

C. CASSARINO¹, A. MANCUSO^{1,2}, A. CAMPANELLI³, F. GRILLI³, M. MARINI^{2,3}, A. SPAGNOLO³, A. BASHO^{1,3}, C. MAZZOLI⁴, S. CAPELLACCI⁴, S. CASABIANCA^{2,4}, G. RAVERA⁴, G. FAMIGLINI⁵, G. PRIOLI⁶, E. CAROSELLI^{1,2}, S. GOFFREDO^{1,2}, S. GUICCIARDI³, A. PENNA^{2,4}

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

²Fano Marine Center, The Inter-Institute Center for Research on Marine Biodiversity, Resources and Biotechnologies, Fano

³CNR Institute of Marine Biological Resources and Biotechnologies (CNR IRBIM), Ancona

⁴Dept. of Biomolecular Sciences, University of Urbino

⁵Dept. of Pure and Applied Sciences, University of Urbino

⁶M.A.R.E. S.c. a r.l., Cattolica (RM)

corresponding author: chiara.cassarino2@unibo.it

FATTORI AMBIENTALI CHE INFLUENZANO I PROCESSI DI ACCRESCIMENTO E CALCIFICAZIONE DEI MITILI SELVATICI E ALLEVATI IN ADRIATICO

ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING FATTENING AND CALCIFICATION PROCESSES OF WILD AND FARMED MUSSELS IN THE ADRIATIC SEA

Abstract – *The preliminary results from ENDRIMUS Project (PRIN PNRR 2022) are described here. Environmental and biological parameters have been investigated to understand which environmental factors are involved in the recent phenomenon of fragility affecting both farmed and wild mussels along the coasts of the Central Adriatic Sea. Physical, chemical and biological aspects were investigated along the water column. Farmed and wild mussels were analyzed to evaluate shells properties and health status. The qPCR was applied to investigate mussel feeding preferences on target phytoplankton taxa. Results indicate a northward spatial gradient in some environmental and physiological parameters.*

Keywords: *Adriatic Sea, Environmental factors, Mussels, Skeletal parameters, Quality*

Introduzione – Il mitilo (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) costituisce una delle specie più rilevanti nel settore della molluschicoltura italiana, rendendo l'Italia il primo produttore dell'area mediterranea e il secondo a livello europeo dopo la Spagna (Crea-MIPAF, 2018). La quasi totalità di questa produzione proviene da allevamenti lagunari o di mare aperto, concentrati lungo il litorale centro-settentrionale dell'Adriatico, dove gli impianti produttivi garantiscono i 2/3 della produzione nazionale (Crea-MIPAF, 2018). Nonostante la pesca di mitili selvatici costituisca solo una piccola parte del settore, questa è spesso associata a marchi di qualità locali riconducibili alle loro proprietà organolettiche. Negli ultimi anni, si è assistito ad una diffusa riduzione della loro polpa, accompagnata da un aumento nella fragilità delle conchiglie. Tale fenomeno si ripercuote negativamente sulla qualità del prodotto, inficiandone il valore commerciale. Il progetto PRIN PNRR "ENDRIMUS" (ENVIRONMENTAL DRIVERS AFFECTING FATTENING AND CALCIFICATION PROCESS OF WILD AND FARMED MUSSELS IN THE ADRIATIC SEA) si sviluppa con lo scopo di identificare quali fattori ambientali possano influenzare l'accrescimento e le proprietà della conchiglia dei mitili selvatici ed allevati lungo un gradiente latitudinale in Mar Adriatico, al fine di fornire informazioni utili agli stakeholders locali. Questo lavoro presenta i risultati preliminari del progetto.

Materiali e metodi – Sono state selezionate tre località lungo la costa adriatica centro-settentrionale, caratterizzate dalla presenza di impianti di mitilicoltura su filari e di barriere artificiali soffolte: Rimini (RN; Emilia-Romagna), Senigallia (SG; Marche) e Giulianova (GN; Abruzzo; Fig. 1). Nel corso del 2024 sono stati effettuati quattro

campionamenti, condotti per ciascuna località sia presso i filari per la mitilicoltura (MF), che presso le barriere artificiali (AR).



