

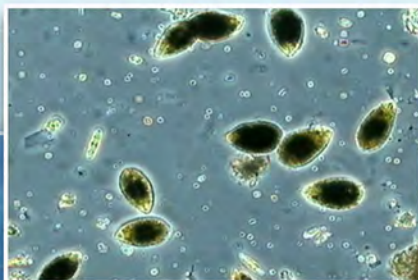


ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

GIORNATA DI STUDIO E CONFRONTO

**PRESENZA E FIORITURE ALGALI
DI *Ostreopsis ovata*
ED ALTRE MICROALGHE
POTENZIALMENTE TOSSICHE
LUNGO LE COSTE ITALIANE**



ATTI

Roma, 28 marzo 2012

ISPRA – Sala Conferenze – Via Brancati 48



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

GIORNATA DI STUDIO E CONFRONTO

PRESENZA E FIORITURE ALGALI
*DI *Ostreopsis ovata**
ED ALTRE MICROALGHE
POTENZIALMENTE TOSSICHE
LUNGO LE COSTE ITALIANE

ATTI

Roma, 28 marzo 2012

ISPRA – Sala Conferenze – Via Brancati 48

Informazioni legali

L'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e le persone che agiscono per conto dell'Istituto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questa pubblicazione.

La Legge 133/2008 di conversione, con modificazioni, del Decreto Legge 25 giugno 2008, n. 112, pubblicata sulla Gazzetta Ufficiale n. 195 del 21 agosto 2008, ha istituito l'ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale. L'ISPRA svolge le funzioni che erano proprie dell'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (ex APAT), dell'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica (ex INFS) e dell'Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare (ex ICRAM).

ISPRA – Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale
Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma
www.isprambiente.it

ISPRA, ATTI 2012
ISBN 978-88-448-0575-3
Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica

ISPRA

Grafica di copertina: Franco Iozzoli

Foto di copertina: Francesca Pedullà ARPA Calabria, Manuela Ercolessi ARPA Marche

Coordinamento tipografico:

Daria Mazzella

ISPRA - Settore Editoria

Ottobre 2012

Questo volume è dedicato al Professore Ernesto Fattorusso del quale abbiamo apprezzato negli anni la grande competenza e professionalità, nonché le doti umane di simpatia e disponibilità.

A cura di

Emanuela SPADA, Patrizia BORRELLO

Autori

Patrizia Borrello, Emanuela Spada, Antonello Bruschi, Roberta De Angelis, Erika Magaletti, Valeria Pesarino, Cecilia Silvestri, ISPRA; Rosella Bertolotto, Paolo Moretto - ARPA Liguria; Oriana Blasutto, Massimo Celio, Maria Venuti - ARPA Friuli Venezia Giulia; Gioia Benedettini - ARPA Toscana; Vera Sangiorgi, Ilen Bianco - ARPA Lazio, Sez. Latina; Giovanna Martella - ARTA Abruzzo; Lucio De Maio, Stefano Capone - ARPA Campania; Francesca Pedullà - ARPA Calabria; Adriana Zingone, Angela Sardo, Rachele Rossi, Vittorio Soprano, e Paola Cirino - Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli; Benedetto Sirchia, Paola Aiello - ARPA Sicilia; Nicola Ungaro - ARPA Puglia; Maria Silvia Bucci - ARPA Molise; Manuela Ercolessi, Annalisa Grucci, ARPA Marche; Cristina Mazziotti, Claudio Silvestri, ARPA Emilia Romagna; Marisa Mameli, Valeria Manca, Cristina Russu, ARPA Sardegna; Patrizia Ciminiello, Carmen Dell'Aversano, Ernesto Fattorusso, Martino Forino e Luciana Tartaglione - Università degli Studi di Napoli Federico II, DCSN; Antonella Penna, Silvia Casabianca, Anna Casabianca, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"; Mauro Marini, ISMAR CNR, Ancona; Cecilia Totti, Stefano Accoroni, Salvatore Pichierri, Federica Colombo, Tiziana Romagnoli, Stefania Gorbi, Francesco Regoli, DISVA, Università Politecnica delle Marche;

Ringraziamenti

Mauro Bencivenga - Direttore Dipartimento Tutela Acque Interne e Marine, ISPRA

Irene Di Girolamo, MATTM - Divisione VI, Tutela dell'ambiente marino e costiero - Direzione generale per la protezione della natura e del mare.

