

OSTREOPSIS: CICLI NICTEMERALI

Mariagrazia Giacobbe

Primo Ricercatore

Consiglio Nazionale delle Ricerche

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero
IAMC Messina

✓ **PROBLEMATICHE GENERALI**

✓ **CICLI DEI DINOFLAGELLATI**

✓ **CHI E' E PERCHE' STUDIARE
OSTREOPSIS?**

✓ **STUDIO GIORNO-NOTTE DI
*OSTREOPSIS***

✓ **BENTOX-NET**

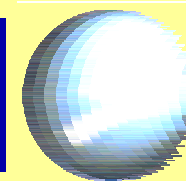
✓ **SPECIE DI *OSTREOPSIS*
IN SICILIA E AREE CRITICHE**

Dipartimento Terra e Ambiente

MiPAF

Precedenti progetti HAB

2000-2005



Coordinator: Dr. M.G. Giacobbe
IAMC-CNR, Messina

Coordinator: Dr. M. Masò
CSIC-ICM, Barcelona (SPAIN)

	<u>BUDGET (€)</u>
➔ MiPAF 5C8 "Sistemi Convenzionali e Sonde Molecolari per il Controllo di Fenomeni HAB. Applicazione alla Molluschicoltura". 2000-2003	62000,00
➔ MiPAF 6C18 "Approcci integrati e innovativi allo studio e mitigazione di processi HABs". 2003-2005	121000,00
➔ EU: STRATEGY EVK3-CT-2001-00046 - EUROHAB "New Strategy of Monitoring and Management of HABs in the Mediterranean Sea" - 2001-2004	167000,00
Totale	350000,00 €

L'attenzione è stata rivolta al controllo di fioriture tossiche in aree marine costiere, includendo anche aree produttive di molluschicoltura

PROPOSTE/PROGETTI SPECIFICI SU *OSTREOPSIS*

A LIVELLO REGIONALE?

A LIVELLO NAZIONALE?

**Proposta di Progetto
BENTOX-NET**

A LIVELLO EUROPEO?

Principali Collaboratori Studi OSTREOPSIS

Stefania Borzì IAMC-CNR Messina

Serena Di Grande ARPA Siracusa

Aldo Rabito ARPA Siracusa

Antonella Penna Università di Urbino

PREMESSA

I recenti eventi di tossicità verificatisi in Mediterraneo e associati alla presenza del dinoflagellato *Ostreopsis* hanno suscitato molta apprensione nella popolazione e negli amministratori locali, perché produttrice di un composto della famiglia delle palitossine, responsabile di intossicazioni “ciguatera-like”, nel mar Ligure, nel Tirreno e nell’Adriatico meridionale: la fioritura di questa microalga è stata segnalata ultimamente nelle acque del litorale di Genova (2005, 2006) ma anche, in numerose altre occasioni, in Toscana (2000), Puglia (2001), Lazio (1994) e Sicilia (2006).

Generalità

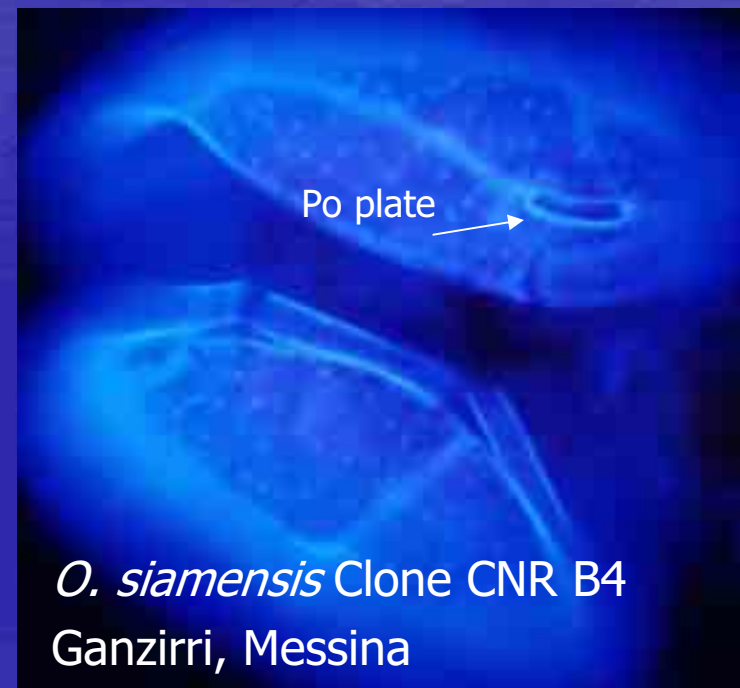
Chi è Ostreopsis?



- ✓ Questa microalga è un dinoflagellato che cresce per lo più in zone costiere soggette ad un ridotto scambio idrico, ed è favorita da temperature elevate e luce abbondante
- ✓ Si trova usualmente nel piano infralitorale (bentonica, epilitica) e sulla superficie delle macroalghe, soprattutto Phaeophyceae e Rhodophyceae (epifitica) ▶
- ✓ *Ostreopsis* produce tossine del gruppo della ciguatera, che possono causare malesseri (dermatiti, difficoltà respiratoria, attacchi febbrili) in presenza di aerosol tossico o per consumo di prodotti ittici che hanno accumulato le tossine ■
- ✓ Le molecole del gruppo delle palitossine possono indurre delle intossicazioni anche fatali ma la variabilità dei sintomi della ciguatera dimostra la notevole molteplicità dei composti chimici in gioco ▶
- ✓ L'intossicazione dovuta al consumo di prodotti ittici che hanno accumulato le tossine può avere dei risvolti di tipo economico notevoli legati alla commercializzazione ed alla importazione del pescato ■

Different habitats of CFP-producing phytoplankton communities

- **Macroalgae Rhodophyceae, Phaeophyceae, Chlorophyceae**
- **Vascular Plants Mangrove, *Posidonia***
- **Water column**
- **Sand, Coral rubble**
- **Tide pools**
- **Rocky intertidal areas**



HABs may influence ecosystems in a variety of ways

Aerosols and wind transport may cause human health problems

Foams may aggregate on the water surface

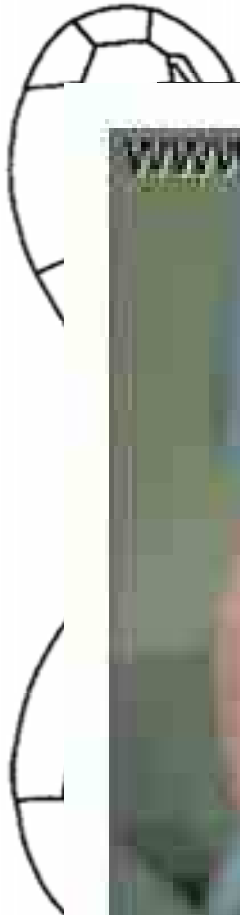
Algae may accumulate causing visual discolouration and may result in hypoxia or declines in submerged aquatic vegetation.

Fish kills may occur due to toxic algae

Shellfish may become contaminated with algal toxins.



Bloom
Siracusa





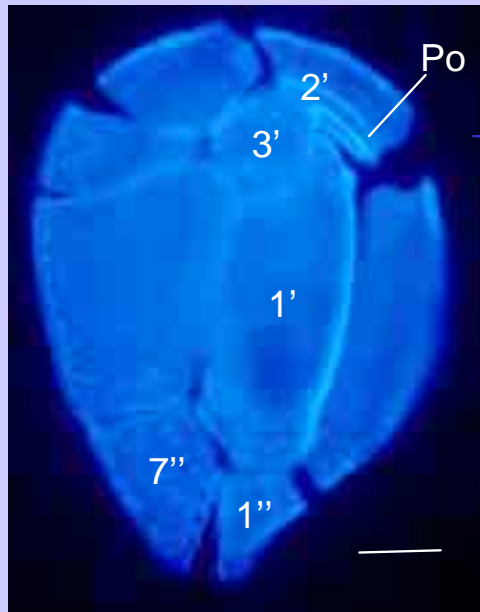
Fioritura mista di *Ostreopsis* sp. (*O. ovata* all'analisi PCR) a Siracusa, Sicilia



SIRACUSA: AREA CRITICA

Ostreopsis ovata from Italy

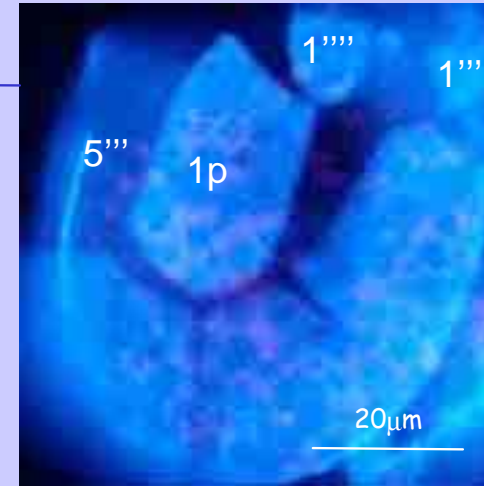
Morphology fits well the description of *O.ovata* by Besada et al., 1982.



