamento climatico. In uno scenario futuro si ipotizza un innalzamento della temperatura superficiale del mare compreso fra +1 e +2 °C (differenza fra il trentennio 2021-2050 rispetto al valore medio del trentennio 1981-2010), che potrà determinare un impatto significativo sui servizi ecosistemici di supporto (ciclo dei nutrienti, formazione degli habitat, produzione primaria) e sui servizi di fornitura (pesca, acquacoltura, produzione di alghe e biomassa) [8].

Da agosto 2015 a luglio 2025 sono state effettuate 186 campagne di monitoraggio con 15624 determinazioni complessive di temperatura, ossigeno e salinità in acqua marina. I dati confermano la presenza di eventi di canicola marina nel Golfo della Spezia, in particolare negli anni 2022, 2023, 2024 e nel giugno-luglio 2025. Osservando i valori medi della temperatura dell'acqua marina a diverse profondità (0,5 - 1,5 - 3,0 - 5,0 m) nelle 7 stazioni di monitoraggio dal 2015 al 2025, si osserva che le temperature tendono ad essere superiori alle medie stagionali durante tutto l'anno (fig. 1b). In particolare, le temperature minime invernali raramente sono inferiori a 12 °C, mostrando un incremento dei valori minimi di circa +0,5 °C nel decennio in esame. Stesso discorso vale per i valori estivi, superiori ai 25 °C, con punte di 28 °C ed un incremento dei valori massimi di circa +0,4 °C nel decennio in esame.

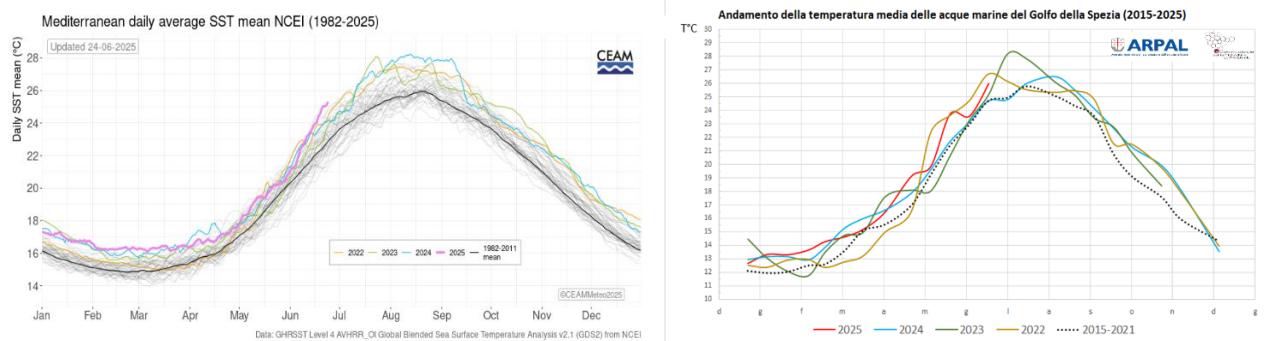


Figura 1: a) osservazioni sul Mar Mediterraneo condotte nell'anno 2024 [9] [10]; b) andamento dei valori medi di temperatura delle acque marino costiere registrate nel Golfo della Spezia a partire dal 2015 fino al 2025.

Ad oggi, nonostante l'incremento della temperatura media dell'acqua, non si sono registrati valori di saturazione dell'**ossigeno** inferiori a 80%, con un valore medio di $101 \pm 6,8\%$ (range 80,1-128,6%). L'andamento temporale dei valori di **salinità** (PSU) nelle acque marine nel Golfo della Spezia mostrano una significativa variabilità perché interessati dai flussi di acqua dolce provenienti dal fiume Magra: nelle acque destinate alla molluschicoltura il valore medio è di $37,23 \pm 1,36$ PSU (range 28,68-39,22).

Relativamente alla presenza di **Coliformi totali** nei mitili campionati in tutte le 7 stazioni, lo stato di non conformità ai sensi del D. Lgs 152/2006 è stato registrato solo nel 2023. Le concentrazioni di **Piombo**, **Mercurio** e **Cadmio** calcolate su peso secco dei campioni di mitili sono confrontabili con i dati di letteratura

[11] [12] [13]: Pb $3,51 \pm 1,50$ mg kg $^{-1}$ (range 0,31-7,32 mg kg $^{-1}$); Hg $0,13 \pm 0,06$ mg kg $^{-1}$ (range 0,06-0,47 mg kg $^{-1}$); Cd $0,61 \pm 0,46$ mg kg $^{-1}$ (range 0,04-2,68 mg kg $^{-1}$).

L'elaborazione dei dati ottenuti dalle analisi della **comunità fitoplanctonica**, ha evidenziato la presenza costante di diatomee appartenenti al genere *Pseudo-Nitzschia* potenzialmente produttrici di tossine del gruppo ASP (*Amnesic Shellfish poisoning*) in tutte le stazioni e nel corso di gran parte dell'anno. Le concentrazioni più significative sono state rilevate tipicamente in primavera e nel tardo autunno. In alcuni casi è stato superato il valore soglia proposto e definito nel Piano di Sorveglianza pari a 10^6 cell L $^{-1}$. Presenza costante e ubiquitaria anche per il dinoflagellato *Lingulaulax polyedra* (F. Stein) M.J. Head, K.N. Mertens & R.A. Fensome 2024 (potenziale produttore di yessotossine), rilevato in modo sistematico praticamente tutto l'anno, ha superato frequentemente i livelli di attenzione proposti e definiti nel Piano di Sorveglianza (500 cell L $^{-1}$), raggiungendo le concentrazioni massime in primavera (con valori dell'ordine di 10^4 cell L $^{-1}$). Nel tempo sono stati rilevati altri ceppi algali potenzialmente tossici (*Alexandrium* spp. potenzialmente produttore di tossine causa di Paralytic Shellfish poisoning, *Gonyaulax spinifera* (Claparède & Lachmann) Diesing 1866 e *Protoceratium reticulatum* (Claparède & Lachmann) Bütschli 1885 entrambi potenzialmente produttori di yessotossine) presenti tuttavia solo sporadicamente in concentrazioni superiori ai valori soglia proposti (500 cell L $^{-1}$). La ricerca delle biotossine dei ceppi algali rilevati non ha dato in nessun caso esito positivo, rendendo non necessaria l'intensificazione delle attività di monitoraggio. Infine, durante il monitoraggio sono stati rilevati ceppi fitoplanctonici (*Karenia* spp., *Prorocentrum* spp., *Ostreopsis* spp., *Coolia* spp.) potenzialmente produttori di biotossine marine a rischio emergente (ammine cicliche, brevetossine, palitossine, tetrodotossine, ciguatossine e maitotossine), per le quali attualmente non esistono riferimenti normativi, ma sono specie presenti in concentrazioni sempre più rilevanti nel Mar Mediterraneo [14] [15]. Sono in corso approfondimenti per comprendere su scala locale quali parametri ambientali sono associabili alla crescita di specie algali potenzialmente tossiche.

Negli ultimi 10 anni la **produzione** annua di mitili negli impianti del Golfo della Spezia è passata da circa 40.000 a 12.600 quintali, crollando del 70% circa. La temperatura dell'acqua, la presenza di predatori come le orate, possono considerarsi dei fattori che concorrono a tale perdita di produzione. Ogni specie ha una sua nicchia climatica, in particolare ogni specie vive in un determinato range di temperature. Le zone costiere, come le acque del Golfo della Spezia, sono maggiormente influenzate da pressioni antropiche e da variazioni di temperatura rispetto alle zone di mare aperto. Nei mitili, quando le temperature dell'acqua sono particolarmente elevate, il biso si indebolisce aumentando il rischio per questi organismi di essere trasportati via dalla corrente e dalle mareggiate [16]. Inoltre, le stagioni secche e il minor apporto di nutrienti attraverso i fiumi, possono compromettere la nutrizione di questi bivalvi filtratori, che indeboliti sono più esposti a patogeni e predatori [16].

L'acquacoltura si inserisce nel quadro della sostenibilità alimentare della **Blue Economy**, contribuendo alla sicurezza dell'approvvigionamento alimentare oltre che alla crescita e all'occupazione nelle regioni costiere. In particolare, la molluschicoltura può essere riconosciuta come uno dei sistemi di produzione di proteine animali più efficienti e con basse emissioni di CO₂. L'allevamento dei bivalvi offre numerosi servizi ecosistemici. I molluschi si accrescono filtrando il fitoplancton naturalmente presente nell'acqua di mare, mostrando così un ridotto impatto ambientale. Gli allevamenti di molluschi contribuiscono a regolare i cicli dei nutrienti nella colonna d'acqua e sul fondo, contrastando fenomeni come l'eutrofizzazione. Gli allevamenti estensivi di molluschi bivalvi utilizzando come risorsa trofica i nutrienti presenti nella colonna d'acqua, determinano la sottrazione di azoto e fosforo dal questo comparto ambientale. In Liguria gli impianti di molluschicoltura del Golfo della Spezia nel biennio 2019-2020 hanno sottratto dall'ambiente marino rispettivamente 21,751 tonn. di azoto e 1,497 tonn. di fosforo [17] [18] [19]. Studi recenti hanno dimostrato che le emissioni di gas (CO₂) provenienti dagli allevamenti di molluschi sono di gran lunga inferiori rispetto a qualsiasi altra produzione zootecnica [20] [21] [22]. Tali pratiche costituiscono un vero e proprio patrimonio territoriale nell'ottica di uno sviluppo locale autosostenibile.

Nell'ambito della programmazione **FEAMPA** 2021-2027 [23], la Priorità 2 riguarda l'acquacoltura sostenibile, essa "...aiuterà il settore a crescere e a diventare più competitivo seguendo specifiche regole su metodi di produzione ecocompatibili e la trasformazione e commercializzazione dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura, contribuendo alla sicurezza alimentare dell'UE". In tale contesto, particolare importanza assume l'identificazione e la mappatura delle zone più idonee per lo sviluppo dell'acquacoltura (Zone Allocate per l'Acquacoltura – AZA) [24]. Regione Liguria, in collaborazione con ARPAL, Università di Genova, ASL n. 5 Spezino e IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, ha realizzato nel Mar Ligure il Progetto sull'identificazione di nuove zone idonee alla molluschicoltura nelle acque antistanti la Provincia della Spezia, conclusosi nel 2022 (Misura 2.51 del FEAMP 2014-2020). Ancora, nel 2023 con il progetto denominato "Atlante del Mare" si sono individuate le zone vocate alla piscicoltura nelle aree savonesi e spezzine (FEAMP 2014-2020). Infine, con il nuovo progetto "Atlante del Mare 2.0", avviato nel 2025 nell'ambito del Programma regionale per la pesca e l'acquacoltura per il triennio 2023-2025 approvato dal Consiglio Regionale con DCR n. 3/2023, si procederà al completamento del processo di identificazione delle AZA per conseguire il pieno sviluppo del settore dell'acquacoltura in Liguria.

In conclusione, la "storica" pratica della molluschicoltura sembra avere tutte le carte in regola per affrontare la "modernità" delle sfide che ci attendono, alla luce dei cambiamenti climatici in essere, contribuendo al raggiungimento degli obiettivi di sostenibilità ambientale, economica e sociale.

Bibliografia

- [1] [Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n 152 e ss.mm.ii. "Norme in materia ambientale" \(Gazzetta Ufficiale del 29/04/2006\)](#)
- [2] [ISPRA, Annuario dei dati ambientali: <https://indicatoriambientali.isprambiente.it>](#)
- [3] Cheung, W.W.L., and Pauly, D. (2016). Explaining Ocean Warming: Causes, scale, effects and consequences. IUCN, International Union for Conservation of Nature. 289–302 pp. <https://portals.iucn.org/library/node/46254>.
- [4] ICATMAR Institute Català de Recerca per a la Governança del Mar. Sea surface temperature and marine heat waves. <https://www.icatmar.cat/en/operational-oceanography/water-temperature-and-marine-heat-waves/>
- [5] Oliver E.C.J., M.G., Burrows M.T., Moore P.J., Smale D.A., Alexander L.V., Benthuyzen G.A., Feng M., Gupta A.S., Hobday A.J., Holbrook N.J., Perkins-Kirkpatrick S.E., Scannell H.A., Straub S.C. & Wernberg T. (2018). Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. *Nature Communications*, 12 pp. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-03732-9>
- [6] Holbrook N.J., Scannell H.A., Gupta A.S., Benthuyzen J.A., Feng M., Oliver E.C.J., Alexander L.V., Michael T. Burrows , Markus G. Donat , Alistair J. Hobday , Pippa J. Moore , Sarah E. Perkins-Kirkpatrick, Dan A. Smale, Sandra C. Straub & Thomas Wernberg (2019). A global assessment of marine heatwaves and their drivers. *Nature Communications* 13 pp. <https://www.nature.com/articles/s41467-019-10206-z>
- [7] IPCC Intergovernmental Panel on Climate Change (2019). Extremes, Abrupt Changes and Managing Risks., 589-655, Cap. 6. <https://www.ipcc.ch/srocc/chapter/chapter-6/>
- [8] [ISPRA, Piattaforma Nazionale Adattamento Cambiamenti Climatici - <https://climatadat.isprambiente.it>](#)
- [9] EU Commission (2025). Copernicus Climate Change Service. <https://climate.copernicus.eu/esotc/2024/european-ocean>
- [10] CEAM, Mediterranean Sea Surface Temperature Trend. <https://www.ceam.es/ceamet/SST/index.html>
- [11] Giordano R., Arata P., Ciaralli L., Rinaldi S., Giani M., Cicero A.M., Costantini S. (1991). Heavy metals in mussels and fish from Italian coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 1991 pp 10-14. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0025326X9190438X>
- [12] Martella L., Nelli L., Bargagli R. (1997). Trace metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* Lam. From the Salento Coast. *Acqua & Aria* 1997, pp 111-117. <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/526612>
- [13] Cantillo A.Y. (1998). Comparison of results of Mussel Watch Programs of the United States and France with Worldwide Mussel Watch Studies. *Marine pollution Bulletin*, 1998, pp 712-717. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X98000496>
- [14] Zingone, A., Siano, R., D'Alelio, D., Sarno, D. (2006). Potentially toxic and harmful microalgae from coastal waters of the Campania region (Tyrrenian Sea, Mediterranean Sea). *Harmful Algae*. 5, 321-337. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568988305000892?via%3Dihub>
- [15] Tsikoti, C.; Genitsaris, S. (2021). Review of Harmful Algal Blooms in the Coastal Mediterranean Sea, with a Focus on Greek Waters. *Diversity* 2021, 13, 396. <https://doi.org/10.3390/d13080396>
- [16] CNR-IRBIM (2024). Mortalità di massa del mosciolo selvatico del Conero. <https://www.irbim.cnr.it/mortalita-di-massa-del-mosciolo-selvatico-del-conero/>
- [17] [ISPRA, Annuario dei dati ambientali. Bilancio di azoto e fosforo da impianti di acquacoltura in ambiente marino. <https://indicatoriambientali.isprambiente.it/it/acquacoltura/bilancio-di-azoto-e-fosforo-da-impianti-di-acquacoltura-ambiente-marino>](#)
- [18] Palmerini R., Bianchi C.N. (1994). Biomass measurements and weight-to-weight conversion factors: a comparison of methods applied to the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biology*, 120: 273-277. <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/1994MarBi.120..273P/abstract>
- [19] Smaal A.C., Vonck A.P.M.A. (1997). Seasonal variation in C, N and P budgets and tissue composition of the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 153: 167-179. <https://www.int-res.com/articles/meps/153/m153p167.pdf>
- [20] Martini A., Cali M., Capoccioni F., Martinoli M., Pulcini D., Buttazzoni L., Moranduzzo T., Pirlo G. (2022). Environmental performance and shell formation-related carbon flows for mussel farming systems. *Sci. Total Environ.*, 831. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35364169/>
- [21] Tamburini E., Turolla E., Lanzoni M., Moore D., Castaldelli G. (2022). Manila clam and Mediterranean mussel aquaculture is sustainable and a net carbon sink. *Sci. Total Envir.*, 848. <https://pdf.sciencedirectassets.com/271800/1-s2.0-S0048969722X00387/>
- [22] Bertolini C., Pastres R., Brigolin D. (2023). Modelling CO₂ budget of mussel farms across the Mediterranean Sea. *Ambio*, 2023, 52: 2023-2033. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10654326/pdf/13280_2023_Article_1900.pdf
- [23] Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste. Programma operativo del FEAMPA 2021-2027. <https://www.feampa.it/>
- [24] Marino G., Petochi T., Cardia F. (2020). "Assegnazione di Zone Marine per l'Acquacoltura (AZA). Guida Tecnica", 214 p., Documenti Tecnici ISPRA 2020. https://www.isprambiente.gov.it/files2020/pubblicazioni/documenti-tecnici/guida-tecnica-aza_ispra-mipaaf_01-12-20_con-presentazioni-dg_compressed.pdf

Progetto SoCAM: confronto delle performance ambientali tra filiera convenzionale e sand-nursery nella produzione di giovanili di vongola verace filippina (*Ruditapes philippinarum*)

A. Martini¹, L. Ferrarese², F. Ortu², P. Landri², D. Pulcini¹

¹⁾ CREA, Centro di Ricerca Zootecnica e Acquacoltura, Via Salaria 31, 00015 Monterotondo (RM);

²⁾ Ecotapes Soc. Agr. Srl, Via Canal di Valle 5/C, 30015 Chioggia (VE)

Keywords: vongola, giovanili, pre-ingrasso, sand-nursery

Introduzione

Tradizionalmente, l'allevamento di vongola si compone di tre fasi: 1) reperimento del seme (reclutamento naturale o schiuditoio), 2) preingrasso (raceways e/o FLUPSY fino alla taglia T3), 3) semina in laguna fino al raggiungimento della taglia commerciale (>25 mm). Dal 2014 al 2023, le produzioni di vongola verace filippina (*R. philippinarum*) hanno subito un declino di circa il 36% [1], a causa dell'aumento della temperatura delle acque con conseguenti situazioni di anossia e dell'attività predatoria da parte di specie alloctone invasive, come il granchio blu (*Callinectes sapidus* Rathbun, 1896). Questi fattori incidono sia sulla disponibilità di seme naturale sia sulla sopravvivenza degli individui seminati in laguna. Sono state stimate riduzioni fino al 100% della raccolta in alcune lagune venete e un drastico calo di seme naturale in Emilia-Romagna dovuti alla predazione da granchio blu [2, 3]. Il progetto SoCAM (Sostenibilità Circolare Allevamento Molluschicoltura, iNEST Spoke 7, progetto ECS00000043) mira a valutare le performance produttive e ambientali di un modello alternativo di filiera proposto da Ecotapes S.r.l., basato su sistemi di pre-ingrasso in bacini a terra con fondale sabbioso (sand-nurseries), confrontandolo con l'attuale filiera convenzionale. Questo approccio si propone di produrre grandi biomasse di giovanili alla taglia T10, al fine di approvvigionare la filiera dell'ingrasso con quantità certe di seme ad una taglia che si ipotizza sia meno soggetta alla predazione da granchio blu. Sistemi di produzione di vongola verace maggiormente controllati dall'uomo e protetti da fattori ambientali avversi si rendono sempre più necessari per garantire la sopravvivenza di questa filiera.

Summary

Over the past decade, the production of Manila clams in Italy's Po Delta has declined by 36% (2014-2023). This decline is primarily attributed to the effects of climate change and predation by the invasive blue crab. These pressures have reduced the availability of natural clam seed and increased mortality among adult clams. The SoCAM project aims to assess the environmental sustainability of the conventional production chain and evaluate an alternative approach developed by Ecotapes S.r.l.: the sand-nursery system, which uses sandy-bottomed basins for pre-fattening juvenile clams. This controlled environment allows clams to grow to larger sizes (T10), increasing their resistance to predators and harsh conditions once transplanted to natural lagoon areas.

Materiali e metodi

Le performance ambientali della filiera di Ecotapes Soc. Agr. Srl sono state analizzate con la metodologia del *Life Cycle Assessment* (ISO 14040 e 14044, 2006), attraverso un approccio *from cradle-to-gate* e allocazione di massa. Le unità funzionali scelte sono a) 1 kg e b) 1000 pezzi di giovanili di vongola verace filippina pronti alla semina. I dati sono stati reperiti tramite interviste con il personale aziendale e attraverso database; è stato utilizzato il software Simapro 10.2.0.2. La filiera convenzionale è composta da 1) impianto di produzione di seme in schiuditoio olandese, 2) stabilimento di pre-ingrasso fino alla taglia T3, nell'area del Delta del Po. L'azienda ha implementato un sistema di pre-ingrasso in *sand-nursery* che consentirebbe di produrre quantità significative di giovanili T10, partendo da una taglia T3, in 5-9 mesi (a seconda della stagione). Questa fase di pre-ingrasso a terra in ambiente seminaturale rappresenta uno step aggiuntivo alle consolidate fasi di produzione di giovanili di vongola (da T0,5 a T3). Il pre-ingrasso in sand-nursery si trova in uno stadio pilota. In questo lavoro sono stati utilizzati i dati produttivi dell'impianto pilota per stimare la resa del sistema ottimizzato, al fine di valutarne gli impatti.

Risultati e discussione

La prova di produzione di giovanili di vongola T10 in sand-nursery ha permesso di stimare una produzione di circa 120 t di vongole T10, pari a circa il 70% degli individui seminati alla taglia T3 in un periodo di 7-8 mesi (inverno-primavera). Questo dato è stato utilizzato per modellizzare lo scenario LCA della produzione in sand-nursery. I risultati di impatto ambientale relativi alla produzione di individui T3 (filiera convenzionale) e T10 (filiera alternativa) sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1 Life Cycle Impact Assessment relativa alla produzione di 1 kg di giovanili pronti alla semina della filiera Ecotapes e contributo relativo della produzione della taglia T3 (prodotto principale, 22% della produzione).