INDICE

| | |
|--|-------|
| PRESENTAZIONE Mauro Bencivenga, ISPRA | p. 9 |
| <i>Ostreopsis ovata</i> in Liguria: dal monitoraggio al bollettino previsionale. Paolo Moretto, ARPA Liguria | p. 10 |
| Presenza di <i>Ostreopsis ovata</i> nel litorale del Friuli Venezia Giulia - Stagione balneare 2011. Oriana Blasutto, ARPA Friuli Venezia Giulia | p. 14 |
| Monitoraggio di <i>O. ovata</i> lungo le coste toscane - Anno 2011. Gioia Benedettini, ARPA Toscana | p. 21 |
| Stagione balneare 2011: monitoraggio di <i>Ostreopsis ovata</i> nel Lazio. Vera Sangiorgi, ARPA Lazio | p. 24 |
| Monitoraggio di <i>Ostreopsis ovata</i> lungo le coste della Regione Abruzzo - Anno 2011. Giovanna Martella, ARTA Abruzzo | p. 27 |
| P.R.I. 2001-2014: Piano di monitoraggio annuale sulla presenza di <i>Ostreopsis ovata</i> nel litorale costiero campano-2011 Stefano Capone, ARPA Campania | p. 28 |
| Monitoraggio delle microalghe bentoniche potenzialmente tossiche lungo le coste della Regione Calabria - Anno 2011. Francesca Pedullà, ARPA Calabria | p. 30 |
| Il duplice effetto di <i>Ostreopsis ovata</i> su mitili e ricci di mare: accumulo di tossine ed aspetti patologici Impatto. Adriana Zingone, Stazione zoologica di Napoli - Anton Dhorn | p. 33 |
| Monitoraggio di <i>Ostreopsis ovata</i> lungo le coste della Regione Sicilia - Anno 2011. Benedetto Sirchia, ARPA Sicilia | p. 37 |
| Monitoraggio di <i>Ostreopsis ovata</i> lungo le aree marino-costiere pugliesi: aggiornamento risultati 2011. | p. 40 |

Nicola Ungaro, ARPA Puglia

Monitoraggio di *Ostreopsis ovata* lungo le coste della Regione Molise – Anno 2011. p. 42
Maria Silvia Bucci, ARPA Molise

Monitoraggio di *Ostreopsis ovata* lungo le coste della Regione Marche – Aggiornamento 2011. p. 44
Manuela Ercolessi, ARPA Marche

Monitoraggio finalizzato al controllo delle microalghe epifitiche tossiche su substrati duri artificiali lungo la fascia costiera dell'Emilia-Romagna (giugno-settembre 2011). p. 48
Claudio Silvestri, ARPA Emilia Romagna - Struttura Oceanografica Daphne

Monitoraggio *O. ovata* lungo le coste della provincia di Sassari nell'estate 2011. p. 50
ARPA Sardegna

Determinazione strutturale dell'ovatossina-a mediante studi NMR e LC/MS/MS ad alta risoluzione. p. 57
Carmen Dell'Aversano, Martino Forino, Università degli Studi di Napoli Federico II, DCSN

Determinazione di *Ostreopsis* spp. in campioni di bioaerosol marino con tecniche molecolari. p. 59
Antonella Penna, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

Ecologia delle fioriture di *Ostreopsis* cf. *ovata* nella Riviera del Conero. p. 63
Cecilia Totti, DISMAR, Università Politecnica delle Marche

Iniziative ISPRA: *Ostreopsis ovata* nella Marine Strategy, nell'annuario dei dati ambientali, nel progetto RENO. p. 66
Cecilia Silvestri, ISPRA

CONCLUSIONI p. 69
Emanuela Spada, Patrizia Borrello, ISPRA

PRESENTAZIONE

Ritorna il consueto appuntamento annuale condotto da ISPRA della giornata di studio e confronto sul tema delle alghe tossiche nell'ambito della linea di attività "Fioriture algali di *O. ovata* lungo le coste italiane". Tale attività, coordinata da ISPRA e concertata con le Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA), è iniziata nel 2006 con la Direttiva Programma Alghe Tossiche del Ministro dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (n. GAB/2006/6741/BO1) ed ha prioritariamente lo scopo di individuare elementi per una strategia comune nazionale di campionamento, analisi, monitoraggio, sorveglianza, informazione, comunicazione e gestione del fenomeno "alghe tossiche". Nell'ambito di tale iniziativa l'ISPRA (ex-APAT) ha organizzato corsi di formazione, redatto nel 2007 il documento APAT/ARPA "Protocolli operativi" e nel 2010 il Rapporto ISPRA/ARPA "Monitoraggio di *Ostreopsis ovata* e altre microalghe potenzialmente tossiche lungo le coste italiane nel triennio 2007-2009". Infine, dagli inizi del 2007, ISPRA promuove ed organizza, con cadenza annuale, seminari di studio e confronto al fine di illustrare la dinamica delle fioriture lungo le coste italiane e le eventuali implicazioni ambientali e sanitarie ed approfondire gli aspetti legati alla biologia, ecologia, ecofisiologia e genetica nonché quelli inerenti le metodologie di campionamento ed analisi di tali microalghe e delle tossine prodotte. Al seminario del 28 marzo 2012, sono intervenuti, oltre alle ARPA costiere, gli esperti nazionali di Enti ed Istituti di Ricerca e un rappresentante del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.