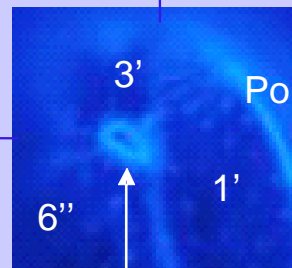
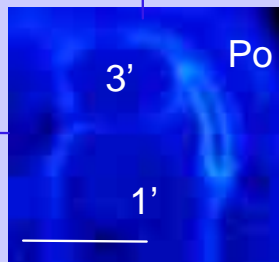
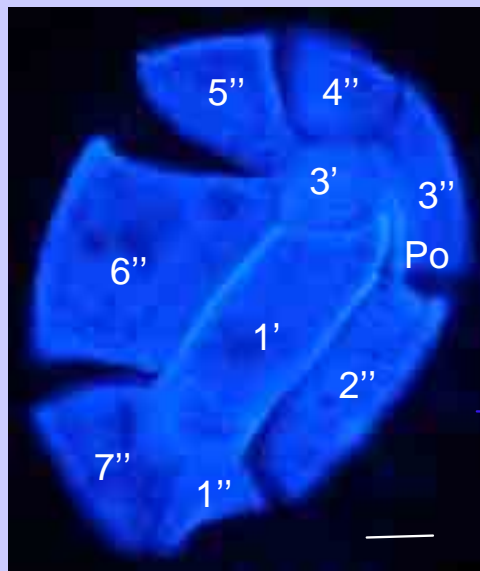
Clone CNR D1
from the Ligurian Sea

Scale bars = 10 μ m, unless indicated

W = 45-57 μ m
DV = 55-65 μ m
Po = 10-13 μ m

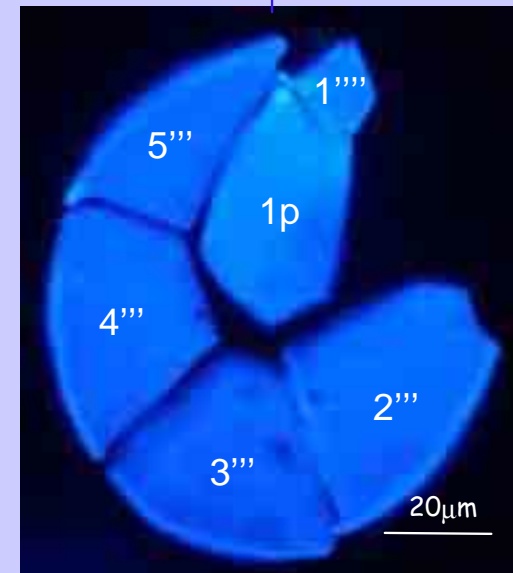


Clone CNR A1, Calabrian coast



A small, additional apical pore!

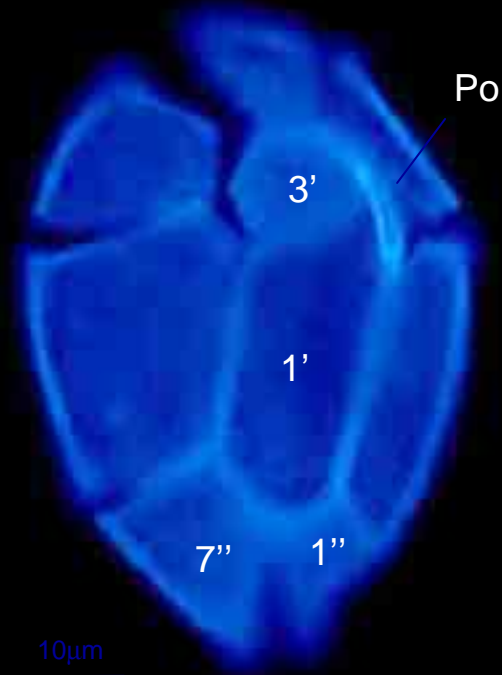
W = 43-55 μ m
DV = 52-64 μ m
Po = 10-12 μ m



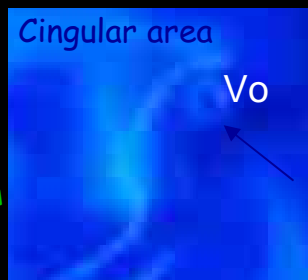
Ostreopsis ovata Clone CNR Z1

Isolated from an assemblage epiphytic at Paguera, Spain (June 2001)

Epitheca



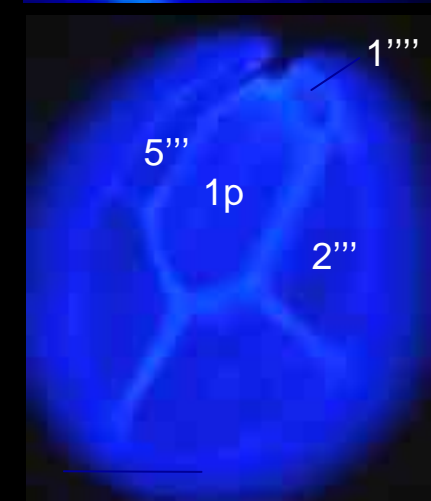
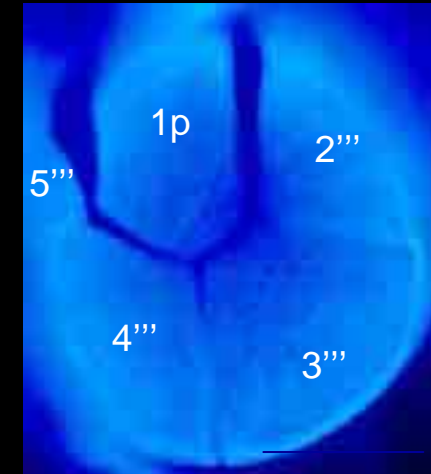
Field
W 25-34µm
DV 43-58µm



A ventral opening (Vo) inside the cingulum

Scale bars = 20µm, unless indicated

Hypotheca



Culture
W 31-46µm
DV 52-61µm
Po 10-12µm

Perché studiare Ostreopsis?

Ha destato molta preoccupazione la segnalazione del genere *Ostreopsis* in varie regioni italiane, perché spesso associata alla denuncia di episodi di malessere da parte di bagnanti ▶

E' plausibile pensare che eventi simili possano verificarsi anche in altre zone costiere oltre a quelle succitate dato che l'affermazione di una specie (o anche la sua comparsa ex-novo) può essere il risultato di normali processi di diffusione (azione del vento, stratificazione delle acque).

I problemi che derivano dalla presenza di *Ostreopsis* sono tanti e molto diversi; oltre al rischio sanitario, legato alla sua tossicità, il fenomeno può avere dirette conseguenze sulla balneazione e sul turismo, sul commercio e sulle risorse naturali, a causa sia dell'incremento della torbidità, riduzione della luce e deplezione dell'ossigeno, sia dell'avvelenamento dei suoi consumatori e conseguenti accumuli di tossine attraverso la catena alimentare

BENTOX-NET

Un network per lo studio di *Ostreopsis* spp. e di altre microalghe bentoniche potenzialmente tossiche

BENTOX-NET è una rete alla quale afferiscono in modo spontaneo e volontario ricercatori italiani con consolidata esperienza nello studio dei bloom di microalghe marine, incluse le specie potenzialmente tossiche. Sono inoltre presenti competenze nel campo delle macroalghe, dell'ecologia dei sistemi bentonici e planctonici e delle tossine di origine algale.



Sito Web 

Obiettivi 

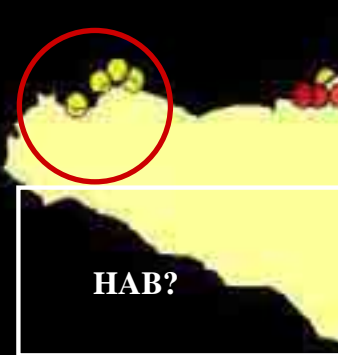
Partecipanti 



AREE CRITICHE

Prima del 2001

Dal 2001 ad oggi



Isolabella

Siracusa

Ganzirri-Faro

- *A. minutum*
- *A. tamarense*
- *A. taylorii*
- *A. sp.*
- *A. margalefii*
- *Ostreopsis spp.*



Yessotossine nei mitili

Tossine emolitiche tipo palitossina in assemblaggi epifitici (*Ostreopsis cf. siamensis*)

▲ Tossine PSP (GTX, STX) nel plancton e/o nei mitili;
plancton e/o nei mitili; ▲ Yessotossine nei mitili;
▲ Composti tossici tipo palitossina nel plancton

▲ Tossine DSP (Acido ocadaico) nel
Gymnodimnie e spirolidi nei mitili



Confronto tra gli anni precedenti al 2001 e 2001-ad oggi sulla presenza di *Alexandrium*, *Ostreopsis spp.* e tossine rilevate in assemblaggi algali dal campo e/o nei mitili lungo le coste siciliane.