Fig.1 - Siti di campionamento (Rimini, Senigallia e Giulianova). Mappa creata con QGIS (OpenStreetMap). *Sampling sites (Rimini, Senigallia, and Giulianova). Map created with QGIS (OpenStreetMap).*

I mitili sono stati prelevati a circa 8 m di profondità e sottoposti ad analisi per stimarne parametri biologici quali l'indice di condizione (IC₄; Davenport & Chen, 1987) e le proprietà della conchiglia, quali porosità, densità e resistenza alla compressione delle valve. Durante il campionamento sono stati prelevati campioni di acqua per l'analisi dei parametri ambientali, quantificazione della clorofilla-*a* (Chl-*a*) e caratterizzazione della comunità fitoplanctonica, la cui analisi ha riguardato anche i tessuti molli dei mitili tramite analisi molecolari di qPCR. In particolare sono stati amplificati taxa fitoplanctonici target, quali *Alexandrium minutum* Halim; *Chaetoceros socialis* H.S.Lauder; *Dinophysis* spp.; *Pseudo-nitzschia* spp.; *Scrippsiella trochoidea* (F. Stein) A.R.Loeblich; *Skeletonema* spp. e classe Dinophyceae (Ajani *et al.*, 2022; Casabianca *et al.*, 2020). La chimica dei carbonati è stata stimata a partire da parametri ambientali ottenuti da dataset satellitari (Copernicus Marine Data Store; Feudale *et al.* 2023). I parametri considerati sono stati quindi testati con metodi non parametrici (ANOVA con Aligned Rank Transform e Kruskal-Wallis test) per valutarne le variazioni in funzione di località (RN; SG; GN), tipologia di trattamento (MF o AR) e stagionalità.

Risultati – Dalle analisi ambientali, solo la salinità mostra un chiaro gradiente latitudinale, con valori crescenti da Nord verso Sud (Tab. 1). Il sito di GN differisce significativamente da RN e SG per quanto riguarda i parametri di temperatura superficiale (SST), pH, pressione parziale della CO₂ (pCO₂), tasso di saturazione della calcite (Ω_{calc}) e dell'aragonite (Ω_{arag}), e NH₄, mentre RN mostra valori ridotti di alcalinità totale (TA) rispetto agli altri siti (Tab.1). Per altri parametri quali PIM, POM, e gli altri nutrienti (NO₂, NO₃, SiOH₄, PO₄) non è stato invece osservato alcun andamento Nord-Sud, se non per NO₃ nella stagione invernale. Un trend latitudinale invernale significativo è stato riscontrato anche per Chl-*a* e fitoplancton totale (Fig. 2).

Tab.1 – Parametri ambientali e chimica dei carbonati per ciascun sito: Salinità, temperatura (SST), alcalinità totale (TA), pCO₂, stato di saturazione della calcite e dell'aragonite (Ω_{calc}, Ω_{arag}). * p-value <0.05; ** p-value < 0.01.

*Seawater and carbonate chemistry parameters for each location: salinity, seawater temperature (SST), total alkalinity (TA), pCO₂, calcite and aragonite saturation state (Ω_{calc}, Ω_{arag}). * p-value <0.05; ** p-value < 0.01.*

	n	Salinity	SST (°C)	pH	TA (μmol kg ⁻¹)	pCO ₂ (μatm)	Ω _{calc}	Ω _{arag}
RN	80	35.7±0.2	18.0±1.5	8.14±0.01	2699±8	361±6	5.91±0.27	3.84±0.17
SG	80	36.5±0.2	17.9±1.4	8.14±0.01	2704±5	364±6	5.89±0.19	3.83±0.14
GN	30	37.3±0.2	20.4±2.4	8.11±0.02	2706±5	384±17	6.14±0.25	4.02±0.19
<i>p</i>		**	**	**	**	**	**	**

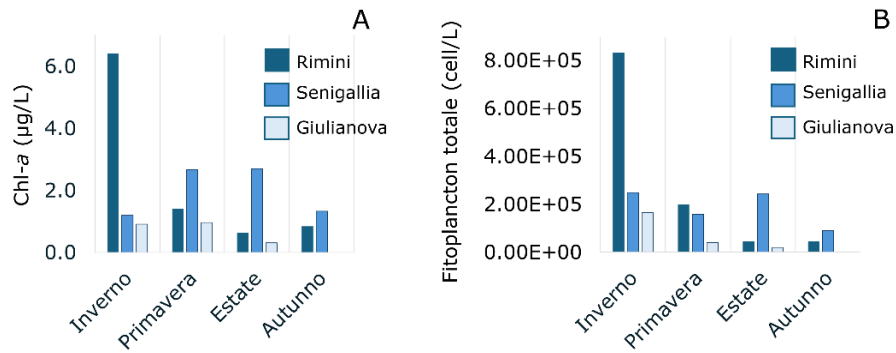


Fig. 2 – Trend stagionali del fitoplancton totale (A) e della Chl-a (B) nei campioni d’acqua di mare raccolti durante i campionamenti stagionali nell’anno 2024.