Gli atti di questa giornata riportano i risultati del monitoraggio effettuato dalle ARPA per l'anno 2011 e le informazioni sulla conoscenza "in progress" dell'alga sia dal punto di vista genetico che ecologico derivate dalle recenti ricerche scientifiche che contribuiscono alla migliore comprensione del fenomeno. Inoltre sono state presentate le attività strettamente connesse a tale tematica che ISPRA continua a sviluppare e coordinare (Annuario, Rapporto Aree Urbane, Progetto REtO, Aggiornamento della tematica e Marine Strategy).

Ing. Mauro Bencivenga
Direttore del Dipartimento
Tutela delle Acque Interne e Marine

OSTREOPSIS OVATA IN LIGURIA: DAL MONITORAGGIO AL BOLLETTINO PREVISIONALE.

di Rosella Bertolotto e Paolo Moretto, ARPA Liguria

Riassunto

Nel 2011 l'ARPA Liguria ha realizzato il monitoraggio della microalga *Ostreopsis ovata* lungo tutta la costa ligure, affiancando al monitoraggio tradizionale un modello previsionale sperimentale (Asnaghi *et al.*, 2011-ICOD), realizzato in collaborazione con l'Università di Genova (DipTeRis). Le indagini sono state eseguite dal 5 giugno al 27 settembre, con l'effettuazione di sopralluoghi e campionamenti quindicinali in 13 aree distribuite lungo le 4 province. A ciascuna area veniva associata settimanalmente una "classe di rischio di fioritura *Ostreopsis*" (5 classi di rischio, Tab. 1) attribuita sulla base delle condizioni meteo previste (temperatura aria, pressione atmosferica, direzione del vento). La classe di rischio 5 (rosso) non è previsionale e si raggiunge quando oltre a tutte le condizioni della classe 4, si accerta anche la presenza di casi di intossicazione documentati da ASL.

A validazione del sistema previsionale, per ogni area si è individuato un punto di monitoraggio rappresentativo della situazione (geomorfologica) più favorevole alla proliferazione di *Ostreopsis spp.* (elenco stazioni, Tab. 2), in cui eseguire rilievi visivi, misure in situ e prelievi di campioni di acqua e macroalghe, secondo quanto indicato nelle Linee Guida del Ministero della salute. La scelta dei punti è ricaduta su quelle località che già in passato avevano presentato evidenze di fioritura algale di *Ostreopsis ovata* e che comunque avevano fatto registrare alte concentrazioni della microalga, o casi di malessere tra i bagnanti che stazionavano lungo il litorale in questione.

Il modello matematico predittivo permette di relazionare le molteplici variabili ambientali con la durata e l'intensità delle fioriture, e stimare la probabilità d'insorgenza e permanenza di una fioritura algale, a partire dalla previsione meteo (temperatura - pressione - direzione vento). Il modello può quindi prevedere e localizzare sulla linea di costa, preventivamente suddivisa in 13 parti comprendenti ognuna almeno un punto di controllo, le condizioni ambientali che potrebbero determinare lo sviluppo di bloom algali. Ogni settimana ARPAL pubblica sul suo sito un Bollettino *Ostreopsis* in cui ad ogni area è associato un livello di rischio, rappresentato da un diverso colore.

Poiché le aree in cui è suddivisa la costa sono molto vaste, è da sottolineare che la previsione per una certa area si intende riferita unicamente a quei tratti di litorale che presentano caratteristiche geomorfologiche, di esposizione e biologiche tali da risultare "particolarmente predisposti ad ospitare una fioritura"; così come, ad esempio, nelle zone di montagna il bollettino delle valanghe si intende riferito ai costoni ripidi e alle zone sottostanti e non al fondovalle o alle zone non esposte.