OSTREOPSIS CLONES ISOLATED AND KEPT IN CULTURE

5.8S rDNA-ITS REGIONS SEQUENCED
BY A. PENNA, URBINO

CSIC and IEO
Clones

CNR Clones



Ostreopsidaceae
Sampling points in
Mediterranean areas

European Project STRATEGY
Coordinator Dr. Mercedes Masò
CNR Responsible Scientist MG Giacobbe

Aeolian Islands
Italy

Photos by A. Penna

Paguera, Mallorca
Spain

Vulcano, Italy



Ostreopsidaceae collection
from plastics and *Posidonia oceanica*

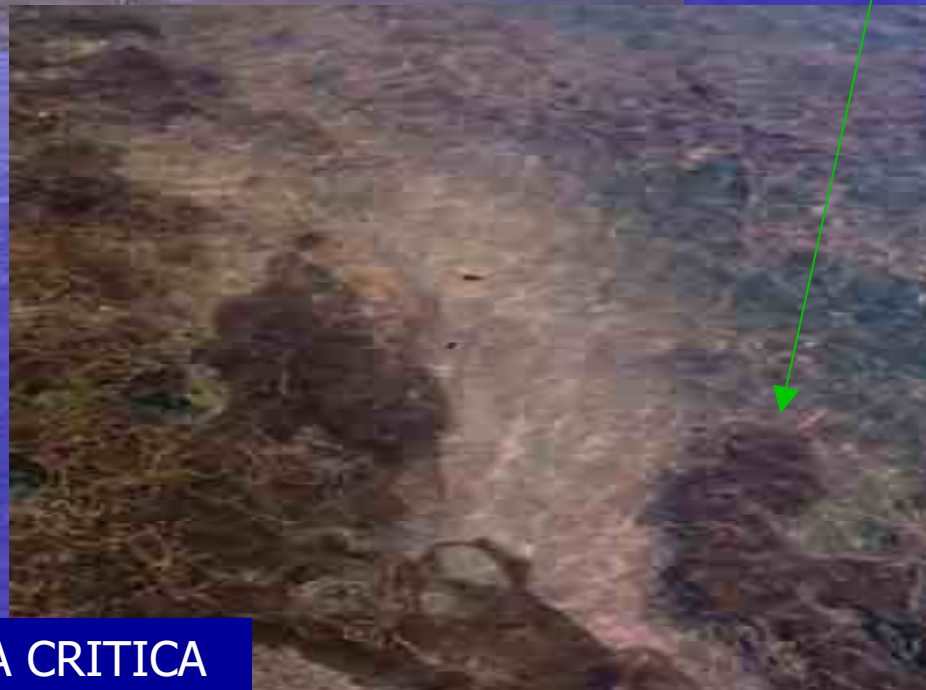
Vulcano





A swamp environment

Ganzirri Lagoon (Sicily)
Macroaggregates on
Chaetomorpha linum
mattes



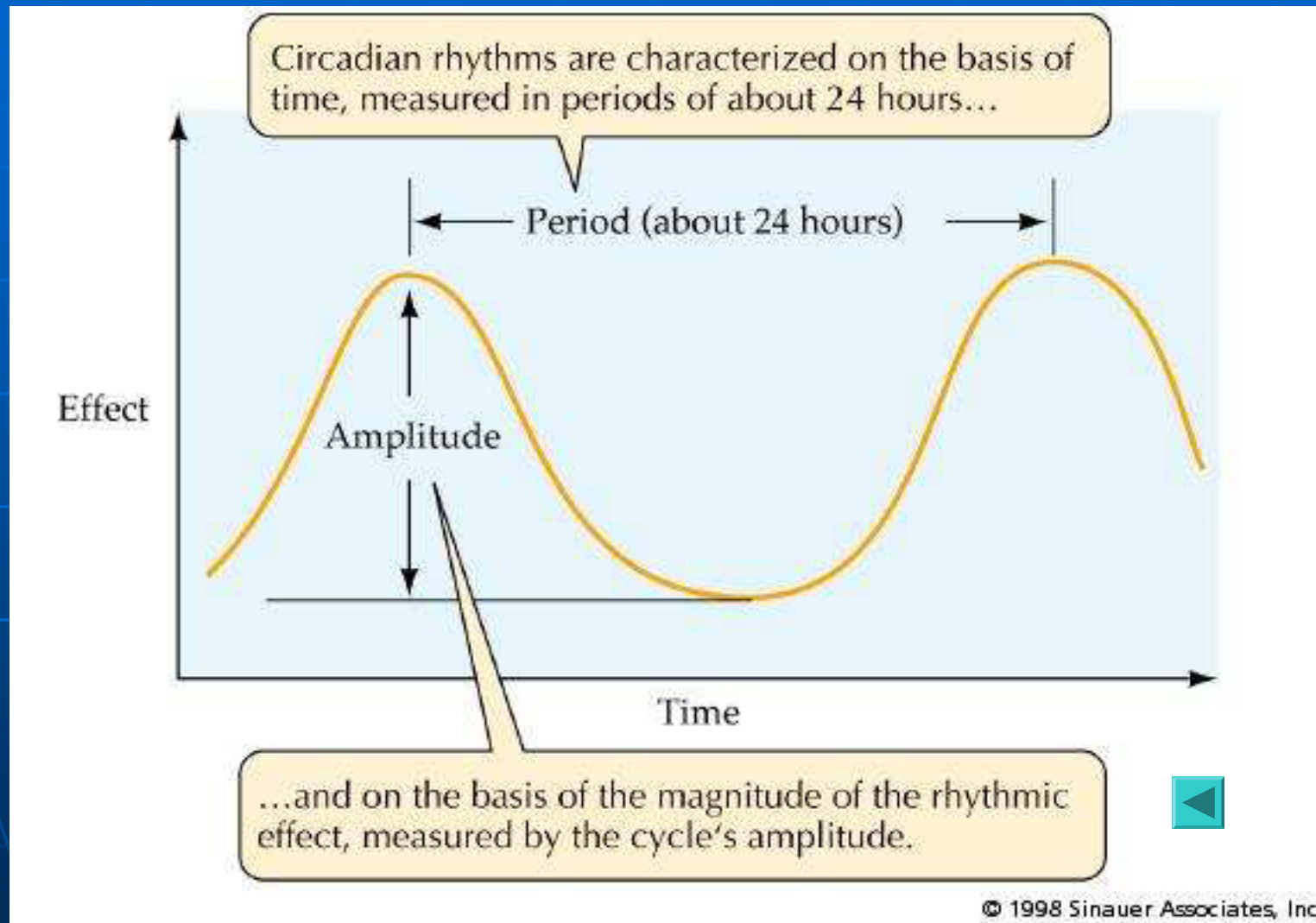
GANZIRRI: AREA CRITICA



CICLI NICTEMERALI

- Ritmi **nictemerali** (nict- notte, -emera giorno) o **circadiani**
- Caratteristica del ritmo circadiano: continuazione del ritmo (~24h) sotto condizioni costanti di luce e temperatura
- Le attività circadiane sono sincrone con il ciclo giorno notte





The circadian period matches closely that of day and night

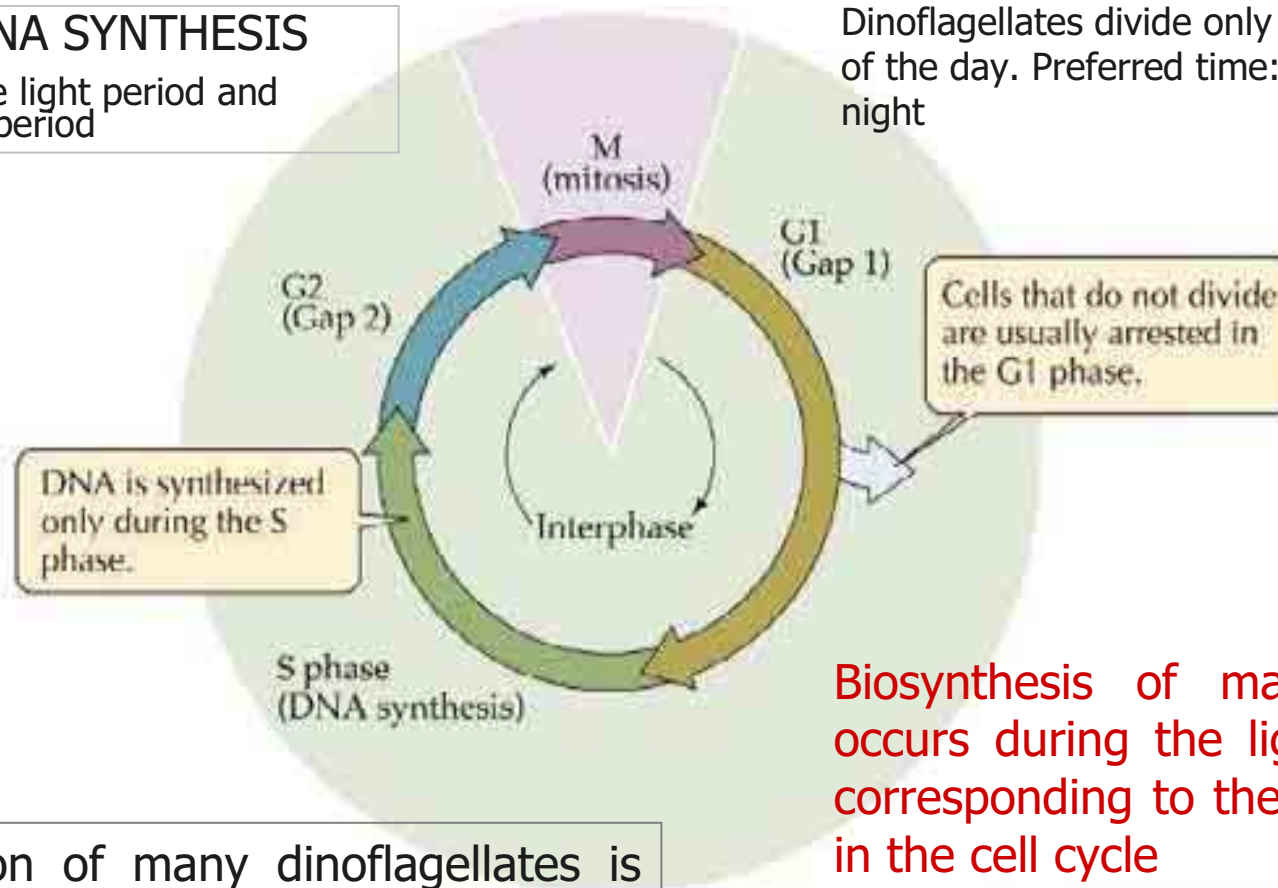
Cell division (phased in dinoflagellates)