Seasonal trends of total phytoplankton (A) and Chl-a (B) in seawater samples during seasonal surveys in 2024.

Per quanto riguarda le abbondanze di taxa target fitoplanctonici rilevati nei mitili tramite analisi di qPCR, sono state evidenziate differenze significative ($p < 0.05$) per il genere *Pseudo-nitzschia*, tra le stazioni SG ($6-48 \times 10^3$ cellule/g tessuto) e GN ($2-1.1 \times 10^3$ cellule/g tessuto), con i valori maggiori di GN registrati in estate. Differenze significative sono inoltre emerse nelle abbondanze di dinoflagellati totali tra RN ($40-3.0 \times 10^4$ cellule/g tessuto) e GN ($16-4.0 \times 10^3$ cellule/g tessuto), con valori maggiori a RN. Non sono state osservate invece differenze significative di abbondanze di taxa target fitoplanctonici tra mitili selvatici e allevati all’interno dello stesso sito. Il reclutamento dei mitili è stato valutato sulle popolazioni selvatiche (AR) in quanto meno soggette a manipolazioni ed è risultato consistente in tutti i siti in inverno, sebbene reclute (lunghezza valva ≤ 4 mm) siano state riscontrate anche durante la stagione primaverile. Durante l’estate 2024 si è assistito a prolungate e ricorrenti ondate di calore, che associate alla presenza di mucillagini, hanno determinato una significativa moria di mitili, specialmente nel sito di GN dove non è stato possibile condurre il campionamento autunnale per una moria prossima al 100%. L’indice di condizione ha presentato differenze statisticamente significative tra i siti ($p < 0.001$), con il valore maggiore a RN e quello inferiore a GN. Sono state rilevate differenze significative anche per i mitili MF e AR di RN e SG, con valori superiori per quelli allevati (Fig. 3). La porosità, la densità della conchiglia e il carico massimo di frattura mostrano differenze significative tra siti sia lungo il gradiente latitudinale che tra individui selvatici e allevati (Fig. 4). In particolare, si osserva una diminuzione di porosità e indice di condizione, e un aumento della densità della conchiglia in mitili allevati rispetto a quelli selvatici.

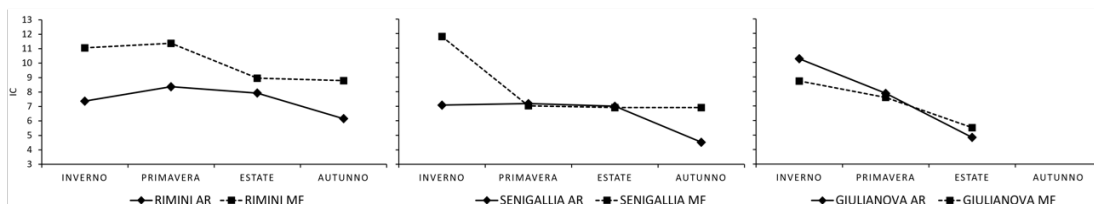


Fig. 3 – Valori dell’IC ottenuti per i mitili allevati (MF) e selvatici (AR) campionati a Rimini (RN), Senigallia (SG) e Giulianova (GN), nelle quattro stagioni. In autunno non sono stati rinvenuti esemplari a Giulianova.

IC values obtained for both farmed (MF) and wild (AR) mussels sampled in Rimini (RN), Senigallia (SG) and Giulianova (GN), across the four seasons. In autumn, no specimens were found at Giulianova.

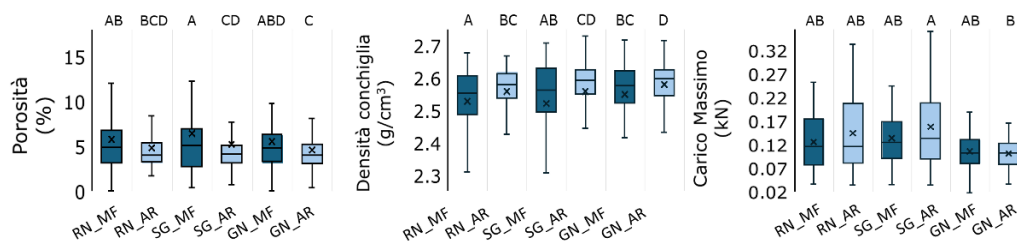


Fig. 4 – Porosità, densità della conchiglia e carico massimo di frattura delle valve dei mitili di allevamento (MF; blu) e selvatici (AR; azzurro) per ciascun sito: Rimini (RN), Senigallia (SG) e Giulianova (GN). *Porosity, bulk density and maximum load of the shells from farmed (MF; blue) and wild (AR; light blue) mussels sampled in Rimini (RN), Senigallia (SG) and Giulianova (GN).*