Tabella 1 – Livelli di rischio

| CLASSE DI RISCHIO | |
|--------------------------|--|
| 1 | <i>Da ottobre a maggio oppure presenza < 10.000 cell/l</i> |
| 2 | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Presenza > 10.000 cell/l</i> • <i>T° aria < 27°</i> • <i>Condizioni meteo sfavorevoli alla fioritura</i> |
| 3 | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Presenza > 10.000 cell/l</i> • <i>T° aria > 27°</i> • <i>Condizioni meteo che favoriscono e mantengono la fioritura.</i> |
| 4 | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Fioritura conclamata (presenza patina di fondo e aggregati schiumosi galleggianti)</i> • <i>Condizioni meteo favorevoli alla formazione di aerosol</i> |
| 5 | <i>Fioritura conclamata con evidenze sanitarie comprovate dalle ASL; condizioni meteo stabili</i> |

Tabella 2 – Stazioni di monitoraggio

| AREA | COMUNI INTERESSATI | CODICE STAZIONE |
|------|---|-----------------|
| 1 | Ventimiglia, Camporosso, Vallecrosia, Bordighera. | BAGA |
| 2 | Bordighera, Ospedaletti, San Remo, Taggia, Riva Lig., S. Stefano al Mare, Cipressa, Costarainera, S. Lorenzo al Mare. | VASC |
| 3 | S. Lorenzo al Mare, Imperia, Diano Marina, S. Bartolomeo al Mare, Cervo, Andora. | MARC |
| 4 | Laigueglia, Alassio, Albenga, Ceriale, Borghetto S. Spirito, Loano, Pietra Lig., Borgio Verezzi, Finale Lig. | MCAD |
| 5 | Finale Lig., Noli, Spotorno, Bergeggi, Vado Lig., Savona. | NOSP |
| 6 | Savona, Albissola Marina, Celle Lig., Varazze, Cogoleto, Arenzano. | NAUT |
| 7 | Arenzano, Genova Ponente. | CREV |
| 8 | Genova Levante, Bogliasco, Pieve Lig., Sori, Recco, Camogli. | BAGN |
| 9 | Camogli, Portofino, Santa Margherita Lig., Zoagli, Chiavari. | ZOAG |
| 10 | Chiavari, Lavagna, Sestri Lev. | CHIA |
| 11 | Sestri Lev., Moneglia, Deiva Marina, Framura, Bonassola, Levante. | SESL |
| 12 | Monterosso, Vernazza, Riomaggiore., La Spezia, Portovenere. | MONT |
| 13 | Portovenere, Lerici, Ameglia, Sarzana. | FIAS |

Durante l'attività di monitoraggio 2011 sono stati prelevati in tutto 208 campioni tra acqua di mare e macrofite, ed effettuate altrettante determinazioni quali-quantitative. In particolare si sono evidenziati 6 casi di superamento della soglia di allerta (10.000 cell/l), come evidenziato nella tabella 3.

Tabella 3 - Concentrazioni di *Ostreopsis ovata*

| Sito | Comune | Prov | Campagna | cell/l | cell/g | DATA |
|------|-----------|------|----------|--------|---------|-----------|
| BAGN | Genova | GE | GIU B | 14.740 | 2.384 | 28-giu-11 |
| CHIA | Chiavari | GE | GIU B | 13.680 | 303.791 | 28-giu-11 |
| MCAD | Pietra L. | SV | LUG A | 10.160 | 8.982 | 11-lug-11 |
| MCAD | Pietra L. | SV | LUG B | 31.200 | 219.724 | 27-lug-11 |
| MCAD | Pietra L. | SV | AGO A | 11.280 | 331.504 | 1-ago-11 |
| NAUT | Varazze | SV | AGO A | 21.480 | 64.190 | 1-ago-11 |

L'applicazione del **modello previsionale** ha evidenziato, in sole **3 stazioni** (Tab. 4), il raggiungimento del **terzo livello di rischio** (fascia gialla).

Tabella 4 - Stazioni con rilevazione del 3° livello di rischio

| SITO | COMUNE | PROV | PERIODO |
|------|-------------|------|---------------|
| BAGN | Genova | GE | 01/07 - 07/07 |
| CHIA | Chiavari | GE | 01/07 - 14/07 |
| MCAD | Pietra Lig. | SV | 29/07 - 04/08 |

L'applicazione del modello può essere sfruttata come **strumento utile** agli organi di controllo e agli amministratori locali in quanto permette di:

- ottimizzare le campagne di monitoraggio riducendo i **costi di gestione**,
- fornire una **previsione** attendibile degli eventi di fioritura,
- sviluppare sistemi di **informazione** e **prevenzione** oggettivi ed efficaci su scala locale e regionale.

In base alla classe di rischio raggiunta, ARPAL effettua la comunicazione della situazione e consiglia misure di prevenzione come da tabella seguente (Tab. 5).