Impact category	Unit	T3 (25.000 pc/kg)		T10 (1.000 pc/kg)
		<i>1 kg</i>	<i>1.000 pc</i>	<i>1 kg / 1.000 pc</i>
Global warming (GW)	kg CO ₂ eq	6,83E+00	2,73E-01	1,07E+00
Terrestrial acidification (TA)	kg SO ₂ eq	1,88E-02	7,53E-04	3,43E-03
Freshwater eutrophication (FE)	kg P eq	3,50E-03	1,40E-04	4,75E-04
Marine eutrophication (ME)	kg N eq	2,77E-04	1,11E-05	3,00E-05
Land use (LU)	m ² a crop eq	3,23E-01	1,29E-02	6,25E-01
Water consumption (WC)	m ³	1,00E-01	4,02E-03	1,50E-02
Abiotic depletion (AD)	kg Sb eq	1,23E-04	4,93E-06	2,44E-05
Cumulative Energy Demand (CED)	MJ	1,51E+02	6,02E+00	2,48E+01

L'analisi evidenzia che il consumo di energia elettrica rappresenta il maggior driver degli impatti sia per la produzione di seme che di vongola T3 e T10 (tra il 20 e il 78% a seconda della categoria di impatto considerata e della fase di filiera). L'ossigeno liquido contribuisce per il 6% e 19% alla categoria WC per T10 e T3, rispettivamente, e l'impianto fotovoltaico per il 4% e 17% nella categoria AD per prodotto T10 e T3, rispettivamente. Sarà necessario verificare in futuro il bilancio tra i vantaggi in termini di produzioni di vongola a taglia commerciale di queste nuove modalità di pre-ingrasso in condizioni controllate e impatti ambientali ad esse associati.

Bibliografia

- [1] https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/fish_aq2a/default/table?lang=en&category=fish.fish_aq
- [2] Chiesa, S., Petochi, T., Brusà, R. B., Raicevich, S., Cacciatore, F., Franceschini, G., ... & Marino, G. (2025). Impacts of the blue crab invasion on Manila clam aquaculture in Po Delta coastal lagoons (Northern Adriatic Sea, Italy). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 312, 109037.
- [3] Turolla, E., 2024. Correlazioni tra la diffusione del granchio blu (*Callinectes sapidus*) e il collasso della venericoltura emiliano-romagnola. RELAZIONE TECNICA, p. 9. BANDO MASAF DM 628456/2023.

Strategie di priming come mitigazione agli effetti delle ondate di calore sulla vongola verace (*Ruditapes philippinarum*)

C. Mascitelli^{1,2}, G. Monticelli¹, A. Nardi³, G. Dalla Rovere¹, I. Bernardini¹, L. Peruzza¹, D. Cesaroni³, V. Tavolazzi³, T. Patarnello¹, L. Bargelloni¹, M. Benedetti³, M. Milan¹

¹⁾ Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova (Legnaro, PD);

²⁾ Scuola Galileiana di Studi Superiori (Padova, PD);

³⁾ Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche (Ancona, AN)

Keywords: cambiamento climatico, bivalvi, priming, risposta allo stress

Introduzione

La vongola verace (*Ruditapes philippinarum*) è un mollusco bivalve di grande importanza economica ed ecologica. L'Italia è il principale produttore europeo, ed è seconda soltanto alla Cina a livello mondiale. Il cambiamento climatico, caratterizzato da un aumento della temperatura media globale, sta avendo un impatto significativo sugli ambienti marini. In particolare, le ondate di calore marine (marine heatwaves), definite come periodi prolungati di temperature anormalmente elevate dell'acqua e strettamente collegate al cambiamento climatico, possono avere effetti deleteri sugli ecosistemi e sulle produzioni animali. In particolare, tali eventi estremi sono sempre più spesso responsabili di elevate mortalità nelle popolazioni naturali e allevate di molluschi bivalvi. In questo contesto è urgente sviluppare strategie e metodiche volte a mitigare gli effetti del cambiamento climatico. Tra gli approcci che si stanno dimostrando promettenti, il "priming", ossia l'esposizione controllata a uno stress sub-letale capace di potenziare la resilienza degli organismi a successive sfide ambientali, sta guadagnando sempre maggiore attenzione. In particolare, il priming termico è già stato sperimentato con risultati incoraggianti, mentre il priming chimico, sebbene ampiamente utilizzato in agricoltura sulle piante, non è mai stato applicato prima a specie animali. In questo lavoro, il priming chimico mediante perossido di idrogeno (H_2O_2) è stato testato per la prima volta nella vongola filippina, confrontato e combinato con il priming termico. Dopo il priming, gli animali sono stati esposti a due ondate di calore simulate in laboratorio. Un secondo batch di vongole, dopo essere stato sottoposto al priming, è stato invece trasferito in aree di allevamento per l'intero periodo estivo.

Summary

The Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) is a bivalve species of both ecological and economic importance, widely exploited in global seafood markets and commonly used as a sentinel organism. Climate change, particularly marine heatwaves, poses severe threats to bivalve populations, often leading to mass mortality events. To address this challenge, priming (i.e. controlled exposure to sub-lethal stress) has been proposed as a potential mitigation strategy. In this study, Manila clams were subjected to different priming treatments: thermal priming, chemical priming with hydrogen peroxide, and their combination, compared with untreated controls. After a priming period and subsequent recovery, clams were exposed to two consecutive and simulated heatwaves. Clam performance was evaluated across multiple biological levels, including survival, condition index, burrowing activity, and transcriptomic/biomarker responses.

Materiali e Metodi

L'esperimento è stato condotto su un batch di individui di *Ruditapes philippinarum* suddivisi in quattro gruppi sperimentali: (1) controllo – nessuna esposizione a priming; (2) priming termico – esposizione a stress termico sub-letale; (3) priming chimico – esposizione a perossido di idrogeno (H_2O_2) a concentrazioni sub-letali; (4) priming misto – esposizione combinata a entrambi gli stress sub-letali. Ciascun trattamento (priming) è stato condotto per una durata di 7 giorni, seguita da un periodo di riposo di 7 giorni. Successivamente, i quattro gruppi di vongole sono stati sottoposti a due ondate di calore consecutive, ciascuna della durata di 14 giorni, con temperature comprese tra 31 e 34 °C (prima ondata) e tra 31 e 35°C (seconda ondata). Lo stato di salute degli animali è stato valutato a diversi livelli di organizzazione biologica, includendo: monitoraggio della sopravvivenza per l'intera durata dell'esperimento, calcolo dell'indice di condizione (CI), test di infossamento (burrowing test), analisi trascrittomiche e test biochimici sui tessuti raccolti. Le analisi sono state condotte al termine del periodo di priming e al termine di ciascuna delle due ondate di calore simulate. Inoltre, i trattamenti di priming chimico, termico e combinato sono stati testati anche su animali successivamente mantenuti, durante il periodo estivo, in condizioni naturali presso un'area di allevamento della laguna di Venezia.

Risultati e discussione

L'analisi dell'indice di condizione (CI) non ha evidenziato differenze significative tra i gruppi esposti a priming e i controlli dopo le ondate di calore. Tuttavia il test di infossamento ha mostrato alcune differenze significative tra i gruppi. In particolare dopo la fase di priming, gli individui sottoposti a priming termico hanno evidenziato un tempo di infossamento maggiore rispetto ai controlli, indicando un possibile effetto negativo immediato

dello stress termico sulla performance comportamentale. Tuttavia, a metà della prima ondata di calore, tali differenze si sono attenuate, con un recupero delle prestazioni fino a valori paragonabili ai controlli. Al contrario il gruppo sottoposto a priming chimico ha dimostrato tempi di infossamento inferiori rispetto agli altri gruppi in particolare nelle prime fasi di esposizione all'ondata di calore, suggerendo un effetto benefico del trattamento con perossido di idrogeno nella risposta a stress termici. Nelle fasi successive, e in particolare dopo l'esposizione a una seconda ondata di calore, tuttavia, non si sono evidenziate differenze significative tra i gruppi, suggerendo un effetto benefico temporaneo.

Le analisi di espressione genica mediante GSEA hanno rivelato che tutti i trattamenti hanno indotto una marcata risposta molecolare dopo il priming, in particolare in seguito al priming termico, la quale tende tuttavia a svanire o ridursi nel corso delle due esposizioni. Complessivamente, il priming chimico, sebbene caratterizzato da alcune peculiarità specifiche, ha attivato un numero inferiore di pathway rispetto al priming termico. I principali pathway coinvolti riguardano la risposta allo stress (inclusa l'induzione delle heat shock proteins nel priming termico), il metabolismo centrale e lipidico, processi di immunosoppressione e riorganizzazione cellulare, la protezione della matrice extracellulare e il rafforzamento delle barriere epiteliali. Sono emersi inoltre segnali di rimodellamento tessutale e sistemico, insieme a modificazioni legate al comportamento e all'attività neuronale, potenzialmente associate al burrowing più rapido osservato nei gruppi sottoposti a priming chimico.

Il priming chimico suggerisce quindi complessivamente risultati promettenti, in particolare la capacità di indurre risposte peculiari sia a livello comportamentale sia molecolare, con possibili implicazioni nell'adattamento a condizioni di stress. Tuttavia, saranno necessarie ulteriori sperimentazioni per perfezionare la metodica (ad esempio modificando concentrazioni o durata del trattamento) e ottenere effetti benefici più duraturi.

Oceanografia operativa e dati di pianificazione dello spazio marittimo a supporto delle AZA: il caso studio della Regione Emilia-Romagna

M. Mazzotta¹, M. Bocci¹, E. Cahís I Reixach¹, A. Fudoli¹, S. Menegon², S. Sottoriva², S. Rampoldi¹, D. Brigolin¹

¹⁾Università Iuav di Venezia, Dorsoduro, Venezia, Italy

²⁾CNR-Ismar, Castello, Venezia, Italy.

Keywords: AZA, MSP, oceanografia operativa, modelli bioenergetici, partecipazione

Introduzione

Le Zone Allocate all'Acquacoltura (AZA) rappresentano uno strumento strategico per lo sviluppo sostenibile del settore nel Mar Mediterraneo (Macias et al., 2019). L'identificazione e la pianificazione delle AZA, in corso in tutto il bacino mediterraneo, devono affrontare sfide significative, quali la necessità di conciliare gli obiettivi di conservazione, le attività marittime esistenti e la resilienza ai cambiamenti climatici. In questo contesto, l'impiego di dati geospatiali open access costituisce una risorsa strategica. Nel presente contributo, sono stati applicati e confrontati diversi approcci di utilizzo dei dati open access attraverso modelli matematici e statistici, analizzando le mappe spaziali prodotte e identificando le principali lacune conoscitive.

Summary

This contribution applied and compared different approaches to the exploitation of open-access geospatial data through mathematical and statistical models, producing spatial maps and identifying key knowledge gaps for AZA planning. The study integrated data from Copernicus Marine Service, EMODnet and ARPAE, combining environmental parameters, maritime uses and constraints, and aquaculture-specific indicators. The analyses generated a comprehensive set of thematic maps, including constraints mapping, 10-year climatologies of chlorophyll-a, nutrients, salinity and dissolved oxygen, extreme events such as marine heatwaves and hypoxia, bioenergetic simulations of mussel growth, biodeposition fluxes, and infrastructure accessibility. Results highlight the potential of these integrated tools to provide transparent and reproducible evidence for decision-making, while also underlining the need for higher-resolution data on extreme conditions and cumulative impacts. Future developments will focus on the use of this methodological framework for participatory mapping and stakeholder engagement, to support adaptive and climate-resilient aquaculture planning in the Mediterranean.

Materiali e Metodi

Il caso studio è stato sviluppato nell'ambito del progetto AZA-RER (PN FEAMPA 2021–2027), con riferimento alla Regione Emilia-Romagna, principale polo italiano per la molluscoltura (*Mytilus galloprovincialis*, *Ruditapes philippinarum*, *Crassostrea gigas*). Nel 2024 erano attive 185 concessioni, concentrate soprattutto sulla vongola verace (128) e sui mitili (43, in alcuni casi integrate con ostriche). La produzione annua nel periodo 2020–2024 ha oscillato tra 18.000–22.000 t di mitili e 10.000–13.000 t di vongole, con un crollo a ~4.000 t nel 2024 a causa dell'invasione del granchio blu; le ostriche hanno raggiunto solo poche decine di tonnellate. Complessivamente, il settore impiega circa 2.000 addetti diretti, confermando la sua rilevanza economica e sociale.

Oltre al comparto produttivo, è stato analizzato il contesto ambientale e spaziale, utilizzando dati open-access e operativi. Sono stati integrati dataset del Copernicus Marine Service (CMS) (SST, clorofilla-a, nutrienti, ossigeno, salinità), di EMODnet (batimetria) e di ARPAE Emilia-Romagna (modellistica idrodinamica ROMS+SWAN). Le elaborazioni hanno riguardato: media mensile dell'altezza d'onda significativa; mediana climatologica decennale di clorofilla-a e nutrienti; valori minimi decennali di ossigeno e salinità; e durata massima di periodi consecutivi con SST ≥ 28 °C, parametro critico per il metabolismo e l'ancoraggio dei mitili (Galli et al., 2017).

Su questa base sono stati applicati tre strumenti modellistici e spaziali:

1. il modello bioenergetico RAC (*R package for AquaCulture*; Baldan et al., 2018), per simulare la crescita dei mitili sulla base di SST e clorofilla-a giornalieri;
2. un modello di biodeposizione lagrangiano (*Depomod-like*; Cromey et al., 2002), sviluppato in Python, per stimare i flussi di materiale organico al fondale;
3. un'analisi GIS di accessibilità, per calcolare le distanze dai principali porti, centri di depurazione e nodi logistici.

Risultati e Discussione

Le analisi hanno prodotto un insieme di mappe tematiche che costituiscono la base conoscitiva per l'individuazione delle AZA. La mappatura di usi e vincoli ha permesso di distinguere aree non compatibili (es. militari, zone protette), potenzialmente compatibili (es. turismo, patrimonio culturale) e compatibili, con l'applicazione di buffer per ridurre conflitti e garantire la sicurezza delle produzioni.

Le mappe ambientali hanno sintetizzato sia lo stato medio sia le condizioni estreme dell'area marina. In particolare, l'analisi della media mensile dell'altezza d'onda ha fornito indicazioni sul grado di esposizione delle aree offshore, utile per la valutazione della sicurezza degli impianti; le mediane decennali di clorofilla-a e nutrienti hanno descritto la produttività primaria e la disponibilità trofica per i molluschi; i minimi decennali di salinità e ossigeno dissolto hanno evidenziato le zone più vulnerabili a ipossia ed eventi di diluizione fluviale; infine, il numero massimo di giorni consecutivi con SST ≥ 28 °C ha permesso di identificare aree soggette a stress termico prolungato, critico per il metabolismo dei mitili e la stabilità del bisso.

L'applicazione dei modelli ha aggiunto una dimensione predittiva e gestionale. Il modello bioenergetico RAC ha fornito mappe di indicatori di crescita dei mitili, come la lunghezza finale della conchiglia e il tempo necessario a raggiungere la taglia di mercato, supportando valutazioni di idoneità produttiva attuale e prospettica. Il modello di biodeposizione lagrangiano ha simulato il destino dei biodepositi, evidenziando i gradienti spaziali di accumulo di materiale organico sul fondale e identificando aree a potenziale maggiore impatto bentonico. L'analisi GIS di accessibilità ha quantificato le distanze tra i siti di allevamento e le principali infrastrutture costiere (porti, centri di depurazione, nodi logistici), sottolineando come la prossimità o meno alle reti di supporto influenzi la sostenibilità economica e la competitività delle aree candidate.

Nel complesso, i risultati dimostrano come l'integrazione di dati open-access, modellistica e rappresentazioni in GIS consenta di delineare un quadro conoscitivo multidimensionale, trasparente e riproducibile per la pianificazione delle AZA. Restano però criticità legate alla necessità di dati ad alta risoluzione e alla valutazione degli impatti cumulativi. Gli sviluppi futuri riguarderanno l'uso di questo approccio in processi di mappatura partecipata, coinvolgendo gli stakeholder per validare le analisi, integrare conoscenze locali e costruire scenari di pianificazione più condivisi e adattivi.

Bibliografia

- [1] Baldan D, Porporato EMD, Pastres R, Brigolin D (2018) An R package for simulating growth and organic wastage in aquaculture farms in response to environmental conditions and husbandry practices. *PLoS ONE* 13(5): e0195732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195732>
- [2] Cromey CJ, Nickell TD, Black KD (2002) DEPOMOD—Modelling the deposition and biological effects of waste solids from marine cage farms. *Aquaculture*, 214(1–4), 211–239. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00368-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00368-X)
- [3] Galli G, Solidoro C and Lovato T (2017) Marine Heat Waves Hazard 3D Maps and the Risk for Low Motility Organisms in a Warming Mediterranean Sea. *Front. Mar. Sci.* 4:136. doi: <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00136>
- [4] Macias, J. C., Avila Zaragozá, P., Karakassis, I., Sanchez-Jerez, P., Massa, F., Fezzardi, D., Yücel Gier, G., Franičević, V., Borg, J. A., Chapela Pérez, R. M., Tomassetti, P., Angel, D. L., Marino, G., Nhhala, H., Hamza, H., Carmignac, C., & Fourdain, L. (2019). Allocated zones for aquaculture: A guide for the establishment of coastal zones dedicated to aquaculture in the Mediterranean and the Black Sea (Studies and Reviews No. 97). General Fisheries Commission for the Mediterranean, FAO.

La produzione ostricola in Sardegna, una prospettiva di crescita e sviluppo economico per l'isola

S. Murgia¹, I. Viale², N. Arrostuto¹, S. Serra¹, R. Diciotti¹, J. Culurgioni¹, N. Fois¹

¹⁾ AGRIS Sardegna – Servizio Ricerca per i prodotti ittici- Loc. Bonassai S.S. 291 Sassari-Fertilia Km. 18,600 –
Sassari;

²⁾ LAORE Sardegna - Unità organizzativa Sviluppo filiere ittiche - Via Baldedda n. 11 - 07100 Sassari

Keywords: Ostricoltura, Lagune sarde

Introduzione

La produzione mondiale di ostriche nel 2022 ha raggiunto oltre 7 milioni di tonnellate. Nello stesso anno in Europa, la produzione totale è stata di circa 105.000 tonnellate, rappresentata per il 97% dall'ostrica concava *Magallana gigas* (Thunberg, 1973). Nel decennio 2013-2022, sebbene con dimensioni contenute rispetto ad altri paesi, la produzione ostricola europea è aumentata del 14% [1]; In Italia è stato registrato un trend di crescita che ha portato la produzione da 47 tonnellate nel 2012 alle 600 tonnellate nel 2024 (dato stimato Eurostat).

Tra le regioni italiane, la Sardegna presenta caratteristiche geografiche particolarmente favorevoli allo sviluppo dell'ostricoltura, sia per l'estensione costiera di circa 1850 Km che per la presenza di circa 60 ambienti umidi, tra stagni e lagune, che coprono una superficie complessiva di circa 15.000 ettari. Tra le zone umide, una 30 per una superficie complessiva di circa 9.000 ha, sono attualmente date in concessione dalla Regione Sardegna a cooperative o consorzi di pescatori. Questi ambienti sono rilevanti per la produzione ittica e spesso offrono condizioni ottimali per l'allevamento dell'ostrica concava (*Magallana gigas*) [2]. Nel 1992 si registrava una modesta produzione di ostriche di circa 3 tonnellate, mentre attualmente l'isola rappresenta una realtà significativa nel panorama nazionale dell'ostricoltura, con una produzione annua di circa 300 tonnellate (dati AGRIS e LAORE).

Summary

Global oyster production reached over 7 million tonnes in 2022, marking a 47% increase. In Europe, total production amounted to 104,117 tonnes, with the Pacific oyster *Magallana gigas* (Thunberg, 1973) being the dominant species, accounting for 97% of the volume produced in 2022.

Although modest in scale, European oyster production grew by 14% over the decade from 2013 to 2022. In Italy, oyster production has shown a significant upward trend, rising from 47 tonnes in 2012 to an estimated 600 tonnes in 2024 (Eurostat data).

Sardinia, characterized by its insularity, central location, and approximately 1,850 km of coastline, presents highly favorable geographic conditions for oyster farming. The region is also home to around 60 wetlands, including lagoons and coastal ponds, covering a total area of approximately 15,000 hectares.

These ecosystems are of considerable ecological and productive importance. Of these wetlands, about 30 covering a total of approximately 9,000 hectares are currently under concession from the Sardinian Regional Government to fishermen's cooperatives. These lagoon environments are particularly suitable for the cultivation of the Pacific oyster (*Magallana gigas*) due to their optimal ecological conditions. At present, Sardinia represents a key player in the national oyster farming sector, with an annual production of approximately 300 tonnes (AGRIS and LAORE data).

Materiali e metodi

Il presente studio analizza l'evoluzione della diffusione degli impianti e delle produzioni ostricole nei compendi ittici della Sardegna negli ultimi dodici anni (2013 - 2024), attraverso l'elaborazione di dati ottenuti mediante la somministrazione di questionari ai produttori e l'analisi delle statistiche di pesca messe a disposizione dal Servizio pesca e acquacoltura della regione Sardegna, con particolare attenzione a: Golfo di Olbia (SS) (superficie di 150 ha concessi per attività di molluscoltura, cozze e ostriche); Laguna di San Teodoro (SS) (superficie di 230 ha), situato a 4 km dalla omonima cittadina; Laguna di Tortoli (NU) (superficie 270 ha), situata lungo la costa orientale; Laguna di San Giovanni di Muravera (CA) (superficie 140 ha), a circa 4 km dal centro abitato di Muravera; Laguna di Feraxi (CA) (superficie 80 ha) a circa 18 km dal centro abitato di Muravera; Laguna di Santa Gilla (CA) (superficie 1.800 ha), nei pressi della città di Cagliari; Laguna di Calich (SS) (superficie 96), nella città di Alghero; Laguna di Porto Pozzo (SS) (superficie 80 ha) a pochi km da Santa Teresa di Gallura [3].

Risultati e discussione

Dall'analisi dei dati raccolti si evidenzia come lo sviluppo dell'ostricoltura in Sardegna mostri una crescita significativa del settore nel corso dell'ultimo decennio, con una produzione media di circa 300 tonnellate nel 2024. Parallelamente, si è osservato un incremento sostanziale del numero di impianti di allevamento presenti

sul territorio, passando da soltanto 2 impianti attivi (presso la laguna di San Teodoro e la Laguna di Tortolì) nel 2016 [4] a circa 21 nel 2024, a testimonianza di un crescente interesse imprenditoriale per l'ostricoltura e di un'evoluzione strutturale del settore.