Cell cycle

Dinoflagellates divide only at certain times of the day. Preferred time: latter part of the night

"PHASED" DNA SYNTHESIS

At the end of the light period and during the dark period

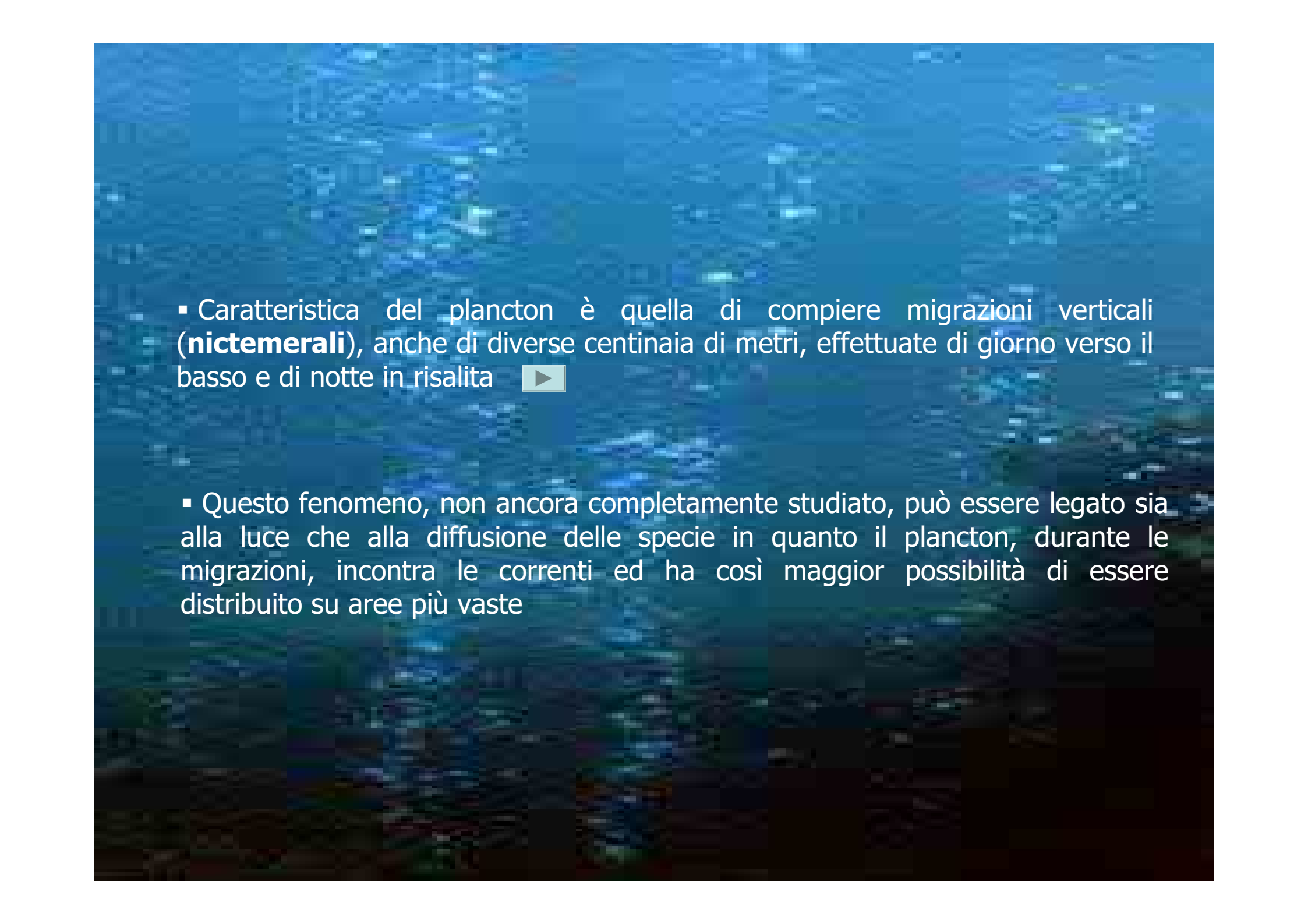


Cells that do not divide are usually arrested in the G1 phase.

DNA is synthesized only during the S phase.

Biosynthesis of many toxins occurs during the light phase, corresponding to the G1 phase in the cell cycle

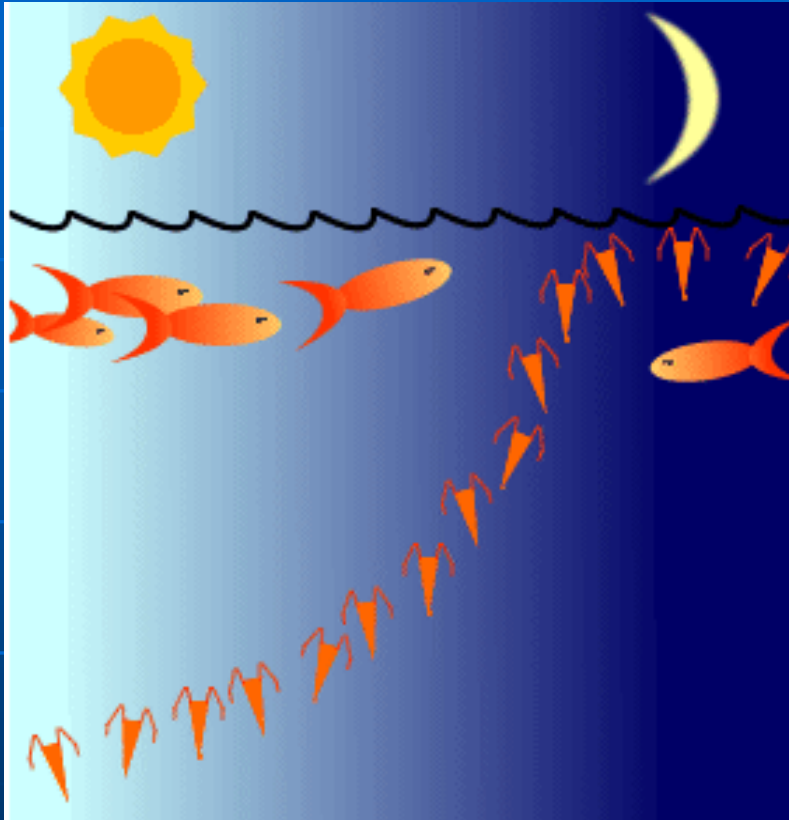
Cell division of many dinoflagellates is rhythmic and controlled by the circadian clock, occurring only at an "allowed" time of day



▪ Caratteristica del plancton è quella di compiere migrazioni verticali (**nictemerali**), anche di diverse centinaia di metri, effettuate di giorno verso il basso e di notte in risalita ▶

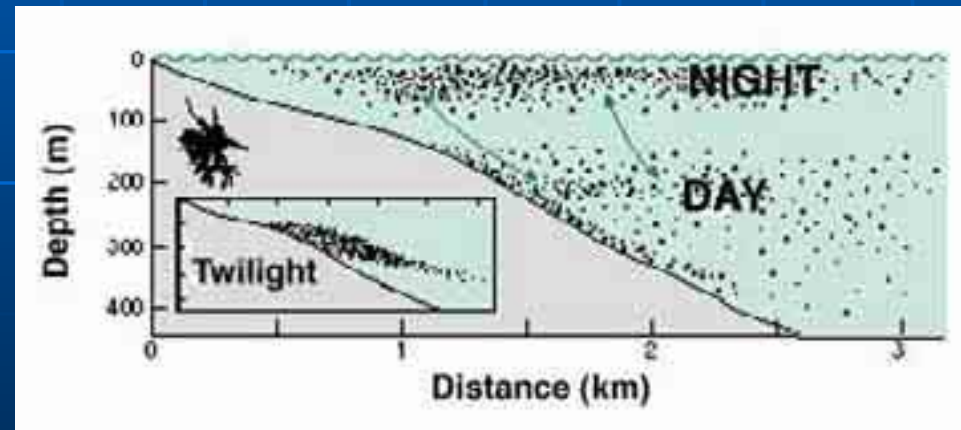
▪ Questo fenomeno, non ancora completamente studiato, può essere legato sia alla luce che alla diffusione delle specie in quanto il plancton, durante le migrazioni, incontra le correnti ed ha così maggior possibilità di essere distribuito su aree più vaste

- Eukaryotic algae have long served as model systems for analyses of circadian (diel) rhythms, cell division timing, photosynthesis, and other phenomena