Tabella 5 – Misure gestionali

| COMUNICAZIONE oltre alla pubblicazione sul sito | MISURE DI PREVENZIONE |
|---|---|
| <i>Nessuna</i> | <i>Nessuna</i> |
| Nessuna | Nessuna |
| <i>Fase di PRECAUZIONE: comunicazione a Regione, ASL, Comuni interessati.</i> | <i>Prestare attenzione a soggiornare e bagnarsi in tratti mare di acqua ferma, piccole insenature chiuse o con barriera a mare affiorante o soffolta.</i> |
| <i>Fase di ATTENZIONE: Comunicazione a Regione, ASL, Comuni interessati. Eventuale convocazione tavolo tecnico da parte del Comune.</i> | <i>Allontanarsi dal tratto di mare interessato.</i> |
| <i>Fase delle AZIONI: Comunicazione a Regione, ASL, Comuni interessati e pubblicazione sul sito. Possibile ordinanza comunale.</i> | <i>Allontanarsi dal tratto di mare interessato e prestare attenzione alle indicazioni dell'amministrazione comunale.</i> |

Regione Liguria ha condiviso questo approccio e ha inserito il programma di monitoraggio *Ostreopsis* nel "Documento regionale inerente la gestione dell'Attività Balneare" pubblicato sul proprio portale www.liguriainformasalute.it ed inviato ai sindaci dei Comuni costieri e ai responsabili delle ASL.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE AREE MARINO-COSTIERE DEL FRIULI VENEZIA GIULIA

di Oriana Blasutto, Massimo Celio, Maria Venuti, ARPA Friuli Venezia Giulia

Riassunto

Nell'ambito delle attività di sorveglianza e di controllo per l'idoneità delle acque ai fini della balneazione, nel 2011, l'ARPA Friuli Venezia Giulia ha effettuato una specifica attività di monitoraggio per una valutazione quali-quantitativa sulla presenza di microalghe bentoniche potenzialmente tossiche, in particolare della specie *O. cfr. ovata*. Parallelamente il Laboratorio ARPA di Gorizia ha eseguito la ricerca delle stesse specie nei campioni di acqua prelevati durante il monitoraggio delle acque destinate alla molluschicoltura nel Golfo di Trieste.

Per la gestione della qualità delle acque di balneazione, sono state prese in considerazione le stazioni di campionamento della precedente stagione balneare 2010 (Fig.1 e Tab.1).



Figura 1 - Nella mappa sono indicate le località e i punti di campionamento del programma di monitoraggio marino costiero per la gestione della qualità delle acque di balneazione in relazione alla presenza di specie potenzialmente tossiche. Anno 2011.

Tabella 1 – Stazioni di campionamento per il programma di monitoraggio marino costiero per la gestione della qualità delle acque di balneazione.

| Cod bal. | Località | Comune | Provincia | Latitudine | | | Longitudine | | |
|----------|---------------------------|----------------|-----------|------------|---------|---|-------------|---------|---|
| 1161 | Punta Sottile | Muggia | TS | 45° | 36.333' | N | 13° | 43.317' | E |
| 1162 | Stab. Balneare "Lanterna" | Trieste | TS | 45° | 38.890' | N | 13° | 45.226' | E |
| 1163 | Barcola | Trieste | TS | 45° | 41.217' | N | 13° | 44.743' | E |
| 1165 | Filtri | Duino-Aurisina | TS | 45° | 44.461' | N | 13° | 40.139' | E |
| 1166 | Canovella de'Zoppoli | Duino-Aurisina | TS | 45° | 44.975' | N | 13° | 39.347' | E |
| 1167 | Sistiana | Duino-Aurisina | TS | 45° | 46.046' | N | 13° | 37.848' | E |
| 1169 | Marina Nova | Monfalcone | GO | 45° | 47.072' | N | 13° | 32.710' | E |
| 1170 | Lido di Staranzano | Staranzano | GO | 45° | 45.952' | N | 13° | 31.666' | E |
| 1171 | Lido del Carabiniere | Grado | GO | 45° | 41.190' | N | 13° | 26.706' | E |
| 1173 | Lignano Sabbiadoro | Lignano | UD | 45° | 39.705' | N | 13° | 06.573' | E |