Tra i vari siti esaminati la laguna di Tortolì si distingue per la sua elevata produzione che nel periodo compreso tra il 2016 e il 2024, ha registrato un trend di crescita significativo, passando da una produzione annua media di circa 49 tonnellate a circa 81. Dal 2016, la laguna di San Teodoro registra una produzione media di circa 30 tonnellate. Nel Golfo di Olbia, invece, la produzione si attesta mediamente intorno alle 5 tonnellate a partire dal 2019. Nello stesso periodo, la laguna di Santa Gilla ha registrato una media annuale di circa 8 tonnellate, mentre le lagune di Porto Pozzo, San Giovanni e Feraxi hanno riportato volumi produttivi inferiori, con medie rispettive di 5, 2 e 1 tonnellata all'anno.

Nella Figura 1 è riportata l'evoluzione degli impianti di allevamento di ostriche registrati nel 2016 (A) e confrontati con quelli rilevati nel 2024 (B), dove si evince la notevole crescita degli stessi negli anni.

Nel panorama nazionale quindi, la Sardegna si distingue come una realtà ostricola in forte sviluppo con importanti ricadute a livello economico e occupazionale all'interno del settore.

L'analisi condotta conferma la necessità di continuare a sostenere il settore attraverso politiche mirate, investimenti in ricerca, innovazione tecnologica e tutela ambientale, al fine di consolidare i risultati ottenuti e promuovere un ulteriore sviluppo sostenibile della filiera ostricola regionale.

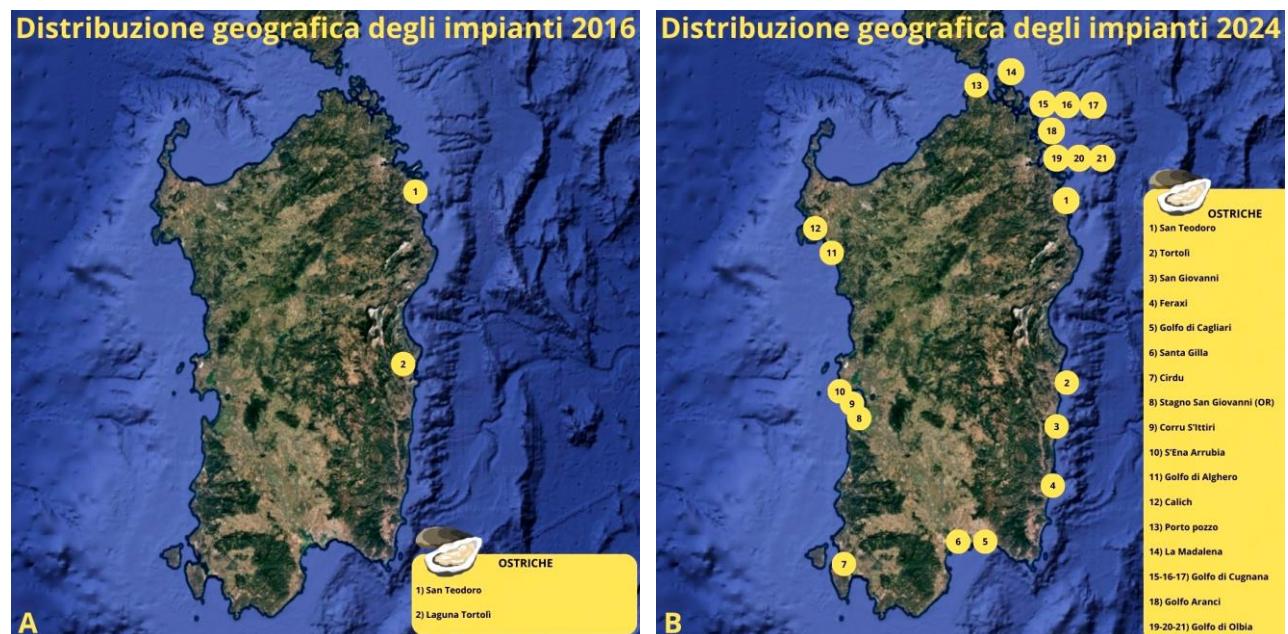


Fig.1 Aziende produttrici di ostriche in Sardegna nel 2016 (A) e nel 2024 (B)

Bibliografia

- [1] European Market Observatory for fisheries and aquaculture products (EUMOFA) (2024). Oysterspublications.
- [2] Alessandra Fenza, Giuseppe Olla, Fulvio Salati, Iolanda Viale (2014). Stagni e lagune produttive della Sardegna.
- [3] Riccardo Diciotti, Jacopo Culurgioni (2024). Indagine conoscitiva sullo stato dei compendi lagunari e fluviali della Sardegna.
- [4] Iolanda Viale, Giuseppe Olla, Fulvio salati (2016). Acquacoltura in Sardegna.

L'allevamento dell'ostrica come strategia resiliente al cambiamento climatico: valutazione delle performance ambientali in diversi contesti produttivi

R. Napolitano^{1,2}, A. Martini¹, F. Capoccioni¹, D. Pulcini¹

¹⁾ Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA) Centro di ricerca "Zootecnia e Acquacoltura" Via Salaria 31, 00015 - Monterotondo (Roma) – ITALY

²⁾ Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, Scotland, United Kingdom

Keywords: ostricoltura, *Life Cycle Assessment*, resilienza, sostenibilità, impatti ambientali

Introduzione

La produzione di molluschi bivalvi contribuisce per circa il 34% alla produzione totale di acquacoltura dell'Unione Europea (EUROSTAT, ultimo accesso 23/07/2025). L'Italia si colloca tra i principali produttori dell'UE, con una produzione complessiva nel 2023 di circa 75.000 tonnellate, di cui oltre 50.000 di mitilo mediterraneo (*Mytilus galloprovincialis*), e circa 23.000 di vongola filippina (*Ruditapes philippinarum*) (EUROSTAT, ultimo accesso 23/07/2025).

Negli ultimi anni, tuttavia, il comparto della mitilicoltura sta affrontando gravi criticità legate agli effetti del cambiamento climatico. Le ondate di calore frequenti e prolungate hanno determinato perdite di prodotto fino al 70% in alcune aree del nord Adriatico (ARPAE Emilia-Romagna, 2022). Parallelamente, le produzioni di vongola filippina risultano in progressivo declino, a causa del deterioramento degli habitat lagunari, della drastica riduzione della disponibilità di seme naturale e della crescente pressione predatoria esercitata dal granchio blu (*Callinectes sapidus*) (Chiesa et al., 2025; Avdelas et al., 2021).

In questo scenario, l'ostricoltura italiana sta conoscendo una fase di espansione. La produzione di ostriche, fino a pochi anni fa marginale, ha toccato le 480 tonnellate nel 2022, con un incremento di oltre il 50% rispetto al 2020 (EUROSTAT, ultimo accesso 23/07/2025). Tale crescita è sostenuta da un lieve aumento della domanda interna; tuttavia, non è sufficiente a soddisfare quest'ultima, rendendo necessaria una consistente importazione di prodotto dall'estero, in particolare dalla Francia.

L'ostrica concava (*Magallana gigas*) presenta caratteristiche biologiche che la rendono particolarmente adatta ad un'acquacoltura che si configuri come resiliente al cambiamento climatico: elevata tolleranza agli stress termici e salini, rapida crescita, possibilità di selezionare ceppi resistenti, dato l'approvvigionamento del seme da schiuditoio, a differenza di quanto accade per mitilo e vongola (Neokyte et al., 2024). Queste caratteristiche, unite al valore economico elevato del prodotto finito, alle ottime qualità nutrizionali e al basso impatto ambientale della filiera produttiva, ne fanno una potenziale risorsa strategica per la diversificazione delle produzioni di bivalvi in Italia (Negara et al., 2022).

Il vasto areale di distribuzione dell'allevamento di ostrica concava, unito alla molteplicità di sistemi di allevamento, rende questa specie un caso studio ideale per indagare gli impatti della sua produzione in differenti scenari climatici.

Obiettivo di questo studio è misurare l'impronta ambientale dell'ostrica allevata in ambienti e con livelli tecnologici differenti e, partendo da casi studio reali, ipotizzare scenari alternativi volti a migliorare le performance ambientali dei vari allevamenti.

Materiali e Metodi

Lo studio prevede l'analisi delle performance ambientali di tre allevamenti di ostrica concava, che si differenziano per l'ambiente e le tecnologie adottate: Giulianova – longlines (co-produzione di mitilo mediterraneo); Sacca di Scardovari – metodo Tabouriech (simulazione degli effetti di marea); Scozia (Kyle di Durness) – poches su trestles in ambiente intertidale. Per confrontare questi tre casi studio è stata adottata la metodologia dell'Analisi del Ciclo di Vita (Life Cycle Assessment – LCA, ISO 14040/44). Questo metodo permette un'analisi quantitativa degli impatti ambientali associati ad un prodotto (o servizio). Per l'analisi è stato utilizzato il software SimaPro 9.5.0.1 (PR'e Consultants), il metodo ReCiPe 2016 Midpoint (H) v.1.08, Cumulative Energy Demand v.1.12, CML-A baseline è stato scelto come metodo, con le relative categorie d'impatto: Global Warming (GW), Terrestrial Acidification (TA), Marine Eutrophication (ME), Land Use (LU), e Water Consumption (WC), Abiotic resource depletion (ARD) e Cumulative Energy Demand (DEB), tra le più utilizzate in studi affini (Ruiz-Salmon et al., 2021). L'unità funzionale adottata è 1kg di ostriche pronte per il commercio. Alla luce dei risultati ottenuti, e dei principali hotspot di filiera, sono stati modellizzati diversi scenari per valutare l'efficacia di quattro strategie di mitigazione degli impatti: 1) l'impiego di energie rinnovabili (solare o eolico), 2) l'impiego di imbarcazioni elettriche, 3) l'utilizzo di materiali alternativi alla plastica in impianto, e 4) una diversa collocazione dell'impianto.

Risultati e Discussione

I risultati si confermano in linea con altre analisi presenti in letteratura e confermano le ottime performance ambientali associate alla produzione di ostriche (vedi Tab.1), se confrontate con altre filiere di acquacoltura.

Tabella 2. LCIA per 1 kg di ostriche pronte al consumo.

Impact category	Unit	Long-lines (Giulianova, IT)	Tabouriech (Scardovari, IT)	Trestles (Durness, UK)
Global warming (GW)	kg CO ₂ eq	1.65	2.02	2.02
Terrestrial acidification (TA)	kg SO ₂ eq	5.97E-03	6.61E-03	6.13E-03
Marine eutrophication (ME)	kg N eq	5.18E-04	2.57E-04	1.01E-04
Land use (LU)	m ² a crop eq	8.18E-03	4.60E-01	9.60E-02
Water consumption (WC)	m ³	3.08E-02	2.30E-02	9.97E-03
Abiotic depletion (ARD)	kg Sb eq	1.27E-06	1.65E-05	9.71E-06
Cumulative Energy Demand (CED)	MJ	24.18	36.66	32.90

I tre casi studio hanno fornito risultati simili nelle categorie GW, TA e CED, mentre presentano differenze nelle altre categorie d'impatto. Le diverse fasi della produzione hanno un peso diverso in ciascun caso studio, sebbene la fase di crescita delle ostriche sia quella con il maggior contributo in quasi tutte le categorie d'impatto. Gli input che contribuiscono maggiormente agli impatti variano a seconda della tipologia d'allevamento, ma in linea generale comprendono le strutture di allevamento, l'energia elettrica usata durante la fase di depurazione (Scardovari e Durness), le cassette in legno del packaging di Scardovari, e il carburante utilizzato per le operazioni. Gli scenari evidenziano una diversa efficacia delle strategie di mitigazione a seconda del caso studio, evidenziando la necessità di adottare strategie multiple e specifiche per ogni tipologia d'impianto. In conclusione, lo studio conferma il ridotto impatto ambientale della filiera produttiva dell'ostrica, in differenti ambienti e con tecnologie diverse, mentre gli scenari alternativi proposti aprono ad alcune strategie di mitigazione degli impatti e favoriscono una sempre maggiore resilienza dell'ostricoltura al cambiamento climatico.

Bibliografia

- [1] Chiesa, S., Petochi, T., Brusà, R. B., Raicevich, S., Cacciatore, F., Franceschini, G., ... & Marino, G. (2025). Impacts of the blue crab invasion on Manila clam aquaculture in Po Delta coastal lagoons (Northern Adriatic Sea, Italy). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 312, 109037.
- [2] Avdelas, L., Avdic-Mravlje, E., Borges Marques, A. C., Cano, S., Capelle, J. J., Carvalho, N., ... & Asche, F. (2021). The decline of mussel aquaculture in the European Union: causes, economic impacts and opportunities. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 91-118.
- [3] EUMOFA. (2024). Study on the challenges of aquaculture products in food outlets. Publications Office of the European Union
- [4] EUMOFA. (2022). Oysters in the EU. Price structure in the supply chain. Focus on France, Ireland and The Netherlands. Publications Office of the European Union
- [5] Negara, B. F. S. P., Mohibullah, M. D., Sohn, J. H., Kim, J. S., & Choi, J. S. (2022). Nutritional value and potential bioactivities of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *International Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 5732-5749.
- [6] Neokye, E. O., Wang, X., Thakur, K. K., Quijón, P. A., & Nawaz, R. A. (2024). Climate change impacts on oyster aquaculture-Part II: Impact assessment and adaptation measures. *Environmental Research*, 259, 119535.
- [7] Ruiz-Salmòn, I., Laso, J., Margallo, M., Villanueva-Rey, P., Rodríguez, E., Quinteiro, P., Dias, A.C., Almeida, C., Nunes, M.L., Marques, A., Cortés, A., Moreira, M.T., Feijoo, G., Loubet, P., Sonnemann, G., Morse, A.P., Cooney, R., Clifford, E., Regueiro, L., Aldaco, R., 2021. Life cycle assessment of fish and seafood processed products – a review of methodologies and new challenges. *Sci. Total Environ.* 761. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144094>.

Indicatori biometrici e fisiologici integrati rivelano l'impatto dell'acidificazione indotta dai cambiamenti climatici nel Mare Adriatico sulla produzione del bisso, sul comportamento e sulla biomineralizzazione del guscio della cozza mediterranea (*Mytilus galloprovincialis*)

D. Nordio¹, A. De Marco¹, D. Montroni² G. Falini², L. Mandrioli¹, A. Bonaldo¹

¹⁾ Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

²⁾ Department of Chemistry, University of Bologna, Bologna, Italy

Keywords: Cambiamento climatico, Acidificazione, *Mytilus galloprovincialis*

Introduzione

L'aumento dei livelli atmosferici di CO₂ sta determinando una progressiva acidificazione delle acque marine, con una diminuzione del pH superficiale oceanico stimata tra 0,3 e 0,5 unità entro il 2100. Le attività antropiche hanno già causato una riduzione del pH globale di circa 0,1 unità, con un calo medio di ~0,02 unità per decennio (Doney et al., 2009). Nel Mediterraneo settentrionale, in particolare nell'Adriatico settentrionale, i tassi di acidificazione superano la media globale a causa dell'apporto fluviale che amplifica le fluttuazioni del pH (Cantoni et al., 2024). Questi cambiamenti minacciano gli organismi calcificanti, come i bivalvi, che dipendono dagli ioni carbonato per la formazione del guscio. *Mytilus galloprovincialis*, la cozza mediterranea, riveste un ruolo ecologico di rilievo e rappresenta oltre il 60% della produzione mitilicola italiana. La sua biomineralizzazione, basata sulla deposizione di calcite e aragonite, è altamente sensibile alla diminuzione del pH (Waldbusser et al., 2015), con evidenze sperimentali che mostrano riduzioni della crescita, della capacità filtrante e del metabolismo in condizioni acidificate (Bressan et al., 2014; Qu et al., 2022). Il presente studio indaga gli effetti degli scenari di acidificazione previsti su *M. galloprovincialis* in termini di produzione del bisso, comportamento gregario, integrità del guscio e meccanismi molecolari della calcificazione. Attraverso l'integrazione di indicatori biometrici, fisiologici ed enzimatici, l'obiettivo è migliorare la comprensione delle capacità di adattamento e dei limiti di resilienza della specie, fornendo conoscenze utili a sostenere strategie di acquacoltura sostenibile in scenari climatici futuri.

Summary

Rising atmospheric CO₂ levels are driving the progressive acidification of seawater, with ocean surface pH projected to decline by 0.3–0.5 units by 2100. Human activities have already reduced global ocean pH by about 0.1 units, with an average decline of ~0.02 per decade (Doney et al., 2009). In the northern Mediterranean, particularly the North Adriatic, acidification rates exceed global averages due to riverine input that amplifies pH fluctuations (Cantoni et al., 2024). These changes threaten calcifying organisms such as bivalves, which depend on carbonate ions for shell formation. *Mytilus galloprovincialis*, the Mediterranean mussel, is ecologically relevant and represents over 60% of Italian mussel production. Its biominerization, based on calcite and aragonite, is highly sensitive to decreases in pH (Waldbusser et al., 2015), with experimental evidence showing impaired growth, filtration, and metabolism under acidified conditions (Bressan et al., 2014; Qu et al., 2022). This study investigates the impacts of projected acidification scenarios on *M. galloprovincialis* byssus production, gregarious behaviour, shell integrity, and molecular mechanisms of calcification. By integrating biometric, physiological, and enzymatic indicators, we aim to improve understanding of the species' adaptability and resilience, supporting sustainable aquaculture strategies under future climate conditions.

Materiali e metodi

Giovanili di cozza mediterranea (*Mytilus galloprovincialis*) (n = 288; lunghezza media del guscio 3,5 ± 0,5 mm) sono stati raccolti da un impianto di mitilicoltura commerciale nell'Adriatico settentrionale, puliti e acclimatati per una settimana in acquari controllati alle condizioni di base (24 °C, salinità 27 ‰, pH 8,2). Dopo la marcatura e la rimozione dei fili di bisso, i mitili sono stati distribuiti casualmente in base al peso in dodici acquari da 70 L (~ 25 individui per vasca). Sono stati imposti quattro regimi di pH: ambiente (8,2, controllo) e tre condizioni acidificate (7,9, 7,7 e 7,4), corrispondenti agli scenari attuali e futuri previsti dall'IPCC. Ogni trattamento è stato replicato in triplicato. I valori di pH target sono stati raggiunti e mantenuti tramite sistemi automatici di controllo della CO₂ per un periodo di esposizione di 90 giorni. Tutti gli acquari erano dotati di filtrazione meccanica e UV, aerazione continua per mantenere l'ossigeno dissolto sopra l'80% della saturazione, e alimentati quotidianamente con una miscela algale pari al 5–6% della massa fresca dei mitili. Temperatura, salinità, ossigeno dissolto e pH sono stati monitorati quotidianamente. L'alcalinità totale è stata misurata settimanalmente e a ogni cambio d'acqua, per calcolare i parametri del sistema carbonatico, inclusi pCO₂ e lo stato di saturazione di aragonite e calcite. La mortalità è stata registrata giornalmente. Ai giorni 0, 45 e 90, sottocampioni di dieci mitili per trattamento sono stati analizzati per valutare lunghezza e spessore del guscio, massa fresca e secca, resa, indice di condizione, massa dell'epatopancreas (indice epatosomatico) e tasso di crescita specifico. Il tasso di filtrazione è stato quantificato all'inizio e alla fine della prova su tre individui per

trattamento, monitorando la diminuzione esponenziale della concentrazione algale in becher da 1 L per 2 ore, con campionamenti ogni 30 minuti per la conta microscopica. La produzione di fili di bisso è stata misurata a intervalli multipli (1, 3, 6, 9, 12, 18 e 24 h). Le posizioni dei mitili sono state registrate su una griglia posta sul fondo degli acquari per quantificare gli eventi di aggregazione (clumping) e la velocità di spostamento (mm h^{-1}). La qualità del guscio è stata valutata mediante microscopia elettronica a scansione (SEM), prove di resistenza meccanica e analisi mineralogica con diffrazione a raggi X. Analisi istologiche del tessuto del mantello sono state effettuate con colorazione Alizarina Red S per localizzare i depositi di calcio coinvolti nella formazione del guscio. I livelli di espressione genica di marcatori associati alla biominerallizzazione, come chitina sintasi, proteina tipo calponina, anidrasi carbonica, tirosinasi 1–2, chinasi, Ca^{2+} -ATPas di membrana plasmatica e proteina legante Ca^{2+} sarcoplasmatica, sono stati quantificati tramite RT-qPCR su campioni di tessuto del mantello esterno e interno.

Risultati e discussione

All'inizio dell'esperimento la lunghezza del guscio non presentava differenze significative tra i trattamenti di pH (8,2; 7,9; 7,7; 7,4). Un'ANOVA a una via condotta su 250 individui marcati ($n = 62$ – 63 per trattamento) ha confermato l'omogeneità delle dimensioni iniziali ($F_{3,246} = 1,08$; $p = 0,36$). L'analisi con modelli lineari misti ha evidenziato un forte effetto del tempo ($p < 0,001$), ma né un effetto principale del pH ($p \geq 0,07$) né un'interazione pH × tempo ($p > 0,10$). Le traiettorie di crescita sono dunque risultate parallele in tutti i trattamenti, con un allungamento di 2,1–2,5 mm in 49 giorni ($\sim 0,05 \text{ mm giorno}^{-1}$). Ciò indica che, nel breve termine, l'estensione del guscio non è risultata sensibile all'acidificazione nei range testati. Al contrario, le risposte fisiologiche e strutturali hanno mostrato effetti chiari della riduzione di pH. I tassi di filtrazione, basati su curve di esaurimento algale ben descritte da modelli esponenziali, hanno evidenziato un calo dei tassi di clearance volumetrica da $24,5 \text{ ml h}^{-1}$ a pH 8,2 a $16,8$ e $16,1 \text{ ml h}^{-1}$ rispettivamente a pH 7,7 e 7,4, corrispondente a una riduzione di circa il 35% rispetto alle condizioni ambientali. Ciò suggerisce che i mitili esposti a basso pH acquisiscono meno energia pur mantenendo tassi di crescita simili. Indicatori comportamentali e morfologici hanno confermato questa tendenza. La produzione di bisso non ha mostrato differenze significative tra i trattamenti, pur aumentando nel tempo. Tuttavia, gli individui esposti ad acqua acidificata hanno manifestato una ridotta aggregazione (clumping) e una minore mobilità. L'integrità del guscio è risultata compromessa: le analisi ultrastrutturali hanno evidenziato danni microstrutturali, ridotta resistenza meccanica e alterazioni nella composizione mineralogica. Le analisi istologiche del mantello non hanno mostrato una ridistribuzione del calcio, contrariamente si è osservata la comparsa di sparsi emociti e di residui di cellule adipogranulari che potenzialmente suggeriscono la necessità dell'animale a fare ricorso a delle fonti energetiche intrinseche. A livello molecolare, le analisi di espressione genica (RT-qPCR) hanno rivelato una downregulation di geni chiave legati alla biominerallizzazione (es. chitina sintasi, anidrasi carbonica, tirosinasi), in linea con una regolazione fisiologica compromessa in condizioni di basso pH. Complessivamente, i risultati indicano che, sebbene *M. galloprovincialis* giovanile riesca a mantenere nel breve termine l'estensione del guscio in un ampio intervallo di pH, la riduzione dei tassi di filtrazione, le alterazioni comportamentali, il degrado strutturale del guscio e la downregulation genica evidenziano condizioni di stress sub-letale. Questa divergenza suggerisce che la crescita possa inizialmente essere sostenuta attraverso il rialloccamento delle risorse, ma a scapito dell'equilibrio energetico e della qualità del guscio. Pertanto, mentre la crescita precoce appare resiliente di fronte all'acidificazione marina prevista per il prossimo futuro, l'efficienza alimentare e i processi di biominerallizzazione emergono come segnali precoci di vulnerabilità.