- **Many planktonic phototrophic dinoflagellates migrate vertically**

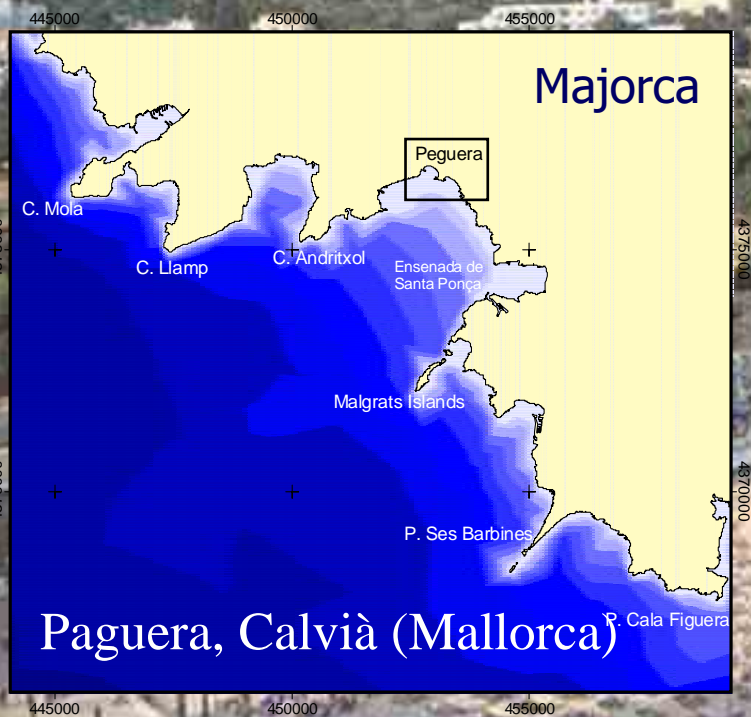
typically ascending during the day (7.00h-21.00h) and descending at night



- patterns correlated to contrasting light and nutrient gradients, optimizing light availability for photosynthesis during the day and nutrient uptake during the night