I monitoraggi sono stati eseguiti, da maggio a settembre, una volta al mese, seguendo la metodica descritta nei protocolli operativi ISPRA/ARPA (2007) indicati dal d.lgs. n. 116. Inoltre, nel sito di Canovella de'Zoppoli, sono stati effettuati campionamenti aggiuntivi seguendo la metodica Abbate et al. (2010). Secondo il piano di sorveglianza i campionamenti di controllo rutinario sono stati programmati sia prima dell'inizio della stagione balneare, il 31 marzo e il 28 aprile sia durante la stessa il 6 giugno e il 25 agosto. A causa del superamento della soglia di 103 cell/l dell'abbondanza di *O. cfr. ovata* nella spiaggia di Canovella de'Zoppoli il 15 settembre, in conformità al piano di sorveglianza, è scattata la fase di allerta. Sono stati effettuati, quindi, monitoraggi supplementari nelle stazioni in cui le concentrazioni della microalga avevano destato attenzione (Punta Sottile, Barcola e Canovella de'Zoppoli). I risultati positivi di queste indagini hanno portato all'attivazione della successiva fase di emergenza durante la quale sono state coordinate ulteriori attività di monitoraggio e campionamento straordinario. Contestualmente sono stati informati gli organi Regionali e le autorità competenti sul possibile rischio sanitario. Fortunatamente non sono stati registrati danni alla salute umana. Da aprile a settembre, nella pozza di marea di Canovella de'Zoppoli, a un metro e mezzo di profondità è stato posizionato un termometro iButton DS1922L/T (Maxim Dallas Semiconductor) per il rilevamento in continuo della temperatura dell'acqua marina.

Risultati

I campionamenti effettuati nell'ambito della sorveglianza a marzo, aprile, giugno ed agosto nella stazione di Canovella de'Zoppoli non hanno evidenziato criticità per quanto riguarda i popolamenti bentonici, né elevate abbondanze di specie potenzialmente tossiche o fioriture in atto.

I campionamenti effettuati nell'ambito della balneazione hanno messo in evidenza le specie: *A. carterae*, *C. monotis*, *O. cfr. ovata* e *P. lima*, (Tab. 2). In generale, da maggio ad agosto, le concentrazioni erano sempre piuttosto basse. A partire dal mese di settembre fino a metà ottobre, nel litorale triestino, sono state registrate elevate abbondanze di *Ostreopsis cfr. ovata*.

Durante la fase di allerta, scattata il 15 settembre per il superamento della soglia a Canovella de'Zoppoli, sono state eseguite indagini supplementari il 21 e 26 settembre e il 03 e 19 ottobre per seguire lo sviluppo spazio temporale delle eventuali fioriture (Tab.3). Dai sopralluoghi del 26 settembre il litorale presso la località "Barcola", in provincia di Trieste, è risultata l'area maggiormente colpita dalle fioriture (fig.2). Quest'area costiera fortemente antropizzata è esposta all'azione dei venti, tuttavia la presenza delle barriere rocciose dei frangiflutti ha creato ambienti favorevoli allo sviluppo del fenomeno. Il fondale del mesolitorale con massima concentrazione della microalga presentava una fitta rete mucillaginosa rosso-bruna che avvolgeva le macroalge e tutte le superfici rocciose sommerse. I maggiori segnali di sofferenza da parte degli organismi bentonici sono stati rilevati a carico delle macroalge, delle patelle che numerosissime si sono staccate dalla roccia, dei mitili e ricci di mare.

Tabella 2 - Risultati dei campionamenti effettuati durante la stagione balneare 2011.

| codice | 1161 | 1162 | 1163 | 1165 | 1166 | 1167 | 1169 | 1170 | 1171 |
|---------------------------|---------------|----------------|-----------------|--------|----------------------|----------|-------------|----------------|----------------------|
| località | Punta Sottile | Stab. Lanterna | Barcola Trieste | Filtri | Canovella de'Zoppoli | Sistiana | Marina Nova | Lido di Starna | Lido del Carabiniere |
| | 18 mag | | | 17mag | 16mag. | 17mag. | | 19mag. | |
| <i>C. monotis</i> cell/g | 620 | 0 | 0 | 0 | 120 | 798 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. monotis</i> cell/l | 2 000 | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. lima</i> cell/g | 129 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 15-giu | | | 16-giu | 17-giu | | 14-giu | | |
| <i>C. monotis</i> cell/g | 2 533 | 34 | 0 | 1 920 | 4 925 | 332 | 32 | 0 | 184 |
| <i>C. monotis</i> cell/l | 2 400 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. lima</i> cell/g | 2 873 | 0 | 0 | 0 | 276 | 16 | 32 | 0 | 0 |
| <i>P. lima</i> cell/l | 400 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 15-lug | | | 13-lug | | | 14-lug | | |
| <i>A. carterae</i> cell/g | 0 | 31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. monotis</i> | 15 875 | 244 | 69 | 116 | 43 | 610 | 358 | 466 | 2 587 |

| | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---------------|-------|---------|---------------|---------------|-------|-------|---------------|--------|
| <i>cell/g</i> | | | | | | | | | |
| <i>C. monotis</i> <i>cell/l</i> | 10 000 | 1 200 | 0 | 800 | 1 200 | 1 200 | 400 | 0 | 0 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/g</i> | 5 427 | 15 | 46 | 212 | 174 | 87 | 179 | 6 933 | 370 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/l</i> | 4 800 | 800 | 0 | 400 | 400 | 0 | 0 | 2 000 | 0 |
| | 09-ago | | | 11-ago | | | | 08-ago | |
| <i>A. carterae</i> <i>cell/l</i> | 0 | 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. monotis</i> <i>cell/g</i> | 137 | 842 | 0 | 4 684 | 530 | 79 | 0 | 90 | 0 |
| <i>C. monotis</i> <i>cell/l</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/g</i> | 581 | 62 | 76 | 1 977 | 2 056 | 132 | 0 | 1 263 | 0 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/l</i> | 3 200 | 0 | 0 | 0 | 800 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 14-set | | | | 15-set | | | 13-set | |
| <i>A. carterae</i> <i>cell/g</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 755 |
| <i>A. carterae</i> <i>cell/l</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 000 |
| <i>C. monotis</i> <i>cell/g</i> | 306 619 | 931 | 14 847 | 1 484 | 25 538 | 431 | 0 | 441 | 48 |
| <i>Dcfr. ovata</i> <i>cell/g</i> | 299 774 | 388 | 439 911 | 976 | 142 850 | 323 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Dcfr. ovata</i> <i>cell/l</i> | 280 | 0 | 1 460 | 0 | 14 080 | 0 | 0 | 0 | 240 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/g</i> | 1 274 | 310 | 1 100 | 234 | 1 358 | 0 | 0 | 1 963 | 266 |
| <i>P. lima</i> <i>cell/l</i> | 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 600 | 8 800 | 440 |

Tabella 3 - Risultati dei campionamenti relativi alla fase di allerta dal 21 settembre al 19 ottobre 2011.

| | <i>Coolia monotis</i> | | <i>Ostreopsis</i> cfr. <i>ovata</i> | | <i>Prorocentrum lima</i> | |
|---------------------------------|-----------------------|--------|-------------------------------------|--------|--------------------------|--------|
| | cell/gr | cell/l | cell/gr | cell/l | cell/gr | cell/l |
| 21/09/2019 | | | | | | |
| Muggia | 15 099 | 0 | 6 361 | 240 | 874 | 0 |
| Barcola | 85 366 | 120 | 878 049 | 1 840 | 2 065 | 80 |
| Canovella De'Zoppoli | 0 | 0 | 713 292 | 9 480 | 0 | 0 |
| 26/09/2011 | | | | | | |
| Punta Sottile | 4 360 | 0 | 12 400 | 0 | 1 000 | 0 |
| Bagno S. Rocco Muggia | 0 | 0 | 1 478 | 0 | 0 | 800 |
| Stab. Balneare Lanterna Trieste | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 800 |
| Barcola CEDAS Trieste | 492 768 | 0 | 4 765 438 | 12 080 | 0 | 0 |
| Barcola Molo T2 | 0 | 0 | 1 237 542 | 160 | 0 | 0 |
| Barcola Bagno Sticco | 13 888 | 360 | 508 874 | 20 640 | 1 587 | 0 |
| Barcola T3 | 0 | 75 388 | 4 541 012 | 2 450 | 0 | 0 |
| Canovella de'Zoppoli | 0 | 0 | 2 862 699 | 7 840 | 0 | 0 |
| Duino | 0 | 0 | 382 | 400 | 0 | 0 |
| Filtri Duino Aurisina | 2 476 | 0 | 11 273 | 2 080 | 1 108 | 0 |
| Grignano Porto | 205 | 0 | 615 | 200 | 103 | 0 |
| Sistiana Bagno Castelreggio | 168 514 | 0 | 258 536 | 0 | 0 | 0 |
| 03/10/2011 | | | | | | |
| Canovella de'Zoppoli | 135 239 | 1 260 | 387 352 | 14 560 | 16 696 | 340 |
| 19/10/2011 | | | | | | |
| Canovella de'Zoppoli | 86 036 | 200 | 41 430 | 3 612 | 927 | 0 |



Figura 2 - Nella mappa sono indicate le località e le relative abbondanze di *Ostreopsis* cfr. *ovata* riscontrate nella matrice acqua ● e macroalghe ● nel periodo dal 15 settembre al 19 ottobre.