Bibliografia

- [1] Bressan, et al. (2014). Does seawater acidification affect survival, growth and shell integrity in bivalve juveniles? *Marine Environmental Research*, 99, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.04.009>
- [2] Canton, C., et al. (2024). Carbonate system and acidification of the Adriatic Sea. *Marine Chemistry*, 267, 104462. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2024.104462>
- [3] Doney, S. C., et al. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 169–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>
- [4] Fan, X., et al. (2023). Metabolic profiling of *Mytilus coruscus* mantle in response of shell repairing under acute acidification. *PLoS ONE*, 18(10), e0293565.
- [5] Hüning, A. K., et al. (2016). A shell regeneration assay to identify biominerallization candidate genes in mytilid mussels. *Mar Genomics*, 27, 57–67.
- [6] Nicastro, K., et al. (2007). Behavioural response of invasive *Mytilus galloprovincialis* and indigenous *Perna perna* mussels exposed to risk of predation. *Marine Ecology Progress Series*, 336, 169–175.
- [7] Qu, Y., et al. (2022). Integrative assessment of biomarker responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to seawater acidification and copper ions. *The Science of the Total Environment*, 851, 158146. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158146>
- [8] Waldbusser, G. G., et al. (2015). Ocean acidification has multiple modes of action on bivalve larvae. *PLoS ONE*, 10(6), e0128376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128376>

Le basi genetiche della tolleranza alle ondate di calore nella vongola filippina *Ruditapes philippinarum*

L. Perizza¹, F. Cicala¹, P. Martinez², M. Gallo³, S. Fernández-Boo⁴, T. Bean⁵, A.E. Omole¹, I. Nai¹, C. Tucci¹, G. Dalla Rovere¹, I. Bernardini¹, S. Ferrarese¹, R. Franch¹, E. Scrima¹, M. Racaku¹, N. Macrì¹, M. Babbucci¹, M. Milan¹, L. Bargelloni¹

¹⁾ Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova, Viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro (PD), Polo di Agripolis, Italy. Email: luca.perizza@unipd.it

²⁾ Departament of Zoology, Genetics and Physical Anthropology, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, Lugo, Spain.

³⁾ Department of Zoology, Genetics and Physical Anthropology, Biological Research Center (CIBUS), University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain.

⁴⁾ Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Matosinhos, Portugal

⁵⁾ The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, The University of Edinburgh, Midlothian, United Kingdom.

Keywords: eventi estremi; selezione genetica; polimorfismi a singolo nucleotide SNPs; acquacoltura.

Introduzione

L'acquacoltura dei bivalvi costituisce un settore strategico per la produzione di alimenti ad alto valore nutrizionale e a ridotta impronta di carbonio. Tuttavia, tale attività è sempre più minacciata da eventi climatici estremi, in particolare dalle ondate di calore marine (MHWs), la cui frequenza, durata e intensità sono in costante aumento. Le possibilità di mitigare direttamente l'impatto delle MHWs negli allevamenti risultano limitate; di conseguenza, la selezione genetica di organismi più resistenti rappresenta un approccio promettente per garantire la sostenibilità della filiera. In questo contesto, gli studi di associazione genome-wide (GWAS), supportati da piattaforme di genotipizzazione ad alta densità, costituiscono strumenti efficaci per investigare la base genetica di tratti complessi e potenzialmente poligenici.

Summary

Bivalve aquaculture provides sustainable and nutritious food but is increasingly threatened by marine heatwaves (MHWs), whose frequency and intensity are rising due to climate change. To investigate the genetic basis of resilience to MHWs in Manila clam (*Ruditapes philippinarum*), we developed a novel multi-species Axiom SNP array (60K), including ~45K SNPs for *R. philippinarum* and ~15K SNPs for *R. decussatus*. A population of 1000 Manila clams, produced at the Satmar hatchery, was exposed to a simulated MHW replicating natural conditions recorded in the Venice lagoon in 2015 (31–35 °C, 15 days). Survival was assessed both as a binary trait (resistant vs susceptible) and as a continuous trait (time to death), and all individuals were genotyped with the SNP array. The identification of quantitative trait loci (QTLs) associated with MHW resistance provides novel insights into the genomic architecture of thermal resilience and lays the foundation for genomic-assisted breeding strategies aimed at improving the sustainability of clam aquaculture under climate change scenarios.

Materiali e metodi

Abbiamo sviluppato un nuovo array Axiom SNP multi-specie (60K), comprendente ~45.000 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) per la vongola verace filippina (*Ruditapes philippinarum*) e ~15.000 SNP per la vongola comune (*R. decussatus*). L'array è stato applicato per l'identificazione di loci a carattere quantitativo (QTLs) associati alla resistenza alle MHWs. A tal fine, una coorte di 1000 individui di *R. philippinarum*, derivanti da un evento di fecondazione di massa presso l'hatchery Satmar, è stata sottoposta a un trattamento sperimentale simulante una MHW naturale registrata nella laguna di Venezia nel 2015 (31–35 °C, per 15 giorni), replicata in 10 acquari indipendenti. Al termine dell'esposizione, gli animali sopravvissuti sono stati mantenuti a 25 °C fino all'assenza di ulteriori mortalità. Tutti gli individui sono stati successivamente genotipizzati con l'SNP-array sviluppato precedentemente.

Risultati e discussione

La resistenza è stata valutata sia come tratto binario (resistente vs suscettibile) sia come tratto quantitativo continuo (tempo alla morte). L'associazione di specifici marcatori genetici con la resilienza alle MHWs fornisce nuove evidenze sui meccanismi genomici alla base di tale adattamento e apre la strada a programmi di selezione mirata. I risultati del nostro lavoro rappresentano un passo avanti rilevante verso lo sviluppo di popolazioni di vongola verace più resistenti, con potenziali ricadute per la sostenibilità e la capacità adattativa del settore dell'acquacoltura nei confronti delle sfide imposte dai cambiamenti climatici.

Valutazione della concentrazione di piombo, cadmio e mercurio nei molluschi bivalvi allevati in Emilia Romagna prima e dopo l'alluvione del 2023

S. Rubini¹, M. Munari¹, D. Accurso², M. Vitellino², M. Peloso², Dell'Orfano³, P. Rizzi³, S. Esposito⁴, M. Fabbri⁴, P. Fagioli⁴, A. Padovani⁵, C. Mazzotti⁶, G. Galletti⁷

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Ferrara (FE)

²⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Reparto chimico di Bologna (BO)

³⁾ Azienda USL Ferrara – U.O.C. Igiene Alimenti di Origine Animale (FE)

⁴⁾ Azienda USL Romagna – U.O. Igiene Alimenti di Origine Animale – Rimini (RN);

⁵⁾ Area Sanità veterinaria e igiene degli Alimenti – Regione Emilia Romagna;

⁶⁾ Arpae Agenzia Prevenzione Ambiente Energia dell'Emilia Romagna. Dirigente Responsabile Struttura oceanografica Daphne – Cesenatico (FC);

⁷⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Sorveglianza Epidemiologica Emilia-Romagna – Bologna (BO)

Keywords: alluvione, molluschi bivalvi, Mare Adriatico, metalli pesanti

Summary

This study examined the values of heavy metals in bivalve molluscs farmed in the Emilia-Romagna region before and after the May 2023 flood. Analyses showed that the concentrations of heavy metals, such as Hg, Pb, and Cd, did not vary significantly between sampling areas during the study period. Some values demonstrated differences between before and after floods, probably caused by an anomalous water flow. The concentrations founded do not represent a significant concern for human health, because the values never exceed the legal limits.

Introduzione

L'area marina situata a nord e a sud del delta del Po è la principale zona di produzione di molluschi bivalvi in Italia e la terza in Europa [1]. Di conseguenza, la regione Emilia-Romagna, su cui insiste quasi tutta l'area, è la maggior produttrice di molluschi in Italia [2, 3]. Le specie di maggior interesse economico nella zona a sud del delta del Po sono il mitilo (*Mytilus galloprovincialis*) e la vongola verace (*Ruditapes philippinarum*).

Tra il 2 maggio e il 18 maggio 2023 il territorio della Regione Emilia-Romagna fu interessato da importanti fenomeni atmosferici estremi.

Questi eventi idro-meteorologici di eccezionale intensità determinarono una grave situazione di criticità, in particolare nelle province di Forlì-Cesena, Ravenna, Bologna, Modena e Reggio Emilia, provocando numerose alluvioni e frane con conseguente isolamento di molte località, evacuazione di numerose famiglie dalle loro abitazioni, gravi danni a infrastrutture lineari, ad aziende agricole, a edifici pubblici e privati, alle opere di difesa idraulica e alla rete dei servizi essenziali [4].

In quei giorni i fiumi Reno, Lamone, Fiumi Uniti, Bevano, Savio e Rubicone portavano verso le proprie foci ingenti volumi di acqua creando fenomeni di erosione degli argini e registravano un rilevante trasporto solido a causa delle piene che devastavano l'entroterra.

Nell'immediato, vista l'emergenza ambientale, i Dipartimenti di Salute Pubblica costieri dell'Ausl di Ferrara e dell'Ausl della Romagna, emettevano cautelativamente, in relazione al diverso livello di rischio igienico sanitario delle aree marine e salmastre classificate per la raccolta dei molluschi, ordinanze di divieto di pesca e di obbligo alla depurazione, a tutela della salute pubblica.

I controlli in mare condotti da Arpae, nel frattempo interrotti a causa delle pessime condizioni atmosferiche, ripresero il 22 maggio, rilevando una salinità con valori medi intorno ai 30 PSU, cioè leggermente inferiori rispetto ai 36-38 rilevati di solito e bassi valori di trasparenza a causa dell'elevata quantità di materiale di origine terrigena che conferiva al mare una colorazione giallo argilla.

Nel periodo successivo ai fenomeni alluvionali, il monitoraggio delle acque di balneazione rilevò un'alterazione dei parametri dell'acqua di mare portando alla necessità di emettere ordinanze di divieto di balneazione, con particolare riferimento alle zone del litorale a nord di Ravenna, particolarmente interessate dal drenaggio delle acque provenienti dal territorio di Conselice (RA). I superamenti rilevati rientrarono nei limiti di accettabilità in circa un mese e, attorno a metà giugno i parametri tornarono nella norma e le ordinanze di divieto di balneazione furono revocate, consentendo il normale svolgimento della stagione balneare [5].

L'ecosistema marino resse all'impatto e anche le analisi confermarono la grande capacità di ripristino e riequilibrio del mare in termini di salinità e torbidità [6].

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di analizzare le concentrazioni di metalli presenti in mitili e vongole, allevati nelle acque a sud della foce del Po nel territorio di competenza dell'Emilia-Romagna, prima e dopo l'alluvione che ha colpito la Regione nel maggio 2023.

Materiali e Metodi

Sono stati esaminati i risultati ottenuti dalle analisi dei metalli pesanti condotte su 484 molluschi bivalvi, campionati tra gennaio 2022 al giugno 2025, nell'ambito del Piano regionale di monitoraggio. I metalli ricercati erano il Mercurio (Hg), il Piombo (Pb) e il Cadmio (Cd) per i quali il Regolamento (UE) 2023/915 stabilisce tenori massimi per i molluschi. L'area di studio si estendeva dal delta del Po all'area marina in corrispondenza della città di Cattolica, comprendendo l'intera costa emiliano-romagnola. L'analisi è stata condotta utilizzando la spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP/MS) dopo mineralizzazione dei campioni con acido nitrico.

Risultati e Discussione

I grafici riportati nelle tabelle 1 e 2 rappresentano i diversi tenori dei metalli ricercati in mitili e vongole suddivisi per macroaree; i valori riscontrati sono stati suddivisi in valori pre-alluvione e post-alluvione. I risultati sono stati elaborati statisticamente e riportati in box-plot; le conclusioni devono essere interpretate come ipotesi preliminari che richiederanno ulteriori approfondimenti.

Nella Tabella 1, sono rappresentati i dati relativi al Pb. Le concentrazioni di questo elemento aumentano in corrispondenza della Foce del Rubicone (FC), presumibilmente per il fatto che la zona in esame era una delle zone più colpite dall'alluvione. Un aumento significativo si registra anche nella zona di Piallassa Baiona (RA), a causa dello scarso riciclo d'acqua caratteristico di questo bacino chiuso. Le concentrazioni di Pb diminuiscono nella zona “*long line*” di Ferrara, aree situate tra 3 e 6 miglia nautiche dalla costa, e nei canali interni del ferrarese, nella zona marina di Ravenna, Cervia e Riccione presumibilmente a causa dall'aumento di intensità delle correnti e dell'ingente flusso d'acqua del momento.

Le concentrazioni di Hg non mostrano differenze significative tra i due diversi periodi. Si nota solo un aumento di Hg nell'area di Piallassa Baiona (RA) come nel caso del Pb.

Nella Tabella 2, sono raccolti i valori di Cd. Si evidenzia un aumento della concentrazione nelle zone dei *long-line* ferrarese, alla Foce del Rubicone (RA), a Cesenatico e a Riccione, probabilmente causato dall'ingente flusso d'acqua e dai numerosi detriti trasportati verso il mare dai corsi d'acqua. Un notevole aumento è visibile nell'area marina di Cervia, associabile al cambio di portata del flusso idrico per i numerosi canali che collegano questa area al mare.

I valori riscontrati sono rimasti sempre all'interno dei limiti di legge per tutto il periodo di studio. Pertanto, da questa preliminare valutazione dei dati raccolti, si può dedurre che i fenomeni catastrofici che hanno interessato l'area di studio non hanno portato a significative variazioni delle concentrazioni degli elementi esaminati. In ottica di “One Health”, la portata dell'evento e la crescente frequenza di questi fenomeni atmosferici ha suggerito lo sviluppo del presente studio, considerandolo uno strumento per valutare eventuali variazioni ambientali, la conservazione della biodiversità e gli effetti negativi di tali eventi estremi. Il biomonitoraggio ambientale mediante l'osservazione scientifica dei molluschi bivalvi è oggi considerato uno degli approcci più completi per valutare l'inquinamento marino ed i suoi potenziali effetti biologici in seguito a eventi atmosferici estremi per salvaguardare l'ambiente, le specie marine e la salute umana.

Bibliografia

- [1] FAO (2021). Fishery and Aquaculture Statistics, Aquaculture production, yearbook 2019. Available at: https://www.fao.org/fishery/static/Yearbook/YB2019_USBcard/navigation/index_content_aquaculture_e.htm#C
- [2] E. Franzago, M. Toson, G. Binato, A. Gallina, M. Corazza, G. Fornasiero, et al. Valutazione dei risultati del monitoraggio igienico sanitario per la ricerca di metalli pesanti in molluschi bivalvi prodotti in Veneto dal 2014 al 2022. Atti del X Convegno Nazionale SIRAM 2023. Available at: <https://siram-molluschi.it/documenti/atti-convegni/atti-convegno-SIRAM-2023.pdf>
- [3] Ispra (2019). Report on companies in aquaculture and production in Italy. Available at: https://annuario.isprambiente.it/sys_ind/381
- [4] Rapporto della Commissione tecnico-scientifica istituita con deliberazione della Giunta Regionale n. 984/2023 e determinazione dirigenziale 14641/2023, al fine di analizzare gli eventi meteorologici estremi del mese di maggio 2023
- [5] <https://www.ilpost.it/2023/06/16/riviera-romagnola-tornata-balneabile-inquinamento/> (ultimo accesso 19/08/2025)
- [6] Ecoscienza, sostenibilità e controllo ambientale- Rivista di Arpaie Agenzia regionale prevenzione, ambiente ed energia dell'Emilia-Romagna N° 5 Novembre 2023, Anno XIV

Tabella 3. Valori di Pb in mitili e vongole, pre e post alluvione in Emilia-Romagna.

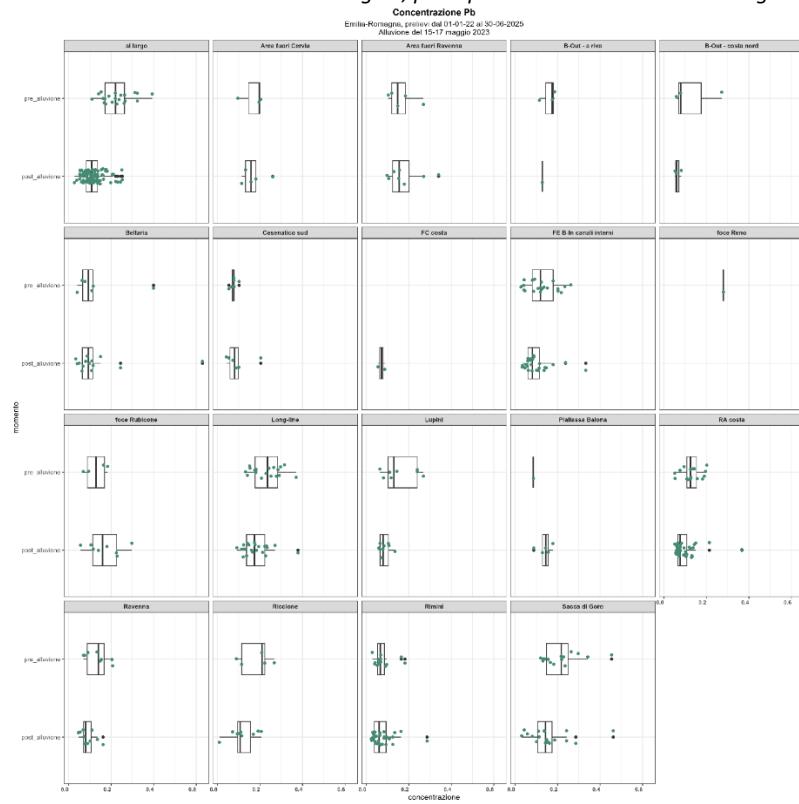
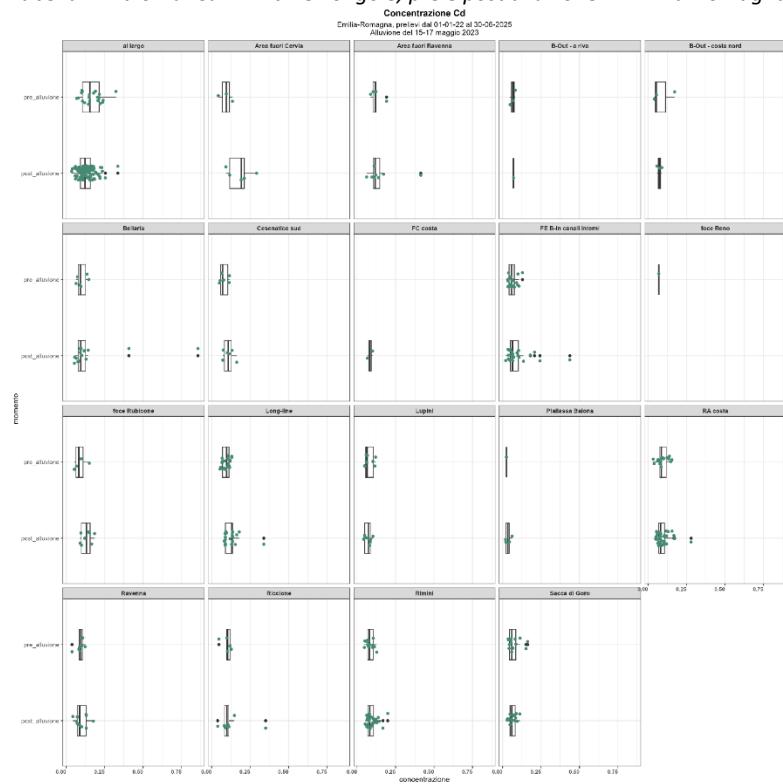


Tabella 2. Valori di Cd in mitili e vongole, pre e post alluvione in Emilia-Romagna.



L'importazione di molluschi bivalvi come potenziale veicolo di specie epibionti alloctone

N. Scapin¹, A. Vetri¹, L. Cortinovis¹, N. Lago¹, F. Tosi¹, C. D'Onofrio¹, A. Basso¹, G. Arcangeli¹

¹⁾ Centro di referenza nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei – Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)

Keywords: *Crepidula dilatata*, *Crepidula fornicata*, specie invasive, *Ruditapes philippinarum*, *Mytilus galloprovincialis*

Introduzione

Negli ultimi anni la molluschicoltura italiana ha dovuto affrontare diverse sfide. Da un lato il settore ha risentito della crisi climatica, in particolare in alto Adriatico, dove sono state registrate temperature di 1.5°C più alte rispetto alle medie stagionali delle annate precedenti. In particolare, a Trieste, la temperatura del mare ha raggiunto i 28°C, condizione che si è protratta per diverse settimane nel mese di agosto 2024 [1]. Queste temperature hanno causato morie massive di mitili lungo tutta la penisola italiana (Dati Centro Specialistico Ittico dell'Istituto Zooprofilattico delle Venezie). Un ulteriore fattore di stress per i molluschi è stato l'aumento di salinità nelle zone lagunari registratosi negli ultimi anni come conseguenza della diminuzione delle precipitazioni stagionali e dell'aumento dell'evapotraspirazione [2]. Nel 2023, l'esplosione della popolazione del granchio blu ha peggiorato ulteriormente lo scenario: la massiva predazione di questo crostaceo sui molluschi allevati, in particolare cozze e vongole, e in banchi naturali ha comportato un ingente danno economico per la molluschicoltura e un grave danno alla biodiversità [3], [4], [5]. Questo contesto ha incentivato l'importazione di molluschi bivalvi da Paesi della costa atlantica europea e Paesi non europei come U.S.A., Cile ed altri [6]. Tali movimentazioni possono causare l'introduzione involontaria di specie aliene e di nuovi patogeni.