Diel changes in concentrations of *Ostreopsis ovata*

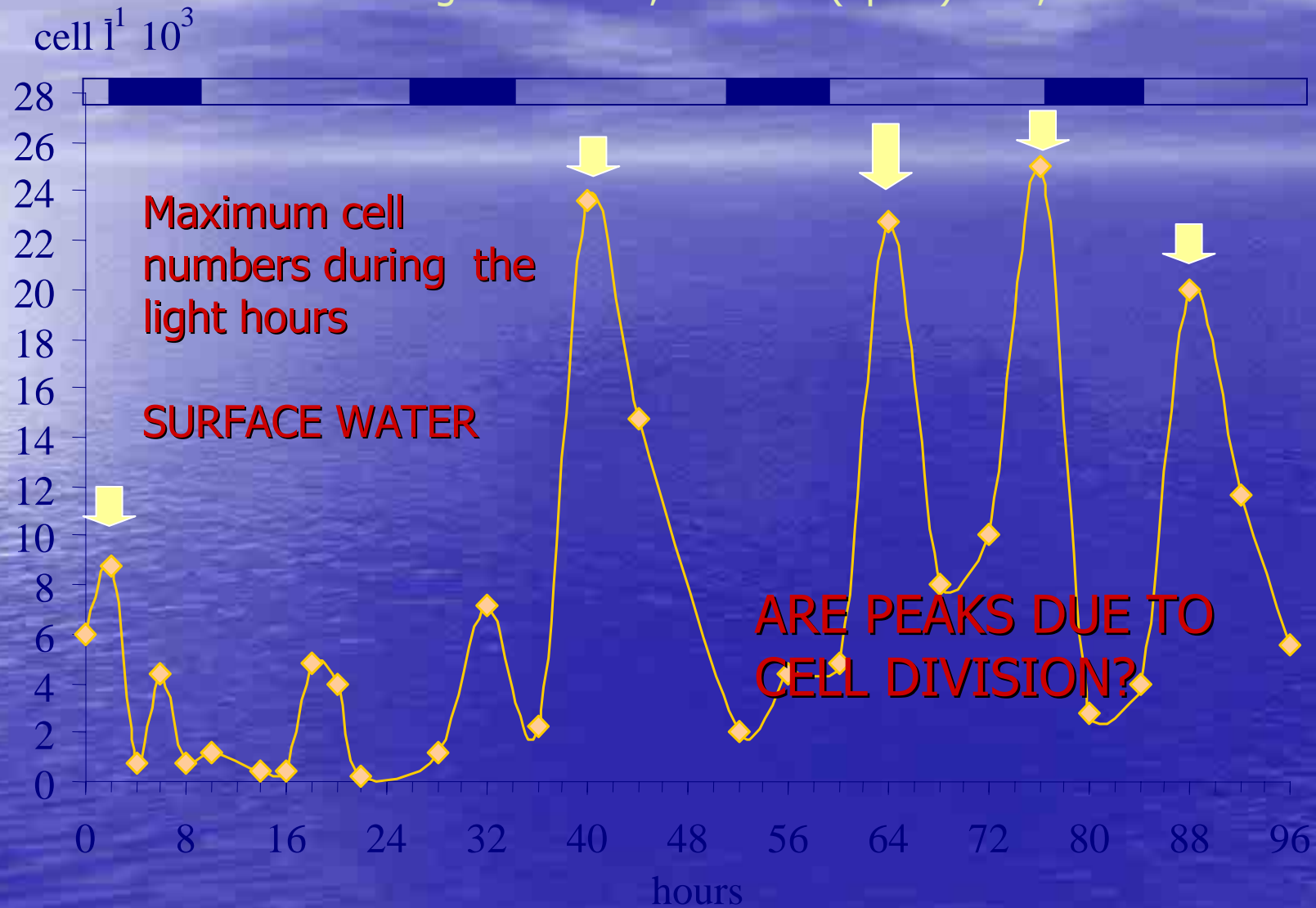


...Night and Day
by

Mercedes Masò, Esther Garcès & M.G. Giacobbe

Diel changes in concentrations of *Ostreopsis* sp. in the surface waters

Paguera Model, Mallorca (Spain) St.C, June 2001

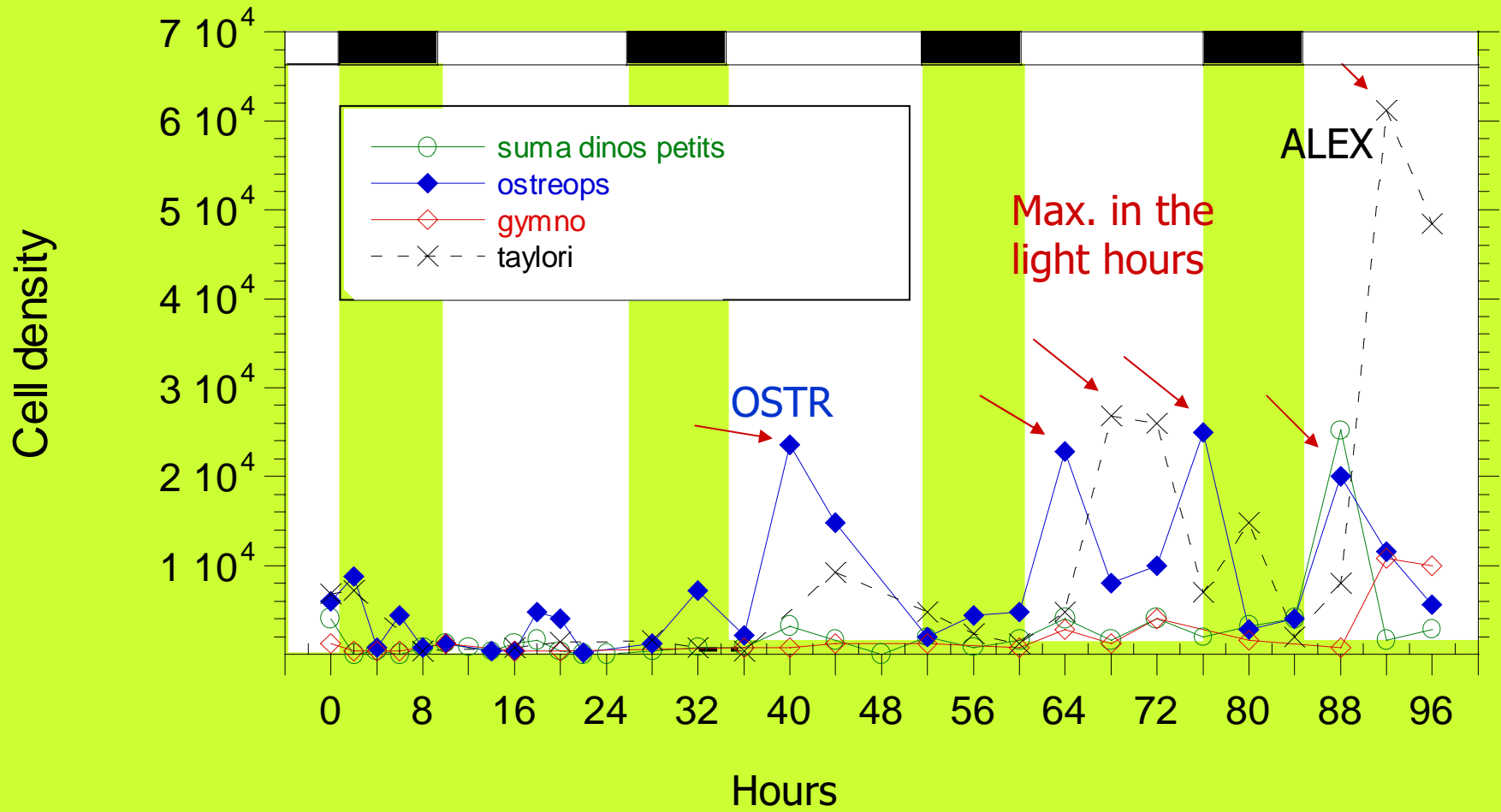


4 days

Night and day

OSTREOPSIS AND ALEXANDRIUM DIEL CHANGES

PAGUERA ST. C

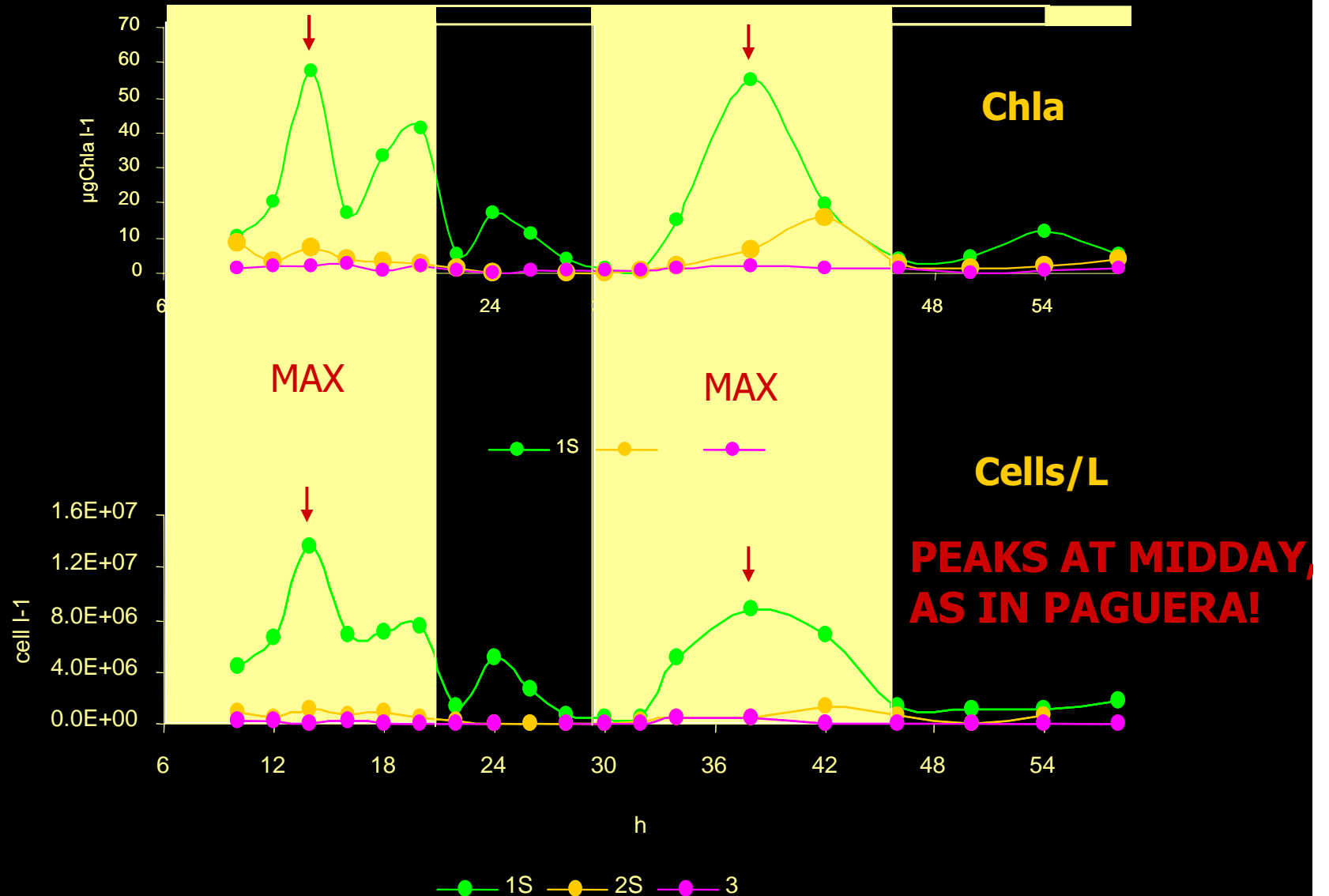


Cell division?

- **Dinoflagellates usually divide during the latter part of the night, that would explain the increase found later in the day**
- **However, nuclear stainings should have been done to see for mono- and binucleated cells**
- **Physical accumulation of cells cannot be excluded**

Comparison with *Alexandrium*, Vulcano

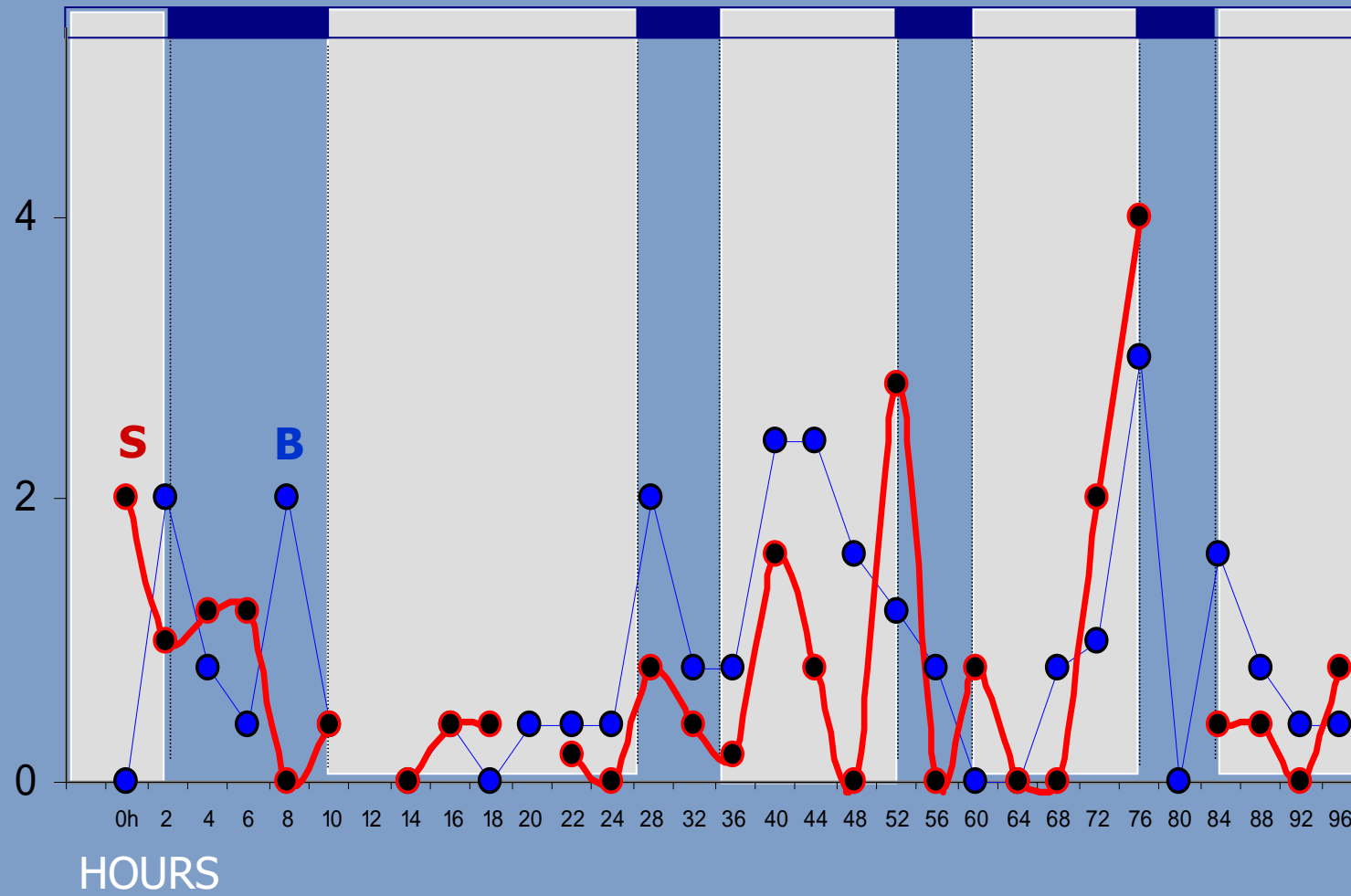
August 2001 - 48h Cycle of *Alexandrium taylorii* from Vulcano



Variations between **Surface (S)** and **Bottom (B)**


PAGUERA ST.A

$10^3 L^{-1}$



OSTREOPSIS DIEL CHANGES

OSTREOPSIS VS. ALEXANDRIUM DIEL CHANGES

- A high diel variability of *Ostreopsis* concentrations in surface water increasing up to two orders of magnitude during the light hours vs. night was detected in Majorca 
- No clear evidence of vertical migration
- The increase in cell density seems to follow cell division, phased at precise times of the day

The mechanisms regulating the cell cycle of OSTREOPSIS, are of interest because they ultimately control the rate of formation of toxic blooms!

XII ISCHA PROCEEDINGS



**12th International Conference on Harmful Algae, 4-8 September 2006,
Copenhagen, Denmark**

The genus *Ostreopsis* in recreational waters of the Catalan Coast and Balearic Islands (NW Mediterranean Sea): is this the origin of human respiratory difficulties?