Conclusioni – Dalle analisi preliminari è emerso che alcuni parametri mostrano delle differenze legate al gradiente longitudinale, così come tra le aree di allevamento e le barriere artificiali. La caratterizzazione del fitoplancton nei tessuti molli mostra come non emergano particolari differenze nell'alimentazione dei mitili tra i diversi siti. Questi risultati, associati a quelli riguardanti l'indice di condizione, generalmente superiore nei mitili allevati, lasciano supporre che gli allevamenti siano posizionati strategicamente ove vi è maggiore disponibilità di nutrienti influenzando la qualità e il contenuto delle carni. Per quanto riguarda i parametri della conchiglia invece, gli individui di filare tendono a mostrare valve più porose e meno dense, con una conseguente minore resistenza alla rottura rispetto agli individui di barriera. Queste differenze possono essere facilmente riconducibili agli effetti del trattamento negli impianti di mitilicoltura, dove gli individui sono periodicamente soggetti a rinalzo. Valutando l'andamento stagionale dei parametri analizzati, l'aumento di tessuto molle nel periodo invernale e primaverile riflette sia la maggior disponibilità di nutrienti che la produzione stagionale di gameti, con l'energia deputata all'ingrasso dei tessuti e non alla calcificazione, come si evince dalle conchiglie più porose e meno dense durante la stagione fredda. Il termine della stagione riproduttiva e la riduzione nel quantitativo di tessuto molle consente invece all'animale di riallocare le risorse energetiche verso la calcificazione, producendo conchiglie con densità maggiore.

References

- AJANI P.A., HENRIQUEZ-NUNEZ H.F., VERMA A., NAGAI S., UCHIDA H., TESORIERO M.J., FARRELL H., ZAMMIT A., BRETT S., MURRAY S.A. (2022) - Mapping the development of a *Dinophysis* bloom in a shellfish aquaculture area using a novel molecular qPCR assay. *Harmful Algae*, **116**: 102253.
- CASABIANCA S., CAPELLACCI S., RICCI F., ANDREONI F., RUSSO T., SCARDI M., PENNA, A. (2020) - Structure and environmental drivers of phytoplanktonic resting stage assemblages in the central Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **639**: 73-89.
- CREA-MIPAAF. (2018) - *L'acquacoltura italiana - censimento 2018. Progetto AQUADA "Rilevamento, elaborazione e trasmissione dei dati relativi all'acquacoltura nazionale nelle acque dolci e salmastre nell'ambito del Regolamento CE n. 762/2008.* EUROSTAT. (2020) - *Production from aquaculture excluding hatcheries and nurseries (from 2008 onwards)* https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/FISH_AQ2A__custom_1109710/default/table?lang=en
- DAVENPORT J., CHEN X. (1987) - A comparison of methods for the assessment of condition in the mussel (*Mytilus edulis* L.). *J. Molluscan Stud.*, **53**: 293-297.
- FEUDALE, L., BOLZON, G., LAZZARI, P., SALON, S., TERUZZI, A., DI BIAGIO, V., COIDESSA, G., ALVAREZ, E., AMADIO, C., COSSARINI, G. (2023). Mediterranean Sea Biogeochemical Analysis and Forecast (Copernicus Marine Service MED-Biogeochemistry, MedBFM4 system) (Version 2) [Data set]. Copernicus Marine Service https://doi.org/10.25423/cmcc/medsea_analysisforecast_bgc_006_014_medbfm4

Finanziamento della ricerca - Questa ricerca è parte del Progetto di Ricerca PRIN 2022 PNRR "ENVIRONMENTAL DRIVERS AFFECTING FATTENING AND CALCIFICATION PROCESS OF WILD AND FARMED MUSSELS IN THE ADRIATIC SEA (ENDRIMUS)" - finanziato da EU - Next Generation EU". Il Progetto è condotto dall'Università degli Studi di Bologna (PI), dall'Università degli Studi di Urbino e dal CNR-IRBIM di Ancona.