Summary

In recent years, shellfish farming in the Northern Adriatic Sea has experienced a marked decline in production, largely driven by the impacts of the climate crisis and the outbreak of the invasive blue crab. In response, the sector has increasingly relied on the importation of bivalves from foreign sources. However, such imports may act as vectors for the introduction of other potentially invasive non-native species and pathogens. During routine monitoring, within the framework of the MUSSEL-AID project, two gastropod species were detected attached to the shells of imported bivalves: *Crepidula dilatata* and *Crepidula fornicata*.

Materiali e metodi

Durante le analisi routinarie, in un campione di vongole veraci (*Ruditapes philippinarum*) di taglia commerciale, sono stati osservati cinque gasteropodi adesi alla superficie esterna delle valve di un esemplare. La conchiglia del soggetto di dimensioni maggiori è stata utilizzata per l'identificazione tramite chiavi dicotomiche (7). Porzioni di tessuto dello stesso sono state conservate in etanolo assoluto per le successive analisi molecolari. Nell'ambito del progetto MUSSEL-AID, è stato effettuato un campionamento ai fini della valutazione dello stato sanitario di un lotto di 30 esemplari di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) di taglia commerciale provenienti dalla Spagna e reimmersi a due miglia dalla costa veneta per circa un mese. All'esame ispettivo, un singolo gasteropode è stato rinvenuto adeso alla valva esterna di un soggetto. Analogamente al caso precedente si è proceduto con l'identificazione mediante chiavi dicotomiche e alla conservazione dei tessuti per successive conferme molecolari.

Il DNA dei due gasteropodi è stato estratto a partire da porzioni di muscolo adduttore mediante QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). L'estratto è stato analizzato tramite amplificazione e sequenziamento del gene mitocondriale Citocromo Ossidasi-1 (COI), gene target per la corretta identificazione a livello di specie. Le sequenze ottenute sono state confrontate con le sequenze disponibili nei database di riferimento (BoldSystem e Genbank) [8, 9].

Risultati e discussione

L'utilizzo di chiavi dicotomiche ha permesso di identificare i gasteropodi adesi alle valve di vongola come *Crepidula fornicata*, mentre quello adeso al mitilo come *Crepidula dilatata*

L'identificazione dicotomica è stata confermata attraverso analisi molecolare: le sequenze delle due specie sono risultate identiche (100%) alle sequenze presenti sui database BoldSystem e Blast®.

Crepidula dilatata e *Crepidula fornicata* risultano essere endemiche del continente americano, ma a partire dalla seconda metà del secolo scorso sono state osservate popolazioni delle due specie lungo le coste atlantiche europee e ritrovamenti di individui sono stati segnalati anche in Mediterraneo occidentale [6].

L'introduzione di queste patelle può causare un ripercussione sull'ecosistema, sulla pesca e sull'allevamento dei molluschi bivalvi, con una conseguente perdita economica per gli operatori del settore. Alcuni danni sono già stati osservati in Francia, dove *Crepidula fornicata* è entrata in competizione spaziale con i banchi naturali di ostriche. I tentativi di diminuzione della biomassa del gasteropode messi in atto sono stati inefficienti [10,

12], con una densità stimata che ha raggiunto negli anni novanta, a sessant'anni dall'introduzione, le cinquantamila tonnellate complessive in diverse baie francesi (Mont Saint Michel, Brest, Saint Brieuc e Bourgneuf) [10, 11].

Lungo la costa di List (Danimarca), sono stati segnalati numerosi eventi di mortalità in banchi di cozze blu (*Mytilus edulis*), dove quasi tutti i mitili presentavano una massiccia infestazione di *C. fornicata*, la cui densità raggiungeva picchi di 2000 individui per metro quadrato [12]. Un'altra ripercussione è legata alla tendenza di *C. fornicata* a formare pile sul basibionte che possono modificare l'idrodinamismo dell'ospite, creando più resistenza alle correnti e di conseguenza esponendo il basibionte a maggiori sollecitazioni. Questo aumento di resistenza comporta una maggiore spinta meccanica sul mitilo, il quale come risposta, produce fino al doppio dei filamenti di bisso rispetto a soggetti non infestati. Ne consegue un aumento del consumo energetico, che può portare progressivamente a indebolimento e morte [12]. Prove condotte sugli stessi soggetti hanno confermato tassi di mortalità più elevati in mitili infestati rispetto a quelli privi di epibionti. Infine, la dispersione larvale a livello planctonico di questo gasteropode [11] conferisce allo stesso un alto potenziale invasivo.

Gli impatti di *Crepidatella dilatata*, nonostante la sua ampia diffusione lungo tutta la costa atlantica europea [6], non sono noti, ma le problematiche potrebbero essere simili a quelle riscontrate con *C. fornicata*. Una peculiarità di questa specie è il comportamento riproduttivo, caratterizzato da cure parentali che prevedono il mantenimento delle uova all'interno di una sacca ovigera fino al momento della schiusa, con il successivo rilascio di individui bentonici [6] pronti ad attaccarsi alla valva dell'ospite. La presenza dell'epibionte può impattare sulla mobilità dell'animale ospite, per esempio impedendone l'orientamento verso condizioni più favorevoli o anche limitando o impedendo l'apertura delle valve con conseguenze anche gravi sull'attività filtratoria del basibionte. La rimozione dalle valve dell'ospite avviene prevalentemente per via meccanica e risulta complessa, con possibili ripercussioni sulla qualità del prodotto e sul costo della manodopera.

In conclusione, l'introduzione di nuove specie di molluschi in aree già popolate da popolazioni stanziali di specie endemiche può comportare un grave danno a queste ultime. Si possono infatti creare forme di competizione trofica, spaziale o danni meccanici diretti in casi in cui le nuove introduzioni si comportino come epibionti [12]. Il ritrovamento di *Crepidatella dilatata* e *Crepidula fornicata* nel territorio italiano dovrebbe allertare gli operatori di settore: l'introduzione di queste specie, in particolare *C. fornicata*, potrebbe infatti peggiorare una situazione già critica dell'Alto Adriatico.

Bibliografia

- [1] <https://arpa.fvg.it/temi/temi/meteo-e-clima/news/un-mare-sempre-piu-calido-i-record-del-2024-e-i-segnali-dal-clima-in-fvg-nel-golfo-e-nella-laguna/>
- [2] <https://www.isprambiente.gov.it>
- [3] Ponti M., Castellini A., Ragazzoni A., Gamba E., Ceccherelli V., A., Marco. Decline of the Manila clams stock in the northern Adriatic lagoons: A survey on ecological and socio-economic aspects. *Acta Adriatica*. 58. 89-104. 10.32582/aa.58.1.7. (2017).
- [4] Román M., Gilbert F., Viejo R. M., Román S., Troncoso J. S., Vázquez E., Olabarria C. Are clam-seagrass interactions affected by heatwaves during emersion?, *Marine Environmental Research*, Volume 186, 2023
- [5] Tiralongo F., Mancini E., Gattelli R., Pasquale C., Rossetti E., Martellucci R., Felici A., Mancinelli G., Mulder C. The devastating economic impact of *Callinectes sapidus* on the clam fishing in the Po Delta (Italy): Striking evidence from novel field data. 10.48550/arXiv.2502.07095. (2025).
- [6] Salvi D., Smriglio C., Garzia M., Andreucci S., Mariottini P. Introduction of the South American slipper limpet *Crepidatella dilatata* in Europe: Secondary spread in the Northeast Atlantic and first records for the Mediterranean Sea. *Mar. Biodivers.* 54, 37 (2024).
- [7] <https://inverts.wallawalla.edu>
- [8] <https://v3.boldsystems.org/>
- [9] https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome
- [10] Beninger P., Valdizan A., Decottignies P., & Cognie B. Field reproductive dynamics of the invasive slipper limpet, *Crepidula fornicata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology - J EXP MAR BIOL ECOL.* 390. 179-187. 10.1016/j.jembe.2010.04.037. (2010).
- [11] Blanchard M. Spread of the slipper limpet *Crepidula fornicata* (L. 1758) in Europe: current state and consequences. *Sci Mar* 61:109–118 (1997)
- [12] Thielges D. Impact of an invader: Epizootic American slipper limpet *Crepidula fornicata* reduces survival and growth in European mussels. *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER.* 286. 13-19. 10.3354/meps286013. (2005).

Ricerca e caratterizzazione di *Vibrio* spp. potenzialmente enteropatogeni in molluschi bivalvi del Golfo della Spezia e crostacei congelati extra UE.

A. Siracusa¹, R. Battistini¹, L. Serracca¹, V. Listorti¹, F. Leoni², E. Rocchegiani², D. Ottaviani², F. Barchiesi², G. Palermo³

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.S. Levante Ligure, La Spezia

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", Ancona

³Dipartimento della salute umana, della salute animale e dell'ecosistema (one health) e dei rapporti internazionali - Direzione generale della salute animale- ex DGSA - UPG - PCF Liguria, Piemonte e Valle d'Aosta

Keywords: *Vibrio*, prodotti ittici, sicurezza alimentare, cambiamento climatico

Introduzione

I batteri del genere *Vibrio* sono microrganismi diffusi nelle acque temperate-calde e a moderata salinità, quali acque costiere e foci dei fiumi. Sebbene esistano più di 150 specie [1], solo alcune di esse sono patogene tra cui *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*, responsabili di patologie gastroenteriche nell'uomo. La trasmissione di queste è solitamente conseguenza di ingestione di prodotti ittici crudi o non adeguatamente cotti. In particolare i sierogruppi O1 e O139 di *V. cholerae* sono i responsabili delle epidemie di colera; altri sierogruppi possono essere causa di sporadiche forme gastrointestinali. *V. parahaemolyticus* è noto per essere associato a diarrhoe epidemiche e la patogenicità di alcuni ceppi è legata alla presenza di due tossine definite Thermostable Direct Hemolysin (TDH) e THD-Related Hemolysin (TRH). *V. vulnificus*, oltre a poter causare enteriti, è segnalato come responsabile di infezioni cutanee e gravi setticemie in soggetti immunodepressi. Secondo i dati da una revisione sistematica dell'European Food Safety Authority (EFSA) [2] in UE la prevalenza aggregata di *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* e *V. cholerae* nonO1/nonO139 nei prodotti ittici è rispettivamente del 19,6%, 6,1% e 4,1%. La prevalenza di *V. parahaemolyticus* raggiunge il 27,8% se si considerano i soli molluschi bivalvi. Circa un quinto dei campioni positivi per *V. parahaemolyticus* contiene ceppi potenzialmente patogeni (portatori dei geni *tdh* e/o *trh*). L'EFSA, inoltre, mette in guardia sul possibile aumento dei rischi connessi a *Vibrio* spp. in conseguenza del riscaldamento globale e dell'aumento degli eventi metereologici estremi.

In questo contesto, il golfo della Spezia si distingue come una zona tradizionalmente dedita alla molluschicoltura. In aggiunta, i porti liguri (Genova, La Spezia, Savona-Vado Ligure) gestiscono ogni giorno ingenti quantità di prodotti di origine animale provenienti sia dal mercato interno che dall'estero, con i prodotti della pesca che costituiscono il gruppo merceologico prevalente [3]. Per questi motivi, quest'area rappresenta un punto di interesse cruciale per il monitoraggio dei batteri del genere *Vibrio* nei prodotti ittici, sia locali che di importazione. L'obiettivo di questo studio è quindi quello di indagare la presenza e le caratteristiche dei batteri *Vibrio* spp. potenzialmente enteropatogeni nei prodotti ittici, confrontando tra loro i dati ottenuti dai campioni locali e da quelli esteri e mettendoli in relazione con quelli forniti dall'EFSA.

Summary

Bacteria of the genus *Vibrio* are microorganisms widespread in warm-temperate waters with moderate salinity, such as coastal waters and river mouths. Only a few species are pathogenic for humans, including *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*, responsible for gastrointestinal diseases in humans. The transmission of these is usually a consequence of the ingestion of raw or inadequately cooked fish products. In particular serogroups O1 and O139 of *V. cholerae* are responsible for cholera outbreaks; other serogroups can cause sporadic gastrointestinal forms. *V. parahaemolyticus* is known to be associated with epidemic diarrhea and the pathogenicity of some strains is linked to the presence of two toxins called Thermostable Direct Hemolysin (TDH) and THD-Related Hemolysin (TRH). *V. vulnificus*, in addition to causing enteritis, has been reported to be responsible for skin infections and severe septicemia in immunocompromised individuals. According to data from the European Food Safety Authority (EFSA) [2], in the EU, the aggregate prevalence of *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and *V. cholerae* nonO1/nonO139 in seafood is 19,6%, 6,1%, and 4,1%, respectively. The prevalence of *V. parahaemolyticus* reaches 27,8% if only bivalve molluscs are considered. Approximately one-fifth of samples positive for *V. parahaemolyticus* contain potentially enteropathogenic strains (harbouring *tdh* and/or *trh* genes). EFSA also warns of the possible increase in risks associated with *Vibrio* spp. as a result of global warming and the increase in extreme weather events. Due to the traditional shellfish aquaculture into the Gulf of La Spezia and the large quantities of seafood passing through Ligurian ports, this area represents a crucial point of interest for the monitoring of *Vibrio* bacteria in both local and imported fish products. The aim of this study is therefore to investigate the presence and the characteristics of potentially enteropathogenic *Vibrio* bacteria in fish products, comparing the data obtained from local and foreign samples and correlating them with those provided by EFSA.

Materiali e metodi

Presso il laboratorio dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.S. Levante Ligure (La Spezia) sono stati analizzati 46 campioni di *Mytilus galloprovincialis* autoctoni (banchi naturali) provenienti dalle acque del Golfo della Spezia e 9 campioni di crostacei congelati di cui 7 campioni di mazzancolle originarie dell'Ecuador e 2 campioni di gamberi provenienti dall'India prelevati a seguito di controlli ufficiali da parte dei Posti di Controllo Frontalieri (P.C.F.) della regione Liguria. Le matrici sono state selezionate dai PCF secondo criteri di indagine basati sull'analisi del rischio e in base a quanto previsto Regolamento di esecuzione (UE) n. 2019/2130 del 25 novembre 2019, ovvero dal recepimento operativo da parte del Ministero della Salute, secondo il Piano di monitoraggio 2025 per i controlli di laboratorio sugli alimenti di origine animale importati dai paesi terzi. Tutti i campioni sono stati prelevati e sottoposti ad analisi in un periodo compreso fra febbraio e agosto 2025. L'isolamento e la caratterizzazione delle specie batteriche di *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* è avvenuto secondo metodica ISO 21872-1:201/ADM1:2023. I campioni positivi per presenza di *V. parahaemolyticus* sono stati sottoposti a prove con tecnica PCR per ricerca dei geni codificanti per le tossine THD e TRH (ISO 21872-1:201/ADM1:2023). Sui campioni con esito positivo per presenza di *V. cholerae* sono state prodotte notifiche di Allerta da parte dei PCF su sistema di allerta rapida iRASFF (IMSOC) ai sensi del regolamento CE n. 2002/178 del 28 gennaio 2002 e sono state eseguite analisi con tecnica PCR per ricerca del gene *ctxA* codificante per la tossina colerica CTX (PRT.S9MOLLAN.001 Rev.000 2024) e per ricerca del gene *stn/sto* (PRT.LNRMB8.005 Rev.000 2020), oltre alla sierotipizzazione degli stipiti batterici (PRT.ANMICALI.014 Rev. 004 2012). Tutte le analisi molecolari di conferma sono state eseguite presso il Laboratorio Nazionale di Riferimento per il controllo delle contaminazioni batteriche dei molluschi bivalvi presso l'IZS dell'Umbria e Marche.

Risultati e discussione

Dei 46 campioni di mitili della provincia della Spezia esaminati, 10 sono risultati positivi per presenza di *V. parahaemolyticus* con una prevalenza del 21,7% (10/46), più bassa rispetto al valore nei molluschi bivalvi dell'UE pubblicato da EFSA [2]. In nessuno dei campioni positivi per *V. parahaemolyticus* è emersa la presenza dei geni codificanti le tossine THD e TRH, permettendo dunque di escludere una potenziale patogenicità delle colonie batteriche isolate. In nessuno dei 46 campioni di molluschi sono stati isolati ceppi di *V. cholerae* né di *V. vulnificus*, a conferma del fatto che nell'Unione Europea la prevalenza di questi due microrganismi è relativamente bassa [2]. Il 90% (9/10) dei campioni positivi provenivano da molluschi prelevati nel periodo compreso da maggio ad agosto 2025; ciò è probabilmente correlato con una maggiore replicazione batterica di *Vibrio* spp., quando le acque marine raggiungono temperature miti/calde alle nostre latitudini; nonostante ciò il campione positivo (1/10) prelevato nel mese di febbraio evidenzia che *V. parahaemolyticus* sia comunque rilevabile anche nei mesi invernali e pone un accento sulla questione del rischio dato dal cambiamento climatico emerso nello studio di EFSA.

Dalle prove eseguite sui 9 campioni di crostacei esteri sono emerse 3 positività (33,3%): da un campione (1/2) di gamberi è stato isolato *V. parahaemolyticus*; 2 campioni (2/7) di mazzancolle sono risultati positivi per *V. cholerae*. I test biomolecolari per il rilevamento dei geni codificanti le tossine TDH e TRH per *V. parahaemolyticus* hanno dato esito negativo. Sui due campioni in cui è avvenuto l'isolamento di *V. cholerae* le analisi biomolecolari per ricerca del gene *ctxA* e del gene *stn/sto* hanno dato esito negativo ma in uno dei due campioni è stato identificato il sierogruppo O1 serovar INABA, variante epidemica circolante in Sudamerica da alcuni decenni [4],[5]. Pertanto, nonostante il numero non elevato di campioni analizzati, i risultati del presente studio suggeriscono che i crostacei importati da paesi con clima tropicale potrebbero rappresentare un potenziale pericolo per la salute dei consumatori europei. Ulteriori studi microbiologici ed epidemiologici sui prodotti ittici allevati e pescati in Italia e sui prodotti di importazione estera sarebbero auspicabili per un'accurata analisi del rischio e per la rilevazione tempestiva di variazioni significative nel tempo.

Bibliografia

- [1] Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C. and Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70, 5607-5612; DOI: 10.1099/ijsem.0.004332.Genus Vibrio. Available online: www.bacterio.net/vibrio.html (accessed on August 2025)
- [2] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) et al. (2024). Public health aspects of *Vibrio* spp. related to the consumption of seafood in the EU. EFSA journal, Volume22, Issue7 July 2024 e8896
- [3] Donato A. et al. (2024) Posti di Controllo Frontalieri e Uffici Veterinari per gli Adempimenti Comunitari, attività 2024. Ministero della salute. Relazione annuale UVAC-PCF 2024
- [4] Finelli L. et al. (1992) Outbreak of cholera associated with crab brought from an area with epidemic disease. J Infect Dis. 1992 Dec;166(6):1433-5. doi: 10.1093/infdis/166.6.1433
- [5] Cruz. N. B., Guillén A. (2011) Historical report: first isolation of *Vibrio cholerae* serogroup O1 biovar El Tor serovar Inaba during the cholera epidemic in Peru - 1991. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011; 28(1): 136-9

Microcistine nel Lago di Castreccioni: una minaccia emergente per i mitili del Mar Adriatico?

M. Siracusa^{1,2}, S. Bacchicocchi^{1,2}, G. Diomedi^{1,2}, S. Mazza^{1,2}, S. Accoroni³, M.S. Princivali⁴, A. Baldoni⁴, F. Serenelli⁴, A. Piersanti^{1,2}

¹⁾Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" - Via G. Salvemini, 1, 06126 Perugia

²⁾Centro di Referenza Nazionale per il Controllo Microbiologico e Chimico dei Molluschi Bivalvi- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" – Via Cupa di Posatora 3, 60131- Ancona

³⁾Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche, 60131 Ancona

⁴⁾Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale - ARPA Marche, Via Ruggeri 5, 60131 Ancona

Keywords: microcistine, cianobatteri, mitili, Lago di Castreccioni, LC-MS/MS, salinità, accumulo

Introduzione

La presenza di cianobatteri tossici e di cianotossine in bacini d'acqua dolce è un fenomeno ormai ben noto, ma solo recentemente si è dimostrato che il problema può coinvolgere anche le aree costiere, con organismi che raggiungono il mare attraverso gli emissari degli invasi interessati dalle fioriture. L'aumento dell'eutrofizzazione e i cambiamenti climatici sono sicuramente i maggiori responsabili per questa minaccia emergente [1]. Le microcistine (MCs) sono cianotossine note per i loro accertati effetti hepatotossici e il potenziale ruolo di promotori tumorali [2], per cui l'organizzazione mondiale della Sanità ha fissato dei valori massimi sia nelle acque potabili (1 µg/L) che in quelle ricreazionali (24 µg/L) [3,4]. Fioriture di *Planktothrix rubescens*, noto produttore di MCs, sono state spesso riscontrate nel lago di Castreccioni, il più grande bacino di acqua potabile della regione Marche [5]. Inoltre, mitili contaminati da MCs sono stati già ritrovati nel Mar Adriatico Meridionale [6]. L'obiettivo di questo studio è stato pertanto, quello di monitorare la presenza dei cianobatteri e delle MCs nel Lago di Castreccioni e studiare l'eventualità che possano raggiungere, attraverso il fiume Musone, l'area costiera dove sono presenti sia banchi naturali di vongole che allevamenti off-shore di mitili. A tal scopo, l'analisi LC-MS/MS dei campioni ambientali è stata integrata con due esperimenti di laboratorio, per studiare sia la resistenza di *P. rubescens* a diverse salinità, che la capacità di accumulo dei mitili esposti a *P. rubescens*. Tale indagine ha consentito una valutazione in mesocosmo dell'eventuale minaccia che tale problema può rappresentare per i mitili dell'Adriatico Centrale.