**1M. Vila, 1M. Masó, 1N. Sampedro, 1H. Illoul, 1L. Arin, 1E. Garcés, 2 M.G. Giacobbe,
3J. Alvarez and 1J. Camp**

*1Institut de Ciències del Mar, CSIC, Pg. Marítim de la Barceloneta, 37-49, 08003
Barcelona, Spain, magda@icm.csic.es, 2 Istituto per l'Ambiente Marino Costiero, CNR,
Messina, Italy.*

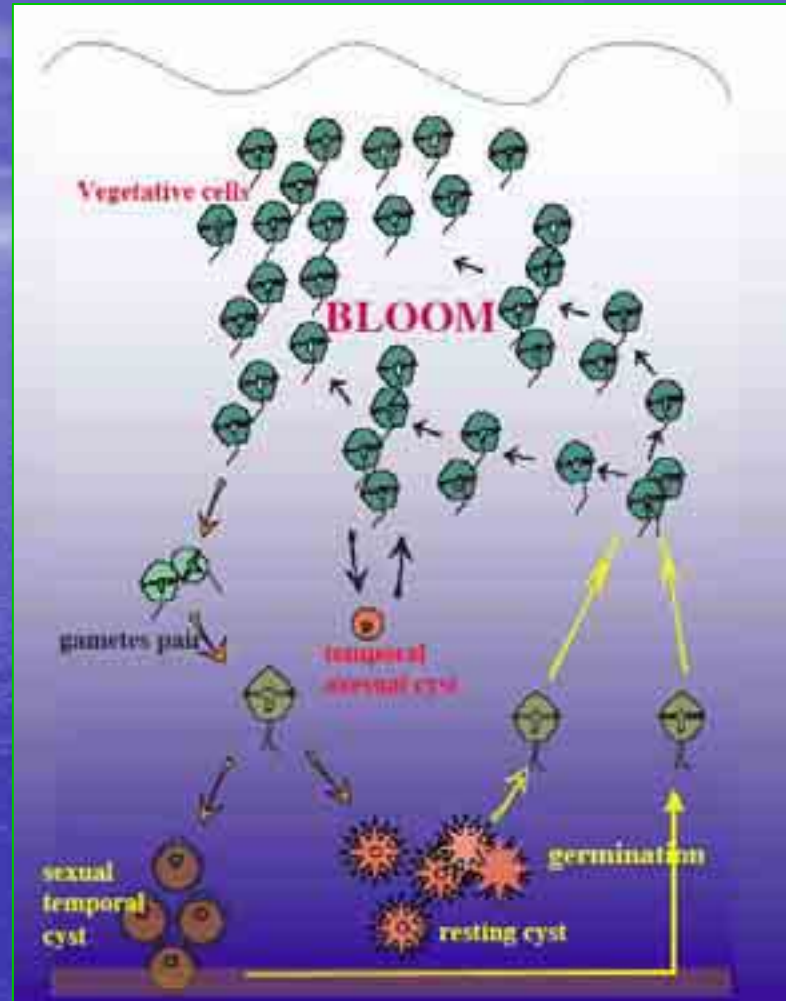
3Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya Barcelona, Spain

Abstract

Ostreopsis spp. blooms have been associated with human respiratory irritation in Mediterranean coastal waters. Here, we present their distribution along beaches of the NW Mediterranean (Catalan Coast and Balearic Islands) during August 2004. But the build-up of *Ostreopsis* spp. to relatively high concentrations coincided only with one harmful episode in Llavaneres beach. We summarize and discuss situations characterized by relatively high *Ostreopsis* spp. concentrations with or without records of harmful effects.

SCHEMATICS OF DINOFLAGELLATE LIFE HISTORY

What about the life cycle of *Ostreopsis*?