Summary

The presence of toxic cyanobacteria and cyanotoxins in freshwater bodies is a well-known phenomenon, but only recent evidences shown that the issue can also affect marine coastal areas. The increase in eutrophication and climate change are certainly the main drivers for this emerging threat. Microcystins (MCs) are cyanotoxins known for their hepatotoxicity and potent tumor-promoting effects, regulated only in drinking and recreational waters. *Planktothrix rubescens* is a well-known producer of MCs, and, in recent years, recurrent blooms occurred in Castreccioni Lake. The aim of this study was to monitor the presence of cyanobacteria and MCs in Castreccioni Lake and assess their potential transport via the Musone River to the nearby coastal marine area, thus posing a risk to mussels in the Central Adriatic Sea. LC-MS/MS analysis of field samples was integrated with mesocosm experiments on *P. rubescens* salinity resistance and MCs accumulation capability in exposed mussels. Water samples were collected in the area of interest (Castreccioni Lake and Musone River) from September 2022 to August 2025. An LC-MS/MS method was implemented and validated for the analysis of MCs in water, cyanobacteria, and mussels. For the salinity experiment, a *P. rubescens* strain was cultured at increasing salinity (0, 10, 20, 30) for one month. In the mesocosm experiment, mussels were exposed to *P. rubescens* for 14 days. LC-MS/MS analysis of water samples from Castreccioni Lake revealed contamination by MCs in spring and early summer in both 2024 and 2025. Additionally, in 2025, traces of MCs were found in water samples from the Musone River. The salinity experiment showed that *P. rubescens* cannot survive at salinity levels ≥ 10 , but cell abundances and MC levels remained comparable across the different salinities, at least during the first 48 hours. This suggests that once the cells reach the coastal area, they could remain available, potentially contaminating mussels. Indeed, the exposure experiment confirmed the ability of mussels to accumulate MCs. Further investigations are surely necessary since MCs may represent an emerging threat to Adriatic Sea mussels and respective consumers.

Materiali e Metodi

L'area oggetto di studio ha incluso il lago di Castreccioni ubicato nel comune di Cingoli (MC), il fiume Musone compreso tra le province di Ancona e Macerata, suo emissario, e l'area marina costiera in prossimità della foce ai confini tra i comuni di Numana e Porto Recanati. Sono stati individuati 6 siti di prelievo nell'ambito del monitoraggio ambientale delle acque di balneazione, superficiali interne e destinate al consumo umano effettuato dall'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale delle Marche (ARPAM) e 3 punti di prelievo

lungo il fiume Musone (a valle della diga, a metà del fiume e alla foce). I campioni d'acqua sono stati raccolti mensilmente nel lago, da settembre 2022 ad agosto 2025 e con frequenza quindicinale solo per il punto alla potabilizzazione nell'anno 2025 (identificato come punto di maggiore interesse da dati pregressi). Al verificarsi di un aumento dei cianobatteri e delle MCs sono stati eseguiti anche i campionamenti lungo il fiume, sempre con frequenza quindicinale. Un metodo in LC-MS/MS è stato sviluppato e validato per la determinazione delle MCs in campioni di acqua, di colture cianobatteriche e di mitili, seguendo le indicazioni di Turner et al. [7]. Per quanto riguarda l'esperimento di salinità, un ceppo di *P. rubescens* identificato mediante analisi morfologica e molecolare è stato coltivato a salinità crescenti (0, 10, 20, 30) per un mese, durante il quale a intervalli di 2-3 giorni sono stati effettuati dei prelievi della coltura sia per la stima delle abbondanze cellulari mediante misura della densità ottica che per l'analisi in LC-MS/MS del contenuto di MCs. L'esperimento di esposizione è stato allestito utilizzando lo stesso ceppo di *P. rubescens* utilizzato per l'esperimento di salinità con una concentrazione in vasca pari a 10^6 cell/L e mitili provenienti da un allevamento della costa marchigiana. Dopo una settimana di acclimatazione, l'esposizione è stata condotta per 14 giorni seguita da una settimana di detossificazione. Alcuni individui sono stati prelevati durante la fase di esposizione al fine di monitorare l'accumulo mediante l'analisi in LC-MS/MS.

Risultati e Discussione

Il metodo in LC-MS/MS è stato ottimizzato per le 3 matrici in studio, con l'introduzione della fase di pretrattamento per l'acqua ambientale, al fine di migliorare la sensibilità strumentale. Ottime performances si sono ottenute in termini di sensibilità (LOQ= 0,1 µg/L per l'acqua, =2 µg/kg per i mitili, =0,002 µg/L per i cianobatteri). Il monitoraggio ambientale evidenzia che nel lago, nei 3 anni di monitoraggio, si sono verificati periodi di contaminazione da MCs con livelli medi compresi tra 0,3 ed 1 µg/L tra aprile e maggio 2024, con un picco pari a 25 µg/L (corrispondente al limite nelle acque ricreazionali) ad inizio giugno 2024. Per l'anno 2025 i livelli medi sono risultati compresi tra 0,1 e 0,6 µg/L, con concentrazioni maggiori tra fine aprile e maggio, in accordo con quanto già descritto in letteratura relativamente a *P. rubescens* nel lago di Castreccioni [5]. Inoltre, il profilo tossico risulta caratterizzato dalle forme desmetilate di MC-RR, come già noto per *P. rubescens* [8]. Nel 2025, il monitoraggio quindicinale del sito per la potabilizzazione, ha evidenziato l'aumento primaverile della concentrazione dei cianobatteri e delle MCs, a cui è seguita l'indagine lungo il fiume Musone: si è riscontrato che i cianobatteri e di conseguenza le MCs possono raggiungere la foce del fiume. In concomitanza dei livelli riscontrati nel lago, tra giugno e agosto 2025 (0,1-0,2 µg/L) sono state misurate concentrazioni di MCs pari a 0,1 µg/L a valle della diga e livelli rilevabili, ma inferiori al LOQ, sia a metà del fiume che alla foce. L'aumento dei cianobatteri e quindi delle MCs non è identificabile come un vero e proprio fenomeno di fioritura, viste le basse concentrazioni (1×10^6 - 5×10^6 cell/L), ma come una situazione di accumulo dei cianobatteri dovuta alle alte temperature e alla luminosità della stagione estiva, che tende a far depositare tali organismi più in profondità. Se già in tali condizioni, i cianobatteri possono migrare verso la foce, il rischio di contaminazione dell'area costiera potrebbe diventare molto più elevato in caso di fioriture. Inoltre, le abbondanze cellulari rilevate, spesso sono risultate maggiori nel sito a valle della diga rispetto al lago, facendo presupporre un accumulo di cianobatteri nel fiume. Tale evidenza è supportata dall'esperimento di salinità, da cui è emerso che il ceppo *P. rubescens* non è in grado di sopravvivere a salinità ≥ 10 , sebbene le abbondanze cellulari e i livelli di MCs rimangano costanti alle diverse salinità, almeno durante le prime 48 ore. Pertanto, i cianobatteri e le tossine, raggiunto l'ambiente costiero potrebbero rimanere disponibili e stabili per qualche giorno e contaminare i mitili che, dall'esperimento preliminare di esposizione, hanno mostrato capacità di accumulo di MCs, anche se basse e non graduali, probabilmente a causa della modalità di somministrazione e alla concentrazione fornita. In conclusione, la presenza di *P. rubescens* nel lago di Castreccioni e le prime evidenze fornite sia dall'analisi dei campioni ambientali che dagli esperimenti in condizioni di laboratorio, evidenziano l'esigenza di indagare in maniera più approfondita il fenomeno: le MCs possono rappresentare una minaccia emergente per i mitili del Mar Adriatico e pertanto per il consumatore.

Bibliografia

- [1] Fraga M. et al. Marine Pollution Bulletin, 216 (2025) 118017.
- [2] Testai E. et. al. EFSA Supporting Publications, (2016) 13, 2.
- [3] WHO. Guidelines for drinking-water quality 2011, World Health Organization: Geneva, Switzerland.
- [4] WHO. Cyanobacterial toxins: microcystins. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments (2020), WHO/HEP/ECH/WSH/2020.6.
- [5] Akyol Ç. et al. Environmental Pollution, 286 (2021) 117535.
- [6] De Pace R. et al. Journal of Ecosystems, (2014) 374027.
- [7] Turner A.D. et al. Journal of Chromatography B, 1074–1075 (2018) 111–123.
- [8] Zoschke K. et al. Toxicon, 137 (2017) 95-98.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute IZSUM RF0012023, anno 2021.

Genetica di popolazione e adattamento locale in ambienti marini: il caso del genere *Chamelea* nel bacino del Mediterraneo e nelle aree limitrofe

C. Spinsante¹, F. Carducci¹, E. Carotti¹, A. Canapa¹, M. A. Biscotti¹, V. Ferrito², A. M. Pappalardo², M. Barucca¹

¹⁾Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche)

²⁾Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali (Università di Catania)

Keywords: Molluschi, *Chamelea*, Struttura genetica di popolazione, Adattamento locale

Introduzione

La *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), comunemente nota come vongola lupino, è un mollusco bivalve della famiglia Veneridae, diffuso nei fondali sabbiosi delle coste mediterranee fino a 20 metri di profondità. Questo bivalve svolge un ruolo ecologico fondamentale: contribuisce al ciclo dei nutrienti, crea e modifica gli habitat, e, grazie alla sua capacità di filtrazione, rappresenta un efficace biosensore dell'inquinamento e di altri cambiamenti ambientali nelle acque costiere.

Questa specie costituisce una risorsa fondamentale per la pesca europea e la costa adriatica rappresenta una delle sue aree principali di pesca, con un'economia che ha raggiunto un valore stimato di oltre 100 milioni di euro annui solo nel 2018 [1]. Negli ultimi decenni, le popolazioni adriatiche hanno subito una marcata riduzione [2]. Le cause precise degli eventi di moria di *C. gallina* rimangono poco chiare e devono essere presi in considerazione molteplici fattori sinergici tra cui le ampie e improvvise fluttuazioni della temperatura dell'acqua, della salinità, del pH, dell'ossigeno dissolto, della materia organica particolata, dei nutrienti e della qualità dei sedimenti, che si verificano abitualmente nelle aree costiere dell'alto Adriatico [3, 4]. Inoltre, le fioriture di fitoplancton [5], l'aumento dell'incidenza di malattie infettive [3, 6-7] e l'inquinamento [8-10] possono essere ulteriori potenziali fattori dannosi per lo stato di salute delle vongole. Tuttavia, l'assenza di un piano di monitoraggio completo negli ultimi decenni ha reso piuttosto difficile delucidare le possibili connessioni tra le fluttuazioni della risorsa e le variazioni ambientali [11].

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di definire il grado di variabilità genetica delle popolazioni di vongola *C. gallina*. L'elevata variabilità genetica, sia a livello di popolazione che in termini di eterozigosità a livello individuale, garantisce la sopravvivenza di una specie e costituisce la base dell'adattamento all'ambiente. Quindi lo studio della variabilità all'interno e tra popolazioni è fondamentale per mettere a punto strategie efficaci di conservazione della specie. Sono stati analizzati complessivamente 160 individui provenienti da otto siti di campionamento: Chioggia, Senigallia, Lesina, Manfredonia, Spagna, Portogallo, Sicilia e Turchia. A questi si aggiungono 40 esemplari della specie congenerica *C. striatula*, raccolti in due siti nell'Oceano Atlantico (Portogallo e Dogger Bank nel Mare del Nord), utilizzati come gruppi di confronto. Questo studio è stato condotto nell'ambito del Progetto di Ricerca di Interesse Nazionale (PRIN 2022), finanziato con fondi del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR).

Summary

Chamelea gallina is a bivalve mollusk of the Veneridae family, commonly found in sandy coastal habitats down to depths of 20 meters. It represents a key resource for European fisheries, but pollution and environmental fluctuations have led to a marked decline in its populations, threatening both biological and economic sustainability. To assess the genetic variability of the species, 160 individuals were collected from eight sites: Spain, Portugal, Sicily, Turkey, and four locations along the Italian Adriatic coast, together with 40 individuals of the congeneric species *C. striatula*, sampled from the Atlantic Ocean (Portugal and Dogger Bank). Using the double digest Restriction Site Associate DNA sequencing (ddRAD-seq) thousands of single nucleotide polymorphisms (SNPs) were obtained, allowing for a detailed analysis of the genetic structure within the genus *Chamelea*. The results revealed two genetically distinct groups corresponding to the two species. Within *C. gallina*, the Turkish population showed a clear genetic differentiation, while the Iberian populations (Spain and Portugal) were separated from the rest of the Mediterranean samples. Sicilian individuals displayed genetic connectivity across both the Western Mediterranean and Adriatic basins. Along the Adriatic coast, no significant genetic structure was observed among the four sampling sites, confirming the presence of a single panmictic population. These findings provide a comprehensive overview of the current genetic diversity in *C. gallina*, offering valuable insights into its adaptive potential and informing future conservation and management strategies.

Materiali e Metodi

Un totale di 200 esemplari, 20 per ogni sito, sono stati campionati in differenti siti del bacino Mediterraneo, oceano Atlantico e mar Nero. Una volta ottenuti i campioni è stata effettuata la purificazione del DNA a partire dal tessuto del piede della vongola. La concentrazione del DNA estratto è stata determinata utilizzando il kit Qubit 1X dsDNA HS (Life Technologies, Italia).

Il DNA purificato è stato sequenziato attraverso la tecnica *double-digest restriction-site associated DNA sequencing* (ddRAD-Seq) [12]. Questa tipologia di sequenziamento di ultima generazione è molto utilizzata in genetica di popolazione in quanto permette di valutare la distribuzione di migliaia di polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) all'interno di ciascuna popolazione o fra differenti popolazioni. I dati ottenuti sono stati filtrati per rimuovere individui con troppe informazioni mancanti e selezionare solo gli SNPs più affidabili. Sono stati applicati criteri basati su profondità di lettura, frequenza allelica e qualità del genotipo, oltre a controlli sull'equilibrio di Hardy-Weinberg e sulla correlazione tra loci [13-14]. I dati finali sono stati analizzati utilizzando pacchetti specifici di Rstudio [15-18] per investigare la struttura genetica di popolazione.

Inoltre, è stata applicata l'analisi *gradient forest* [19] per determinare quali fattori ambientali spiegassero maggiormente la variazione genetica tra le popolazioni di vongole. Per poter applicare il pacchetto R *gradient forest*, sono stati estratti dal *Copernicus Marine Service Information* (<https://marine.copernicus.eu>) dati relativi alla concentrazione di clorofilla (CHL), ossigeno dissolto (O₂), salinità (SALT), temperatura del fondo marino (BoT) e temperatura superficiale del mare (TEMP) per ciascuna delle 10 località di campionamento. Per ciascuna variabile sono stati calcolati i valori minimi, massimi e medi annuali, ottenendo in totale 15 variabili ambientali.

Risultati e Discussione

I risultati ottenuti dalla matrice di coancestry e dall'analisi delle componenti principali (PCA) hanno evidenziato la presenza di due gruppi geneticamente distinti, uno relativo a *C. gallina* e l'altro a *C. striatula*. Per *C. gallina* le analisi hanno rilevato un'elevata variabilità genetica all'interno della specie e delle popolazioni, con la presenza di un cluster differenziato costituito dalla popolazione proveniente dalla Turchia. Per quanto riguarda le altre popolazioni è emersa una chiara distinzione genetica tra gli individui provenienti dalla Spagna e dal Portogallo rispetto a quelli dell'Adriatico, mentre gli esemplari raccolti in Sicilia mostrano una distribuzione sovrapposta con gli individui campionati negli altri siti del Mediterraneo. Per quanto riguarda la costa adriatica, non è emersa alcuna struttura genetica significativa tra gli individui delle quattro località di campionamento, confermando l'esistenza di una popolazione panmittica.

È stato inoltre indagato un ulteriore aspetto, quello dell'adattamento locale, analizzabile attraverso dati genetici ad alta densità e dati relativi a variabili ambientali (CHL, O₂, SALT, BoT, TEMP). La temperatura è risultata essere la variabile meglio correlata con la variabilità genetica evidenziata tra le popolazioni di vongole, confermando l'evidenza che tra gli invertebrati marini l'adattamento alla temperatura locale sia un fenomeno ampiamente diffuso [20].

Questi risultati forniscono un quadro aggiornato sulla diversità genetica di *C. gallina* e *C. striatula*, fondamentale per comprendere la loro capacità di adattamento ai cambiamenti ambientali e per permettere di sviluppare strategie per la loro gestione sostenibile. Inoltre, l'analisi *Gradient Forest* ha evidenziato l'importanza della temperatura nell'adattamento locale nelle vongole, sottolineando l'importanza di considerare le pressioni ambientali in un contesto di riscaldamento globale.

Bibliografia

- [1] Carducci F. et al.: Omics approaches for conservation biology research on the bivalve *Chamelea gallina*. *Sci Rep.* 10, 19177; (2020).
- [2] Grazioli E. et al.: Review of the scientific literature on biology, ecology, and aspects related to the fishing sector of the striped venus (*Chamelea gallina*) in Northern Adriatic Sea. *J Mar Sci Eng.* 10:1328; (2022).
- [3] Matozzo V., et al.: First evidence of immunomodulation in bivalves under seawater acidification and increased temperature. *PLoS One.* 7:e33820; (2012).
- [4] Sordo L., et al.: Long-term effects of high CO₂ on growth and survival of juveniles of the striped venus clam *Chamelea gallina*: implications of seawater carbonate chemistry. *Mar Biol.* 168, 123; (2021).
- [5] Romanelli M., et al.: The long-term decline of the *Chamelea gallina* L. (Bivalvia: Veneridae) clam fishery in the Adriatic Sea: is a synthesis possible? *Acta Adriat.* 50:171-205; (2009).
- [6] Milan M., et al.: Host–microbiota interactions shed light on mortality events in the striped venus clam *Chamelea gallina*. *Mol Ecol.* 28:5142–5155; (2019).
- [7] Torresi M., et al.: Detection of *Vibrio splendidus* and related species in *Chamelea gallina* sampled in the Adriatic along the Abruzzi coastline. *Vet Ital.* 47:371-370; (2011).
- [8] Guglielmi M.V., et al.: First data on the effect of Aluminium intake in *Chamelea gallina* of exploited stocks in the southern Adriatic Sea (Central Mediterranean Sea). *Regional Studies in Marine Science.* 63:103025; (2023).
- [9] Visciano P., et al.: Concentrations of contaminants with regulatory limits in specimens of *Chamelea gallina* collected along the Abruzzi coastal region in Central Italy. *J Food Prot.* 78:1719–1728; (2015).
- [10] Monari M., et al.: Heat shock protein 70 response to physical and chemical stress in the Venus clam *Chamelea gallina*. *J Exp Mar Biol Ecol.* 397:71–78; (2011).
- [11] Carlucci R., et al.: Fluctuations in abundance of the striped venus clam *Chamelea gallina* in the southern Adriatic Sea (Central Mediterranean Sea): knowledge, gaps and insights for ecosystem-based fishery management. *Rev Fish Biol Fisheries.* 34, 827–848; (2024).
- [12] Peterson B.K., et al.: Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One.* 7:e37135; (2012).
- [13] Danecek, P. et al.: The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics.* 27, 2156–2158; (2011).
- [14] Purcell, S. et al.: PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.* 81, 559–575; (2007).

- [15] Malinsky M., et al.: RADpainter and fineRADstructure: population inference from RADseq data. *Mol Biol Evol.* 35:1284–1290; (2018).
- [16] Fritchot E., et al.: LEA: an R package for landscape and ecological association studies. *Methods Ecol Evol.* 6:925–929; (2015).
- [17] Jombart T.: adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics.* 24:1403–1405; (2008).
- [18] Jombart T. & Ahmed I.: Adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics.* 27, 3070–3071; (2011).
- [19] Ellis, N., Smith, S. J. & Pitcher, C. R. Gradient forests: calculating importance gradients on physical predictors. *Ecology.* 93, 156–168; (2012).
- [20] Sanford E. & Kelly M.W.: Local adaptation in marine invertebrates. *Annu Rev Mar Sci.* 3:509-535; (2011).

Stato di salute di ostriche piatte allevate in un modello IMTA: evidenze di parassiti e neoplasie nell'Adriatico settentrionale

A. Vetri¹, S. Zrnčić², I. G. Zupičić², D. Grbin², C. D'Onofrio¹, N. Scapin¹, G. Arcangeli¹, T. Pretto¹

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - ITALY

²⁾ Croatian Veterinary Institute – CROATIA

Keywords: *Perkinsus mediterraneus*; oysters; neoplasia; monitoring

Introduzione

Il monitoraggio sanitario di ostriche piatte (*Ostrea edulis*) è stato condotto nell'Adriatico settentrionale nell'ambito del progetto di ricerca INTERREG "MARINET", che mira a valutare la fattibilità di un modello di Acquacoltura Multi-Trofica Integrata (IMTA) basato sull'allevamento combinato di ostriche piatte e branzini (*Dicentrarchus labrax*). A tal fine, giovanili di ostriche provenienti dalla Baia di Lim (Croazia) sono state collocate in lanterne nei pressi di allevamenti di branzino in due siti sperimentali: Duino (Italia) e Budava (Croazia). Controlli sanitari regolari sono stati effettuati per monitorare la presenza di malattie notificabili (*Bonamia* spp., *Marteilia refringens*) e di altri potenziali patogeni, sia nei siti sperimentali che nella Baia di Lim, considerata sito d'origine. Le ostriche sono state campionate mensilmente o bimestralmente per un periodo di un anno e analizzate secondo i protocolli dell'EURL (IFREMER).

Summary

As part of the INTERREG "MARINET" project, a health monitoring program was conducted to evaluate the feasibility of an Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) system involving flat oysters (*O. edulis*) and sea bass (*D. labrax*) in the Northern Adriatic Sea. Juvenile oysters from Lim Bay (Croatia) were collocated in lantern nets near sea bass farms at two experimental sites: Duino (Italy) and Budava (Croatia). Samplings over one year period were performed monthly or bimonthly to screen for endemic pathogens (*Bonamia* spp., *Marteilia refringens*) and other diseases, following EURL (IFREMER) protocols. Histological and molecular analyses revealed the widespread presence of *Perkinsus mediterraneus* in oysters from all three locations, marking the first report of this parasite in farmed flat oysters in the Northern Adriatic. The highest prevalence of *P. mediterraneus* was recorded in autumn (October, 17.5°C), suggesting a temperature-dependent pattern. *Bonamia exitiosa* was detected from June to October but was absent in colder months (December–February) at the Italian site. A co-infection with *B. exitiosa* and *P. mediterraneus* was observed in one oyster, and disseminated neoplasia was identified in 10 individuals from Duino. These findings underline the importance of continued health surveillance in IMTA systems and provide new insights into pathogen dynamics in relation to environmental conditions.

Materiali e metodi

Analisi istologiche sono state effettuate mensilmente in Croazia e ogni due mesi in Italia, evidenziando una diffusa presenza di parassiti riconducibili al genere *Perkinsus* nei campioni provenienti da Duino, Lim Bay e Budava. La specie *P. mediterraneus* è stata confermata tramite analisi molecolari (PCR e sequenziamento), seguendo il protocollo descritto da Casas et al., 2002 [1].

Su tutti i campioni sono state inoltre eseguite analisi molecolari (real-time PCR) per la rilevazione di patogeni soggetti a notifica (*Bonamia ostreae*, *B. exitiosa*, *Marteilia refringens*), secondo i protocolli dell'EURL (IFREMER) [2][3].

Risultati e discussione

Trofozoiti e stadi multicellulari di *P. mediterraneus* sono stati osservati nel tessuto connettivo della massa viscerale, delle gonadi, delle branchie, dei palpi labiali e del mantello, spesso associati a un'importante infiltrazione emoticaria. La prevalenza del parassita risulterebbe correlata alla temperatura, con un picco massimo registrato in ottobre (17,5°C).

Bonamia exitiosa è stata rilevata da giugno a ottobre, risultando assente nel sito italiano nei mesi invernali (dicembre–febbraio), quando la temperatura dell'acqua è scesa sotto i 15°C. Una co-infezione da *B. exitiosa* e *P. mediterraneus* è stata riscontrata in un esemplare proveniente da Duino.

Nello stesso sito è stata inoltre rilevata la presenza di 10 ostriche che presentavano neoplasia diffusa. Le cellule neoplastiche, caratterizzate da citoplasma ridotto, nuclei di grandi dimensioni e presenza di figure mitotiche, sono state osservate nei tessuti connettivi di diversi organi e nell'emolinfa.

L'identificazione di *Perkinsus mediterraneus*, *Bonamia exitiosa* e la presenza di soggetti con neoplasia sottolineano la necessità di mantenere un attento monitoraggio sanitario nei sistemi IMTA. Si tratta della prima segnalazione di *P. mediterraneus* nell'Adriatico settentrionale, con una prevalenza apparentemente influenzata dalle condizioni termiche ambientali.

Bibliografia

- [1] Casas SM, Villalba A, Reece KS (2002) Study of perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). Identification of the aetiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity. *Dis Aquat Org* 50(1):51–65.
- [2] IFREMER European Union Reference Laboratory for Mollusc Diseases: SOP – *Bonamia ostreae* and *Bonamia exitiosa* detection by Real time Polymerase Chain Reaction (PCR) (2nd edition, February 2023).
- [3] IFREMER European Union Reference Laboratory for Mollusc Diseases: SOP – *Marteilia refringens* detection and typing by Taqman® Real Time Polymerase Chain Reaction (3a edition, March 2023).

Metalli nei molluschi: sette anni di monitoraggio del Nichel in aree di produzione dell'Emilia-Romagna

T. M. Vollaro¹, D. Ippoliti¹, M. Peloso¹, G. Fedrizzi¹

¹⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna "Bruno Ubertini" – Reparto Chimico degli Alimenti di Bologna

Keyword: Nichel, Molluschi, Monitoraggio, ICP-MS/MS

Introduzione

Questo studio nasce dalla necessità di colmare una lacuna nella conoscenza dell'accumulo di nichel negli alimenti, con un focus particolare sui molluschi, inserendo questa tematica all'interno di un quadro normativo europeo sempre più chiaro e rigoroso. Il nichel è un metallo tossico per la riproduzione e lo sviluppo e può causare effetti acuti, come reazioni cutanee nei soggetti sensibilizzati, che interessano circa il 15% della popolazione. La valutazione dell'esposizione dei consumatori, in particolare attraverso i prodotti ittici, è cruciale poiché questi rappresentano una parte rilevante della dieta in molte aree costiere europee [1], [2].

Negli ultimi anni, l'Unione Europea ha rafforzato il monitoraggio di questo metallo. Oltre alla Raccomandazione (UE) 2016/1111 [3], che sollecita gli Stati membri a controllare sistematicamente la presenza di nichel in diverse categorie alimentari, inclusi i molluschi bivalvi, la più recente Raccomandazione (UE) 2024/907[4] estende tale invito al monitoraggio di tutte le specie ittiche fino al 2027. Parallelamente, nel 2024 è stato emanato il Regolamento (UE) 2024/1987 [5], in vigore da luglio 2025, che stabilisce i limiti massimi di nichel in alcuni alimenti, sebbene i molluschi bivalvi non siano ancora inclusi.

In questo contesto, il presente progetto si propone di contribuire a una mappatura esaustiva dell'esposizione alimentare al nichel nella popolazione italiana attraverso il consumo di molluschi bivalvi, ampliando il monitoraggio sia dal punto di vista geografico sia temporale [6], [7].

Grazie alla loro modalità di alimentazione per filtrazione, i bivalvi accumulano nel loro tessuto tracce di contaminanti presenti nell'acqua e nel sedimento circostante, fornendo così una fotografia accurata e integrata della qualità ambientale delle zone costiere.

Le analisi del nichel sono state condotte in accordo con il Regolamento EU 2024/1045[8], utilizzando un metodo di analisi in ICP-MS/MS.

L'obiettivo del progetto è duplice: da un lato, assicurare la conformità con le più recenti raccomandazioni e regolamenti europei; dall'altro, generare un dataset solido e di lungo periodo, utile per individuare trend temporali, aree a rischio e per supportare politiche di gestione e misure di mitigazione a tutela della salute pubblica e dell'ambiente.

Summary

This study addresses the lack of comprehensive data on nickel (Ni) accumulation in food, focusing on molluscs. It aligns with Commission Recommendation (EU) 2016/1111, which calls on Member States to monitor nickel in various food categories, including molluscs, due to limited existing data across Europe.

Bivalve molluscs are ideal biological indicators of marine pollution. As filter feeders, they accumulate trace metals from their surrounding environment, offering a time-integrated picture of contamination in coastal and lagoon ecosystems.

Nickel concentrations in bivalve tissues were analysed using ICP-MS/MS, following the EU 2024/1045 standard, ensuring accurate and comparable results.

The project has two main goals: to meet EU monitoring requirements and to develop a robust dataset for identifying trends, risk areas, and supporting environmental and public health decisions.

Materiali e Metodi

In questo studio sono stati analizzati 168 campioni di molluschi bivalvi e gasteropodi per la quantificazione del nichel mediante spettrometria di massa con plasma accoppiato induttivamente e rivelatore a triplo quadrupolo (ICP-MS/MS). Le analisi sono state svolte presso il Reparto Chimico degli Alimenti dell'IZSLER di Bologna utilizzando un metodo validato e accreditato secondo le normative vigenti. I campioni provengono dalla costa Emiliana-Romagnola, in particolare dalle province di Ferrara (55 campioni), Ravenna (14 campioni), Forlì-Cesena (27 campioni) e Rimini (72 campioni), e rientrano in un'attività di monitoraggio svolta dal 2018 al 2024. I campioni possono così essere suddivisi in base alla matrice analizzata: 87 vongole (*Chamelea gallina* e *Ruditapes philippinarum*, il 51,8%), 44 mitili (*Mytilus galloprovincialis*, il 26,2%), 33 molluschi gasteropodi (19,6%) e 4 ostriche (2,4%). Nel corso degli anni i campioni possono così essere ripartiti: 20 campioni nel 2018, 21 nel 2019, 27 nel 2020, 26 nel 2021, 26 nel 2022, 22 nel 2023 e 26 nel 2024.

Per ogni campione, una porzione di tessuto edibile è stata sottoposta a digestione acida e successiva analisi strumentale. L'identificazione e la quantificazione del nichel sono state eseguite mediante calibrazione esterna, utilizzando uno standard interno in infusione continua.

La qualità dei dati è stata verificata analizzando in parallelo campioni bianchi e materiali di riferimento certificati. Il metodo impiegato è validato e accreditato secondo le normative vigenti, con un limite di quantificazione per il nichel pari a 0,005 mg/kg.

Risultati e Discussione

Prendendo in analisi le singole matrici troviamo che per i mitili la concentrazione rilevata più alta è di 3,7 mg/kg, la più bassa è inferiore al LOQ, mentre la media delle concentrazioni è di 0,558 mg/kg. Nei campioni di vongole invece, la concentrazione rilevata più alta è di 11,9 mg/kg, la più bassa è di 0,008 mg/kg, mentre la media delle concentrazioni è di 1,7 mg/kg. Per i quattro campioni di ostriche le concentrazioni di nichel rilevate sono tutte inferiori a 0,350 mg/kg. Infine, per i 33 campioni di molluschi gasteropodi analizzati, la concentrazione rilevata più alta è di 2,6 mg/kg, la più bassa è di 0,033 mg/kg, mentre la media delle concentrazioni è di 0,420 mg/kg. Da questi dati si evince che le vongole hanno una tendenza maggiore ad assimilare nichel rispetto ai mitili e gli altri molluschi presi in esame. Questo risultato può essere spiegato da diverse cause: in primo luogo dalla tendenza del nichel a essere maggiormente presente nei sedimenti e sul fondale marino, ed è quindi maggiormente assimilato dagli organismi bentonici come le vongole; i mitili invece, che crescono su rocce, pali o reste, vivono ad un'altezza della colonna d'acqua intermedia, filtrando quindi acqua a minor contatto con il sedimento e il nichel. Per quanto riguarda le ostriche, il campione preso in esame, solo 4 ostriche analizzate, è insufficiente per poter fare un confronto statisticamente significativo con gli altri molluschi.

Analizzando la provenienza dei molluschi possiamo notare che l'area con la concentrazione media di nichel più alta è quella di Ferrara con 1,8 mg/kg, mentre le altre tre aree si attestano con una concentrazione media che varia tra 0,760 mg/kg e 0,962 mg/kg. Questo risultato può essere dovuto sia alla maggior numerosità dei campioni di vongole provenienti da quest'area (il 74,5% del totale), sia alla vicinanza della provincia di Ferrara alla foce del fiume Po, che potrebbe essere causa di una maggiore concentrazione di nichel nelle acque a causa dei suoi sedimenti.

Andando a valutare infine l'andamento della concentrazione del nichel nel corso degli anni e nelle varie aree prese in esame, non si notano discostamenti significativi né temporali, né spaziali.

L'assenza di limiti di legge e di regolamenti precisi che normino il quantitativo di nichel nei molluschi può comunque essere un rischio per la salute dei consumatori più sensibili. Potrebbe quindi essere necessario valutare la possibilità di estendere la durata del monitoraggio, così da poter cogliere future variazioni del tenore di nichel nei molluschi e approfondire lo studio sull'esposizione dei consumatori.

Bibliografia

- [1] D. Schrenk *et al.*, 'Update of the risk assessment of nickel in food and drinking water', *EFSA Journal*, vol. 18, no. 11, Nov. 2020, doi: 10.2903/j.efsa.2020.6268.
- [2] 'Scientific Opinion on the risks to animal and public health and the environment related to the presence of nickel in feed', *EFSA Journal*, vol. 13, no. 4, Apr. 2015, doi: 10.2903/j.efsa.2015.4074.
- [3] Raccomandazione (UE) 2016-1111 Relativa al monitoraggio del nichel negli alimenti. 2016. doi: 10.2903/j.
- [4] Raccomandazione (UE) 2024-907 Relativa al monitoraggio del nichel negli alimenti, vol. 13, no. 2. 2024. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4002.
- [5] Regolamento (UE) 2024-1987 che modifica il regolamento (UE) 2023-915 per quanto riguarda i tenori massimi di nichel in alcuni prodotti alimentari, vol. 13, no. 2. 2024. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4002.
- [6] A. Chahouri, B. Yacoubi, A. Moukrim, and A. Banaoui, 'Bivalve molluscs as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: Recent advances', Jul. 15, 2023, Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.csr.2023.105056.
- [7] F. Bruno *et al.*, 'Mineral composition in mussel *Mytilus galloprovincialis* and clam *Tapes decussatus* from Faro Lake of Messina: risk assessment for human health', *Frontiers in Toxicology*, vol. 6, 2024, doi: 10.3389/ftox.2024.1494977.
- [8] Regolamento (UE) 2024-1045 recante modifica del regolamento (CE) 2007-333 per quanto riguarda i metodi di campionamento e di analisi per il controllo dei tenori di nichel nei prodotti. 2024.

RELAZIONI A INVITO

La forza della variabilità genetica nell'adattamento e nella resilienza dei molluschi bivalvi

M. Barucca

Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche)

La variabilità genetica rappresenta la materia prima dell'evoluzione e costituisce un elemento chiave per la resilienza e la sopravvivenza delle specie. Popolazioni con elevata diversità hanno maggiori probabilità di adattarsi a condizioni ambientali mutevoli, resistere a stress naturali o antropici e mantenere il proprio potenziale evolutivo, un aspetto particolarmente rilevante nell'attuale contesto di cambiamenti climatici.

Lo sviluppo delle moderne tecnologie di sequenziamento ha rivoluzionato lo studio della genetica di popolazione dei molluschi bivalvi, permettendo di analizzare migliaia di marcatori distribuiti sull'intero genoma. Questi approcci forniscono una risoluzione senza precedenti nella caratterizzazione della variabilità genetica e consentono di descrivere con maggiore precisione la struttura delle popolazioni, i livelli di consanguineità e la connettività, anche in specie con limitati dati genomici disponibili.

Le nuove conoscenze aprono prospettive nello studio dell'adattamento locale, collegando differenze genetiche a fattori ambientali che modellano la struttura delle popolazioni e influenzano il flusso genico. Inoltre, recenti studi hanno evidenziato nei bivalvi il ruolo di meccanismi genomici complessi, come elementi trasponibili e duplicazioni geniche, che arricchiscono la variabilità e favoriscono risposte evolutive rapide in ambienti perturbati.

Nel complesso, la diversità genetica dei bivalvi emerge come fattore cruciale per l'adattamento e la resilienza, con implicazioni dirette per la conservazione delle specie, la gestione delle risorse marine e lo sviluppo di strategie di acquacoltura sostenibile.

La genetica molecolare come strumento per il monitoraggio e la gestione sostenibile della mitilicoltura

S. Chiesa¹, T. Petochi¹, G. Arcangeli², A. Armani³, L. Lucentini⁴, G. Prioli⁵, E. Rambaldi⁶, G. Marino¹

¹⁾ Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) - Roma

²⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Legnaro (PD)

³⁾ Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa - Pisa

⁴⁾ Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università di Perugia - Perugia

⁵⁾ M.A.R.E. Soc. Coop. a r.l. - Cattolica (RN)

⁶⁾ A.M.A. Associazione Mediterranea Acquacoltori - Roma

Keywords: mitilo mediterraneo, specie aliene, genetica molecolare, ibridazione, gestione sostenibile

La mitilicoltura rappresenta un settore di primaria importanza per l'acquacoltura italiana, con una produzione stimata nel 2023 di oltre 57.000 tonnellate di mitilo mediterraneo *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) [1]. Oltre a quest'ultima, sono presenti nelle acque Europee altre due specie: *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) e *Mytilus trossulus* (Gould, 1850). La prima, comunemente denominata cozza Atlantica o "blue mussel", è ampiamente coltivata a scopo commerciale lungo la costa atlantica dell'Europa. La seconda, comunemente denominata "bay mussel", non ha invece valore commerciale, per la fragilità della conchiglia e le carni di scarsa qualità [2,3]. Queste tre specie costituiscono il cosiddetto "*Mytilus species complex*" e sono in grado di ibridare facilmente quando si trovano in condizioni di simpatia [4]. L'ibridazione e i livelli di eterozigosi possono influenzare la fitness dei mitili di interesse commerciale, con effetti sulla crescita, sulla vitalità e sulla produttività. In particolare, i pochi dati disponibili in letteratura sembrerebbero indicare che l'introgressione di alleli di *M. edulis* nel genoma di *M. galloprovincialis* è associata ad una diminuzione dell'eterozigosi, i cui effetti in termini di fitness della progenie ibrida non sono ancora del tutto chiari [5].

Ciò è particolarmente importante alla luce dello scenario corrente legato alla crisi climatica cui sono collegati eventi metereologici estremi, crisi anossiche e MHW (Marine Heat Waves), che richiedono particolare attenzione e cautela per la gestione delle popolazioni allevate e dei banchi naturali di mitili autoctoni. Il mantenimento di esemplari vivi di *M. edulis* in acque libere presso impianti di mitilicoltura, a seguito di introduzioni non autorizzate, potrebbe rappresentare un rischio per la diffusione di questa specie alloctona, e della sua ibridazione con popolazioni naturali e allevate del mitilo autoctono *M. galloprovincialis*.

L'impiego in acquacoltura di specie esotiche e di specie localmente assenti, l'introduzione e/o la traslocazione delle suddette specie è autorizzato ai sensi del Regolamento (CE) n. 708/2007, Art.6 [6] da parte dell'Autorità Competente nazionale (Art. 5), per l'Italia il Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste (Masaf). Il regolamento non si applica (Art. 2) alle specie elencate nell'Allegato IV, tra le quali tuttavia non figura nessuna specie del genere *Mytilus*. Nell'ambito dei lavori del Comitato acquacoltura specie esotiche, istituito dal Masaf per l'applicazione del sopracitato Regolamento (D.M. del 01/04/2025), è stata quindi attenzionata la necessità di un approfondimento relativo alla presenza non autorizzata di esemplari *M. edulis* e/o di ibridi negli impianti di mitilicoltura italiani.

A tale scopo, il Masaf ha recentemente finanziato per il periodo 2025-2027, il progetto di Ricerca "MITILO", che vede la collaborazione di ISPRA, IZSVe, Università di Pisa e Università di Perugia e il supporto tecnico e logistico delle associazioni e degli operatori. Il progetto ha lo scopo di analizzare la diversità genetica delle popolazioni italiane di mitili per valutare la presenza della specie *M. edulis* e/o gli ibridi di *M. edulis/M. galloprovincialis* presso gli impianti di mitilicoltura italiani e nei banchi naturali adiacenti e la distribuzione geografica e spaziale delle specie e dei genotipi identificati. Tali dati sono importanti per informare i mitilicoltori dei rischi connessi alle introduzioni non autorizzate di specie esotiche e/o localmente assenti, e sviluppare delle buone pratiche da adottare per limitare e contenere gli impatti sulla mitilicoltura nazionale.

Mussel farming is a key sector for Italian aquaculture, with an estimated production of over 57,000 tonnes in 2023 of Mediterranean mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) [1]. Two other mussel species occur in Europe: *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) – commonly known as blue mussel and widely cultivated for commercial purposes along the Atlantic coast of Europe – and *Mytilus trossulus* (Gould, 1850) – commonly known as the "bay mussel", which is not considered a species of commercial interest, due to the fragility of its shell and poor quality meat [2,3]. These three species constitute the so-called '*Mytilus species complex*' and are able to hybridise when occurring in sympatry [4]. Hybridisation and heterozygosity levels can affect the fitness of commercially important mussels, with effects on growth, vitality and productivity. In particular, although limited, literature data suggest that the introgression of *M. edulis* alleles into the *M. galloprovincialis* genome is associated with a decrease in heterozygosity whose effects on the fitness of hybrid progeny are not entirely clear [5].

This is particularly important considering the climate crisis scenario and the intensification of extreme weather events, anoxic crises and MHWs (Marine Heat Waves), which require particular attention and caution in the

management of farmed populations and natural beds of native mussels. The maintenance of live specimens of *M. edulis* in open waters at mussel farms, following unauthorised introductions, may represent a risk for the spread of this non-native species and its hybridisation with natural and farmed populations of the native mussel Mediterranean *M. galloprovincialis*.

Moreover, it is noteworthy to mention that the Regulation (EC) No. 708/2007 concerning the “use of alien and locally absent species in aquaculture” [6], clearly states that the introduction and/or translocation of these species is subject to authorisation (Art. 6) by the national competent authority (Art. 5), in Italy represented by the Ministry of agriculture, food sovereignty and forestry (Masaf). This Regulation does not apply (Art. 2) to the species listed in Annex IV that does not include any *Mytilus* species. The Italian advisory committee, established by Masaf (M.D. of April 1st, 2025) for the application of the Regulation (EC) No. 708/2007 (Art. 5) has therefore highlighted the need for further investigation into the unauthorised presence of blue mussels (*M. edulis*) and/or hybrids in Italian mussel farming facilities.

Therefore, Masaf recently funded the “MITILO” research project for the period 2025-2027, with the collaboration between ISPRA, IZSVe, the University of Pisa and the University of Perugia, and the technical support from the shellfish farmer associations and operators. The project investigates the genetic diversity of Italian populations, to assess the possible occurrence of *M. edulis* and/or *M. edulis/M. galloprovincialis* hybrids at Italian mussel farming facilities and in natural beds in neighbouring areas, and the geographical and spatial distribution of the species and of the different genotypes. This information is crucial to inform mussel farmers of the risks associated with the unauthorised introduction of exotic and/or locally absent species, and to develop good practices for limiting the impacts on national mussel farming activities.