"You only know a species if you know its complete life cycle"
H.A. von Stosch

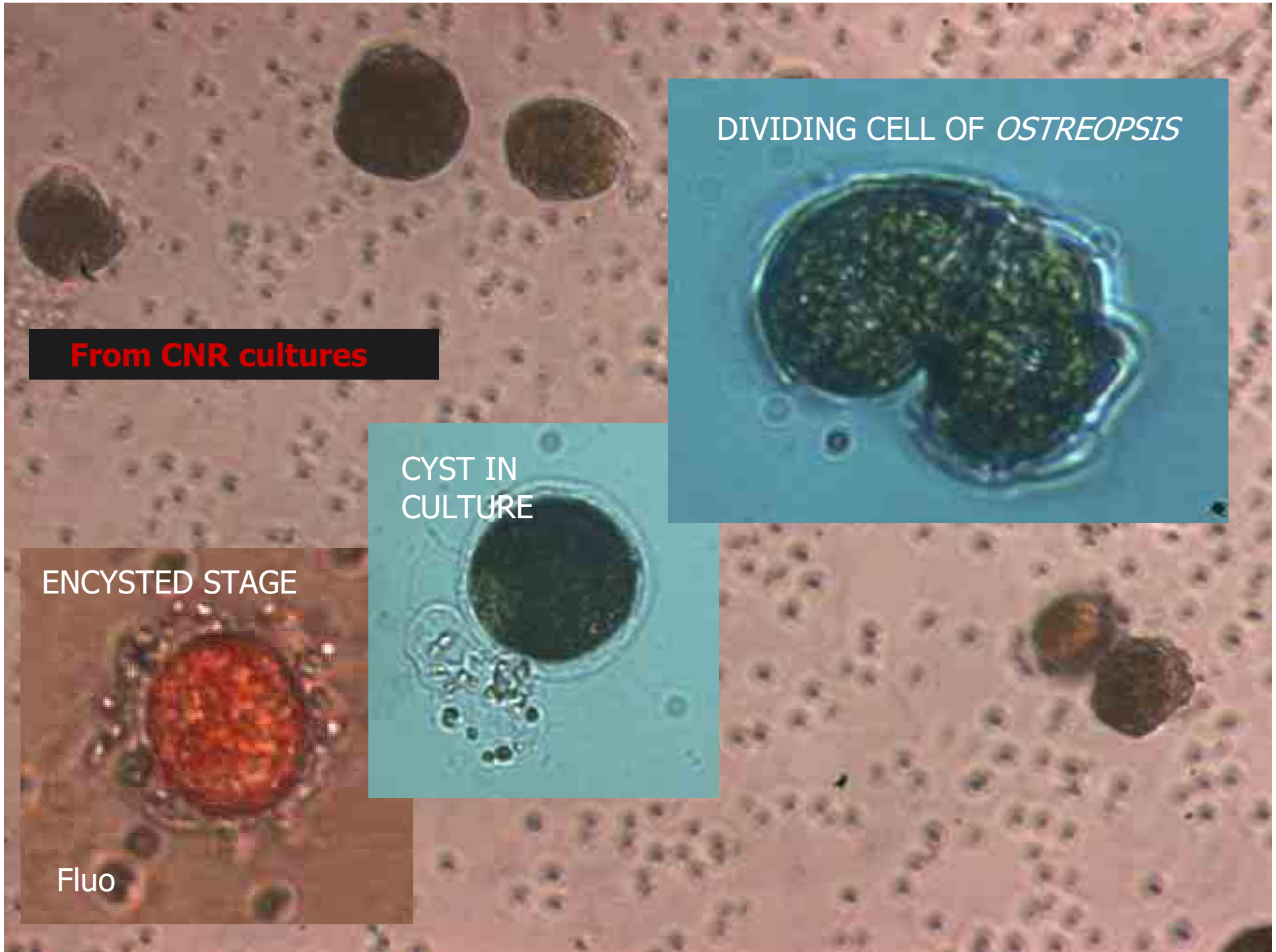
DIVIDING CELL OF *OSTREOPSIS*

From CNR cultures

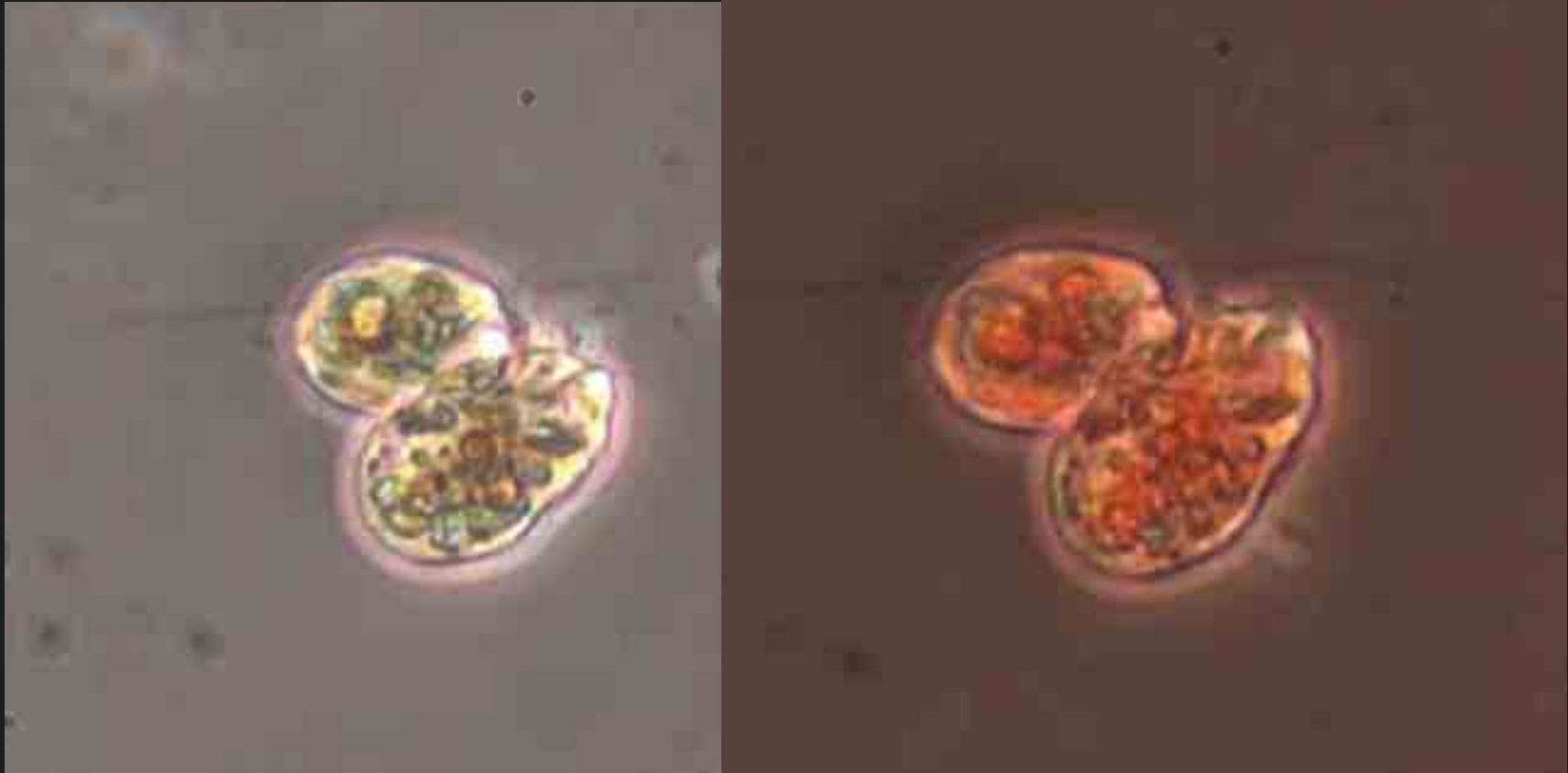
CYST IN CULTURE

ENCYSTED STAGE

Fluo

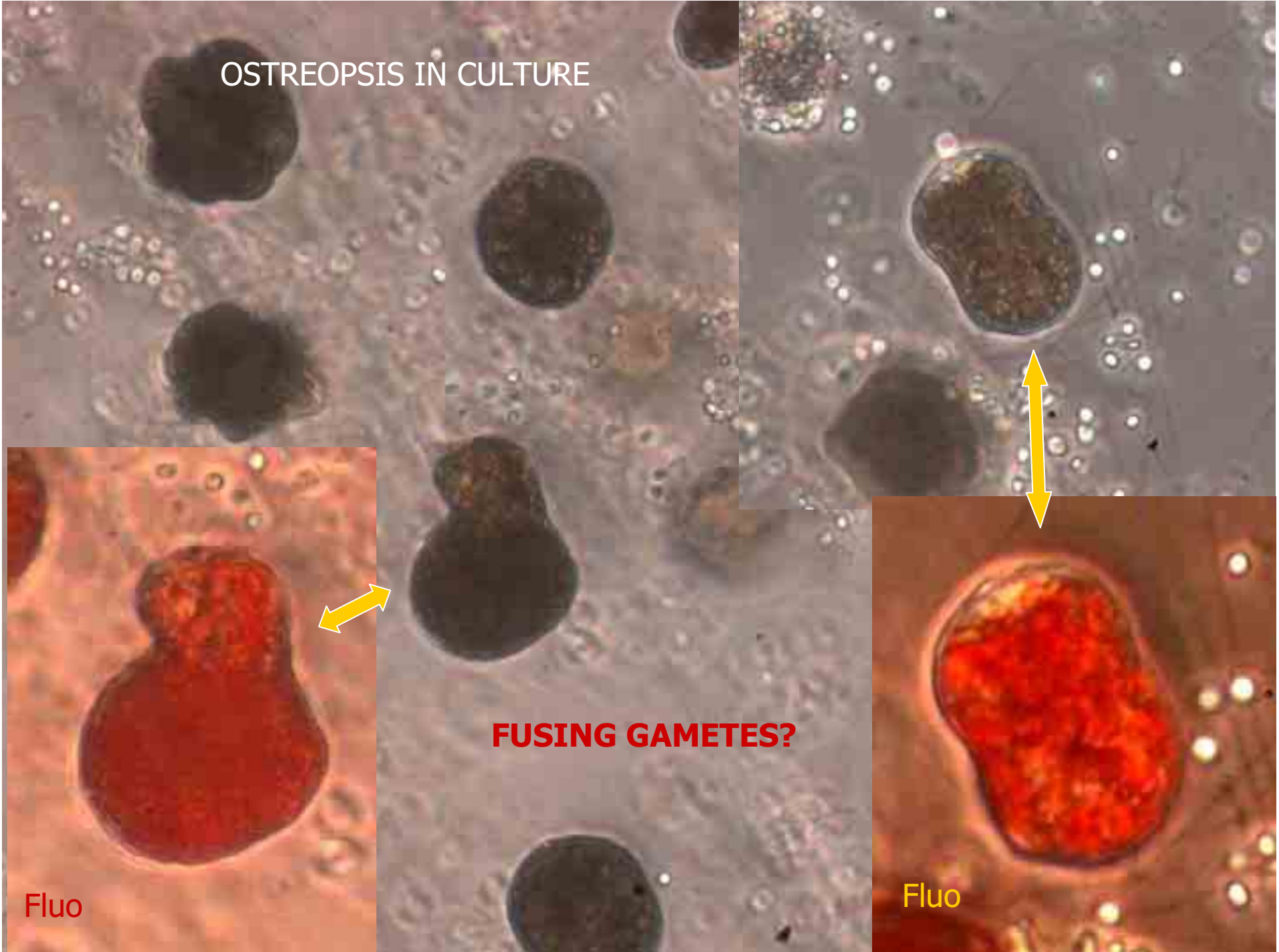


COUPLE OF ANISOGAMETES?



OSTREOPSIS IN CULTURE (CNR CLONES)

OSTREOPSIS IN CULTURE



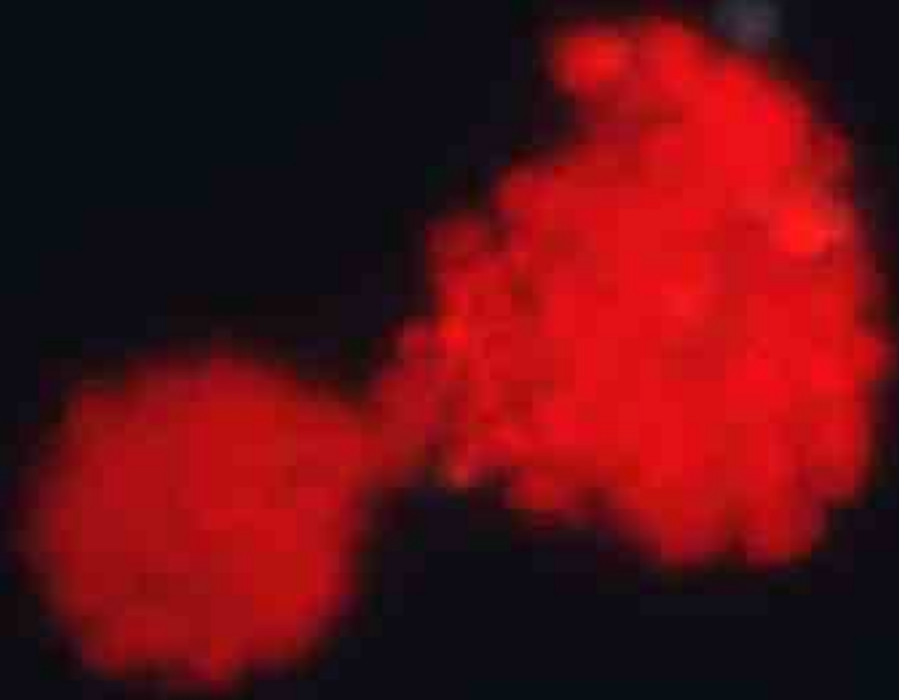
FUSING GAMETES?

Fluo

Fluo

1

FUSING GAMETES?



3

Future objectives

- To study the complete life cycle of *Ostreopsis* species
- To investigate how short-term changes in temperature, light and salinity affect diel and interday cell division patterns and in situ growth rates of *Ostreopsis*
- To establish the diel division pattern to see if there a nocturnal division maximum and reduced division during the day - a pattern characteristic of most dinoflagellates – considering also the proportion of mono- and binucleate cells
- To undertake a longer-term, spatially intensive study to assess the origin of the *Ostreopsis* bloom
- To monitorate “critical areas” for cell densities, salinity, temperature, inorganic nutrients and photosynthetically active radiation (PAR)
- To evaluate if nutrient inputs and light are important in controlling the bloom development in critical areas



Consiglio Nazionale delle Ricerche

IAMC-CNR Messina

GRAZIE!

Dipartimento Terra e Ambiente