Bibliografia

- [1] Eurostat (05/05/2025). Production from aquaculture excluding hatcheries and nurseries (from 2008 onwards). 2025 556 https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/fish_aq2a_custom_17962939/default/table
- [2] Penney, R. W., Hart, M. J., & Templeman, N. D. (2007). Shell strength and appearance in cultured blue mussels *Mytilus edulis*, *M. trossulus*, and *M. edulis* × *M. trossulus* hybrids. North American Journal of Aquaculture, 69, 281–295.
- [3] Penney, R. W., Hart, M. J., & Templeman, N. D. (2008). Genotype dependent variability in somatic tissue and shell weights and its effect on meat yield in mixed species [*Mytilus edulis* L., *M. trossulus* (Gould), and their hybrids] cultured mussel populations. Journal of Shellfish Research, 27(4), 827–835.
- [4] Gosling, E., (1992). Genetics of *Mytilus*. In: Gosling, E. (Ed.), The Mussels *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Elsevier, The Netherlands, pp. 309–382.
- [5] Vendrami, D.L.J., De Noia, M., Telesca, L., Brodte, E.M., Hoffman, J.I. (2020). Genome-wide insights into introgression and its consequences for genome-wide heterozygosity in the *Mytilus* species complex across Europe. Evolutionary Applications, DOI: 10.1111/eva.12974
- [6] EC Regulation No 708/2007 of 11 June 2007 Concerning Use of Alien and Locally Absent Species in Aquaculture. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R0708&from=EN>

D.M. del 25 settembre 2024 e relative linee guida nazionali sull'applicazione delle misure di biosicurezza in acquacoltura

M. Dalla Pozza¹, A. Maroni Ponti²

- 1) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
- 2) Ministero della Salute Direzione Generale Sanità Animale e del Farmaco Veterinario - uff. 3

Keywords: Acquacoltura, Biosicurezza, Molluschi

Introduzione

Il Regolamento (UE) 2016/429, noto come Animal Health Law (AHL), ha sostituito le precedenti norme sulla sanità animale, introducendo un quadro normativo armonizzato fondato sul principio “prevenire è meglio che curare”. L’AHL adotta un approccio basato sul rischio, introduce precise responsabilità a carico dell’operatore: Sanità degli animali detenuti; l’uso prudente e responsabile dei farmaci veterinari; la riduzione al minimo dei rischi di diffusione delle malattie; l’adozione di misure di biosicurezza e buone pratiche di allevamento.

Inoltre regolamenta la sorveglianza, anche da parte dell’operatore, per l’individuazione precoce delle malattie e ponendo l’accento sulla prevenzione e sulle buone pratiche di allevamento.

Un aspetto centrale è rappresentato dalla biosicurezza, riconosciuta come strumento prioritario di prevenzione e posta sotto la responsabilità diretta dell’operatore. Ogni stabilimento deve pertanto dotarsi di un piano specifico e nominare un responsabile per la sua attuazione.

Il Regolamento delegato (UE) 2020/691 integra l’AHL, fornendo disposizioni dettagliate sulle misure di biosicurezza da adottare negli stabilimenti di acquacoltura (inclusa la molluscoltura) e durante il trasporto di animali acQUATICI, al fine di ridurre il rischio di introduzione e diffusione di malattie elencate o emergenti. Le misure previste comprendono: separazione funzionale degli spazi, controllo degli accessi, sanificazione di attrezzi e veicoli, monitoraggio dello stato di salute degli animali.

In risposta al nuovo quadro europeo, l’Italia ha emanato il D.lgs. 136/2022, che ribadisce il ruolo centrale della prevenzione attraverso la sorveglianza sanitaria affidata all’operatore adeguatamente formato. L’articolo 10 prevede inoltre l’emanazione di decreti ministeriali per definire le modalità applicative delle misure di biosicurezza, differenziate per specie allevata e tipologia produttiva.

Per quanto riguarda l’acquacoltura, nell’autunno 2024 è stato pubblicato il Decreto Ministeriale 25 settembre 2024 (“Requisiti di biosicurezza per stabilimenti di acquacoltura riconosciuti e attività correlate”), che recepisce in larga parte quanto già previsto dal Reg. delegato (UE) 2020/691. Successivamente, a maggio 2025, sono state approvate le Linee guida operative in materia di biosicurezza in acquacoltura con nota del Ministero della salute N. 0014990-20/5/2015, che mettono a disposizione degli operatori strumenti pratici e modelli di raccolta dati utili alla predisposizione del piano di biosicurezza.

Oltre a premessa e introduzione, le Linee guida sopra citate sono composte dai allegati: fra cui:

Definizioni rilevanti nell’ambito della biosicurezza (raccolta delle definizioni in materia, raccolte nei diversi atti normativi europei); Informazioni sulla corretta registrazione degli stabilimenti nel sistema I&R, con riportate le schede gestionali della sezione acquacoltura e la terminologia di riferimento; i requisiti per il riconoscimento degli stabilimenti in riferimento all’applicazione delle misure di biosicurezza; Un’elencoNTEZIONE DEI RISCHI DI INTRODUZIONE E DIFFUSIONE DELLE MALATTIE INFETTIVE E RELATIVE BUONE PRASSI DI BIOSICUREZZA IN PESCI, MOLLUSCHI E CROSTACEI; prescrizioni in materia di biosicurezza per le navi e strutture mobili riconosciute; inoltre sono riportati schemi (fac simili) di manuali di biosicurezza per pesci –crostacei e molluschi. Inoltre uno schema di manuale biosicurezza – navi e strutture mobili riconosciute.

L’emissione di queste Linee guida permetterà di applicare le misure di biosicurezza a livello nazionale in maniera standardizzata, traducendo il quadro normativo europeo e nazionale in strumenti concreti e semplici da utilizzare. Tali linee guida rappresentano un supporto tecnico fondamentale per gli operatori, ma sono anche un punto di riferimento per le autorità competenti durante i controlli ufficiali. In questo modo, la prevenzione delle malattie in acquacoltura diventa una responsabilità condivisa, capace di coniugare tutela della salute animale, salvaguardia ambientale e sostenibilità economica delle produzioni.

ENvironmental DRIvers influencing fattening and calcification processes of wild and farmed MUSSels in the Adriatic Sea (ENDRIMUS)

A. Mancuso^{1,5}, C. Cassarino¹, A. Campanelli², F. Grilli², M. Marini^{2,5}, A. Basho^{1,2}, C. Mazzoli³, G. Raverà³, S. Capellacci³, S. Casabianca^{3,5}, G. Famiglini⁴, E. Caroselli^{1,5}, G. Prioli⁶, A. Penna^{3,5}, A. Spagnolo², S. Goffredo^{1,5}

¹⁾ Dep. of Biological, Geological and Environmental Sciences, University of Bologna, 40126 Bologna

²⁾ CNR Institute of Marine Biological Resources and Biotechnologies (CNR IRBIM), 60125, Ancona

³⁾ Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino, Campus Enrico Mattei, 61029, Urbino

⁴⁾ Department of Pure and Applied Sciences, University of Urbino, Campus Enrico Mattei, Urbino

⁵⁾ Fano Marine Center, The Inter-Institute Center for Research on Marine Biodiversity, Resources and Biotechnologies, 61032 Fano, Italy

⁶⁾ M.A.R.E. S.c.r.l., Via E. Toti, 2, 47841 Cattolica (RM)

e-mail: arianna.mancuso2@unibo.it

Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) are the most important species for Italian shellfish market. Production mainly comes from sea-farms and wild populations of the northwestern (NW) Adriatic Sea. In recent years, both farmed and wild mussels have experienced meat loss and increased shell fragility, which negatively affects their quality and market value. Since farming techniques have remained mostly unchanged, and wild populations show similar affections, environmental factors are likely contributing to these effects. The main goals of the PRIN-PNRR ENDRIMUS are to identify key environmental and biological factors affecting the quality of farmed and wild mussels in three sites (Rimini, Senigallia, and Giulianova) along a latitudinal gradient on the Adriatic coast, to provide farmers with insights for the future development of mussel aquaculture. Environmental analyses showed an increased salinity gradient toward the south, while other parameters (temperature, total alkalinity, and carbonate chemistry) appeared homogeneous across sites. Nutrient concentrations decreased southward during winter, but were more homogeneous in spring, and chlorophyll a showed a decreasing trend towards the south. The abundance of target phytoplankton groups in mussel tissues reflected the expected assemblages. All mussel samples contained seeds, with the settlement extending into spring, when specimens of 2-4 mm total length (TL) were found. Farmed mussels resulted to have more porous and less dense shells than wild ones, although mechanical properties (like the resistance to fracture) were comparable. These preliminary data describe the complex relationship between mussel quality and environmental variability along the Adriatic coast and underline the importance of continued monitoring to better identify the factors involved.

La ricerca al servizio della sicurezza del consumatore e delle produzioni

D. Ottaviani

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’Umbria e delle Marche “Togo Rosati”

Vengono descritti gli obiettivi ed i risultati raggiunti riguardo 3 filoni di ricerca dei quali il team della Dr.ssa Ottaviani si sta occupando:

- 1. UTILIZZO DI BDELOVIBRIO AND LIKE ORGANISMS NEL CONTROLLO DEI PATOGENI NELL’ECOSISTEMA MARINO**
- 2. RUOLO DELLE MICROPLASTICHE COME VETTORI DI BATTERI PATOGENI ALL’INTERNO DEI BIVALVI E RUOLO DEI MICRORGANISMI MARINI NELLA BIODEGRADAZIONE DELLE MICROPLASTICHE**
- 3. DAL LABORATORIO ALLA TAVOLA: ESPERIMENTI DI CUCINA SU *CHAMELEA GALLINA* E *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* SPERIMENTALMENTE CONTAMINATI PER ABBATTERE IL RISCHIO MICROBIOLOGICO**

UTILIZZO DI BDELOVIBRIO AND LIKE ORGANISMS NEL CONTROLLO DEI PATOGENI NELL’ECOSISTEMA MARINO (RF-2013-02355019 (PI Donatella Ottaviani)

Obiettivo specifico: **Testare *Halobacteriovorax* come potenziale candidato nella depurazione biologica dei bivalvi**

Risultati:

Da prove di depurazione su scala di laboratorio alle concentrazioni naturalmente presenti in Adriatico di preda/predatore (105 UFC/103 UFP) il predatore controlla il livello di *V. parahaemolyticus* in acqua di mare e mitili che si mantiene costante nel tempo e comunque al di sotto della carica minima infettante. Probabile ruolo di *Halobacteriovorax* in Adriatico come modulatore naturale dei livelli di Vibrio nell’acqua e nei mitili. In un approccio integrato potrebbe trovare applicazione come strategia di contenimento di *V. parahaemolyticus* in un impianto a circuito chiuso agendo in concomitanza anche sui livelli di salinità.

RUOLO DELLE MICROPLASTICHE COME VETTORI DI BATTERI PATOGENI ALL’INTERNO DEI BIVALVI E RUOLO DEI MICRORGANISMI MARINI NELLA BIODEGRADAZIONE DELLE MICROPLASTICHE (RF-2019-12370587 (PI: Donatella Ottaviani)

Risultati (parziali):

Le MPs sono in grado di assorbire vibrioni patogeni in forma di biofilm e rappresentano quindi un potenziale veicolo di patogeni all’interno dei MBV. Inoltre i batteri isolati dall’ambiente marino sono in grado di aderire e biodegradare le MPs e rappresentano quindi un potenziale strumento di lotta contro inquinamento da MPs

DAL LABORATORIO ALLA TAVOLA: ESPERIMENTI DI CUCINA SU *CHAMELEA GALLINA* E *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* SPERIMENTALMENTE CONTAMINATI PER ABBATTERE IL RISCHIO MICROBIOLOGICO

Risultati:

I tempi necessari all’abbattimento dei virus si sono dimostrati idonei ad abbattere anche il rischio batteriologico in *Chamelea gallina* e *Mytilus galloprovincialis*. Per una confezione commerciale di *Chamelea gallina* e *Mytilus galloprovincialis* si potrebbe aggiungere in etichetta: «Versare 1 kg di molluschi (taglia commerciale) in una padella antiaderente di alluminio con un diametro interno superiore di almeno 28 cm, coprire con un coperchio e cuocere a fuoco medio per almeno 2 minuti dall’apertura di tutte le valve. L’alimento così trattato è pronto per essere consumato»

Aggiornamento sullo stato della venericoltura in relazione alla problematica del granchio blu

E. Turolla

Istituto Delta Ecologia Applicata srl – Ferrara (FE)

Keywords: Vongola verace filippina, (*Ruditapes philippinarum*), Venericoltura, Predazione, Specie aliene, Granchio blu, (*Callinectes sapidus*)

Riassunto

Sebbene la presenza del granchio blu (*Callinectes sapidus*) sia stata segnalata nelle lagune del Delta del Po diversi anni prima, il suo impatto significativo sulla venericoltura è databile soltanto nella primavera del 2023. Questo improvviso aumento della pressione predatoria nei confronti della vongola filippina (*Ruditapes philippinarum*) è stato probabilmente il risultato di più fattori, tra cui l'incremento demografico del granchio blu e il progressivo esaurimento di prede più accessibili. Dopo una fase iniziale, che ha trovato gli allevatori completamente impreparati, sono state adottate una serie di misure per contenere la diffusione del predatore e per difendere le produzioni dalla predazione.

Per contrastare la crescita demografica sono stati attuati programmi di cattura/smaltimento in diverse marinerie venete ed emiliano-romagnole. Queste operazioni, giunte ormai alla terza annualità, pur consentendo l'eliminazione dall'ambiente di importanti quantità di granchi blu (circa 2000 t/anno), non sembrano tuttavia avere effetti apprezzabili sulle popolazioni del predatore. Va evidenziato che la pesca viene concentrata nelle vicinanze o all'interno delle aree di allevamento; mentre la specie rimane indisturbata in zone molto estese, comprese quelle di interesse turistico.

Nelle lagune del Delta l'unico modo per completare il ciclo di allevamento della vongola verace è l'applicazione di vari accorgimenti tecnici, come la realizzazione di serragli e la copertura dei fondali con reti di protezione. L'attuazione di queste soluzioni di difesa è tuttavia applicabile soltanto in aree con fondali sabbiosi e poco profondi, comportando una drastica riduzione delle superfici utili alla venericoltura. I costi derivanti dall'installazione e dalla manutenzione di queste strutture sono inoltre piuttosto ingenti e incidono significativamente sulle rese economiche.

Le popolazioni selvatiche di vongola verace e della maggior parte degli altri organismi bentonici sono scomparse da quasi tutti i fondali delle aree costiere del Delta del Po per effetto della diffusione del granchio blu. Medesimo destino hanno avuto anche le aree di nursery, la cui importanza ha permesso al comparto venericolo italiano di svilupparsi nell'ultimo quarantennio.

Nella situazione attuale quindi gli allevatori sono obbligati a rifornirsi di seme presso gli schiuditori e a proteggerlo fino al raggiungimento della taglia commerciale. Dal punto di vista zootecnico questa procedura sembra praticabile e nel 2024 la produzione nazionale, pur calando del 70%, è stata di quasi 6000 t. I dubbi invece sulla sostenibilità economica di questo nuovo metodo di allevamento alimentano un clima di incertezza che induce molti allevatori ad abbandonare l'attività.

A fronte di queste informazioni il futuro della venericoltura italiana non è facilmente prevedibile anche a causa della mancanza di conoscenze precise sulle dimensioni del problema, dal momento che ad oggi non sono stati attuati affidabili monitoraggi volti a definire l'entità della diffusione della specie aliena.

Summary

The presence of the blue crab (*Callinectes sapidus*) in the Po Delta lagoons has been documented since years ago, but its strong impact on clam farming became evident only in the spring of 2023. This sudden increase in predatory pressure on Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) was probably the result of multiple factors, including the population increase of the blue crab and the progressive depletion of more accessible feed. Initially, farmers were unprepared for this explosion, prompting the adoption of various measures to contain the predator's spread and safeguard production from predation. To mitigate the population growth, capture and disposal programs were implemented across various fishing communities in Veneto and Emilia-Romagna. Despite these operations, now in their third year, removing approximately 2,000 tons of blue crabs annually, they do not appear to significantly affect predator populations. It is noteworthy that fishing efforts are concentrated near or within farming areas, while the species remains undisturbed in extensive regions, including those of tourist interest. In the Delta lagoons, completing the farming cycle of Manila clams necessitates the application of various technical strategies, such as constructing enclosures and covering the seabed with protective nets. However, these defensive measures are viable only in sandy areas with shallow bottoms, substantially reducing the surfaces available for farming. Moreover, the costs associated with installing and maintaining these structures are considerable and significantly impact economic returns. Wild populations of Manila clams and most other benthic organisms have vanished from nearly all seafloors in the Po Delta coastal areas due to the proliferation of the blue crab. The nursery areas, which have been crucial to the development of the Italian clam industry over the past four decades, have also been hit by the same fate. Consequently, farmers are compelled to source seed from hatcheries and protect it until it reaches commercial

size. From an aquaculture perspective, this approach appears feasible, and in 2024, national production, although reduced by 70%, still amounted to nearly 6,000 tons. However, concerns regarding the economic sustainability of this new farming method are fostering an atmosphere of uncertainty, prompting many farmers to abandon the activity. Given this context, the future of Italian clam farming is uncertain, compounded by a lack of precise knowledge regarding the scale of the problem, as no reliable monitoring has been conducted to ascertain the extent of this invasive species' spread.

INDICE PRIMO AUTORE

Angelico G.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche – Ancona (AN)</i>	19
Bacchicocchi S.	<i>Centro di Referenza Nazionale per il Controllo Microbiologico e Chimico dei Molluschi Bivalvi – Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche “Togo Rosati”</i>	23
Barucca M.	<i>Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche)</i>	105
Battisti S.	<i>Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana M. Aleandri Via Appia Nuova 1411 – 00178 Roma</i>	25
Battistini R.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – La Spezia (SP)</i>	27
Bortoletto E.	<i>Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova – Padova (PD)</i>	29
Dall'Ara S.	<i>Fondazione Centro Ricerche Marine, LNR per il monitoraggio delle Biotossine Marine – Cesenatico (FC)</i>	31
Casarotto C.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)</i>	33
Chiesa S.	<i>Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) – Roma</i>	106
Ciccarelli C.	<i>Azienda Sanitaria Territoriale Ascoli Piceno</i>	35-40
Costa E.	<i>Azienda Sociosanitaria Ligure 5 –Struttura Complessa Igiene degli Alimenti di Origine Animale – La Spezia</i>	47
Dalla Pozza M.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)</i>	108
Dalle Palle S.	<i>Laboratorio di Ecologia Microbica e Genomica dei Microrganismi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Italia</i>	49
De Iorio T.	<i>Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (CREA) – Centro di ricerca in Zootecnia e Acquacoltura – Monterotondo (RM)</i>	53
Di Luccio D.	<i>Università degli Studi di Napoli “Parthenope”, Dipartimento di Scienze e Tecnologie, Napoli (NA)</i>	55
Errani F.	<i>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine, Udine, Italia</i>	57
Fossi E.	<i>Department of Cultural Heritage, University of Bologna, Ravenna, Italy</i>	59
Franzago E.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)</i>	62
Ippoliti C.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise “G. Caporale”, via Campo Boario snc, 64100 Teramo</i>	65
Lanci L.	<i>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italy</i>	67-69
Mancuso A.	<i>Dep. of Biological, Geological and Environmental Sciences, University of Bologna, 40126 Bologna; Fano Marine Center, The Inter-Institute Center for Research on Marine Biodiversity, Resources and Biotechnologies, 61032 Fano, Italy</i>	109
Martella L.	<i>Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure</i>	71

Martini A.	<i>CREA, Centro di Ricerca Zootecnia e Acquacoltura, Via Salaria 31, 00015 Monterotondo (RM)</i>	75
Mascitelli C.	<i>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova (Legnaro, PD);</i>	77
Mazzotta M.	<i>Università Iuav di Venezia, Dorsoduro, Venezia, Italy</i>	79
Murgia S.	<i>AGRIS Sardegna – Servizio Ricerca per i prodotti ittici- Loc. Bonassai S.S. 291 Sassari-Fertilia Km. 18,600 – Sassari</i>	81
Napolitano R.	<i>Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA) Centro di ricerca "Zootecnia e Acquacoltura" Via Salaria 31, 00015 - Monterotondo (Roma) – ITALY</i>	83
Nordio D.	<i>Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy</i>	85
Ottaviani D.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"</i>	110
Peruzza L.	<i>Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università di Padova, Viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro (PD), Polo di Agripolis, Italy</i>	87
Rubini S.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Ferrara (FE)</i>	88
Scapin N.	<i>Centro di referenza nazionale per lo studio e la diagnosi delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei – Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)</i>	91
Siracusa A.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.S. Levante Ligure, La Spezia</i>	93
Siracusa M.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" - Via G. Salvemini, 1, 06126 Perugia</i>	95
Spinsante C.	<i>Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche)</i>	97
Turolla E.	<i>Istituto Delta Ecologia Applicata srl – Ferrara (FE)</i>	111
Vetri A.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD) - ITALY</i>	100
Vollaro T.M.	<i>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna "Bruno Ubertini" – Reparto Chimico degli Alimenti di Bologna</i>	102

CONTATTI MAIL DEI RELATORI (primo autore)

Relazioni ad invito

- **Lidia Cecio** (Ministero della Salute DIREZIONE GENERALE DELLA SANITÀ ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI UVAC- PIF Veneto, Friuli Venezia Giulia, Trentino Alto Adige Verona UVAC) l.cecio@sanita.it
- **Stefano Gilebbi** (O.P. Mitili Veneto soc. coop.) opmitiliveneto@libero.it
- **Stefania Chiesa** (ISPRA) stefania.chiesa@isprambiente.it
- **Alessandro Gorla** (Compagnia Mediterranea Ostricola) info@ostricola.it
- **Andrea Maroni Ponti** (Ministero della Salute) a.maroni@sanita.it
- **Marco Barucca** (Università Politecnica delle Marche - Dipartimento Di Scienze della Vita e dell'Ambiente) m.barucca@staff.univpm.it
- **Donatella Ottaviani** (IZSUM) d.ottaviani@izsum.it
- **Alessandro Nardi** (Università Politecnica delle Marche) a.nardi@unipm.it, sostituisce Francesco Regoli (Università Politecnica delle Marche) f.regoli@univpm.it
- **Tommaso Petochi** (ISPRA) tommaso.petochi@isprambiente.it
- **Thomas Galvan** (Agriteco) galvan@agriteco.com, sostituisce Alessandro Vendramini (Agriteco) alessandro.vendramini@agriteco.com
- **Edoardo Turolla** (Istituto Delta Ecologia Applicata SRL) veliger@istitutodelta.it
- **Arianna Mancuso** (Fano Marine Center - FMC) arianna.mancuso2@unibo.it