Dalle analisi che il Laboratorio di Gorizia ha effettuato per il monitoraggio delle acque destinate alla molluschicoltura nel Golfo di Trieste, *Ostreopsis* cfr. *ovata* è stata rinvenuta dal 12 settembre al 24 ottobre, nell'area marina antistante alla fascia costiera triestina, in colonna d'acqua (9 m di prof.) con abbondanze che variavano da 0.05 a 0.34 cell/l.

A Canovella de'Zoppoli sono stati applicati i tre metodi di raccolta per la ricerca delle specie bentoniche: metodo della siringa, campionamento delle macroalghe e prelievo di acqua superficiale. Da un primo confronto dei dati si osserva che le abbondanze delle specie bentoniche sono sensibilmente più elevate nei campioni prelevati per mezzo della siringa rispetto agli altri due metodi di campionamento.

A Canovella de'Zoppoli l'installazione del termometro per il rilevamento della temperatura in continuo dell'acqua nella pozza di marea ha permesso di individuare il tipico andamento stagionale della temperatura del mare. I picchi massimi della temperatura dell'acqua (intorno a 30°C) sono stati registrati verso metà-fine agosto, mentre le massime abbondanze delle specie bentoniche *C. monotis*, *Ostreopsis* cfr. *ovata* e *P. lima* sono state registrate da metà settembre ai primi di ottobre.

Dall'analisi dell'andamento della radiazione solare cumulata nel 2011 si osserva un generale incremento rispetto la media dei 5 anni precedenti, inoltre, numerosi picchi di temperatura dell'aria superavano il valore della media stagionale. La maggiore radiazione solare è in concomitanza allo sviluppo delle fioriture di *O.* cfr. *ovata*

analogamente a quanto era già stato osservato nel 2009, anno in cui era stata registrata la prima fioritura della regione Friuli Venezia Giulia.

Il Centro di Ricerche Marine di Cesenatico, Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine, ha riscontrato la presenza di ovatoxina-a nei campioni di macroalghe provenienti da Barcola in provincia di Trieste prelevati il 29 settembre 2011. Si riportano in tabella 4 i risultati ottenuti dalle analisi eseguite da Laboratorio.

Tabella 4 - Concentrazioni di biotossine.

| Campione | Risultati | | | |
|---|---------------------------------------|----------|----------------------------------|--------------------|
| Data:29/09/11 Loc: Barcola (Trieste) | <i>Ostreopsis ovata</i> N° cellule | OVTX-ang | PITX, OVTX-c, OVTX-e ng | OVTX-b, OVTX-d, |
| N° 2188/11 | 574.184 | 2.727 | <LOQ | |
| N°2189/11 | 1.646.306 | 2.938 | <LOQ | |
| N°2190/11 | 897.083 | 3.300 | <LOQ | |

LOQ= Limite di quantificazione

Le unità sanitarie locali, durante tutto il periodo estivo e autunnale, non hanno rilevato problematiche alla salute umana causate dalle fioriture osservate lungo il litorale regionale.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Centro di Ricerche Marine di Cesenatico, la Direzione Tecnica Scientifica dell'ARPA FVG, l'Osservatorio Alto Adriatico, i Laboratori ARPA di Gorizia (S. De Zorzi, L. Facchini, F. Franceschini, E. Gironcoli, D. Roppa, M. Venuti, B. Zanolin), di Udine (E. Rancati, D. Virgilio) e lo staff del servizio imbarcazioni.

MONITORAGGIO DI *O. OVATA* LUNGO LE COSTE TOSCANE-ANNO 2011

di Gioia Benedettini - ARPAT

Riassunto

Sulla base dei risultati scaturiti dai progetti richiesti dalla regione Toscana negli anni 2008-2009, ARPAT ha stabilito le aree a rischio, nonché ha predisposto piani di monitoraggio mirati che interessano la matrice acqua ed il substrato.

Come criterio generale sono state scelte le stazioni che negli anni passati hanno evidenziato il superamento, in almeno una campagna di monitoraggio, del limite previsto dalle linee guida ministeriali di 10000 cell/L nella colonna d'acqua. Le aree a rischio sono state individuate nei comuni di Massa, Pisa e Livorno (Figg.1-2-3).

Oltre ad *O. ovata* sono anche monitorate altre due microalghe potenzialmente tossiche, *Prorocentrum lima* e *Coolia monotis*. Le stazioni di monitoraggio interessano un tratto di 10 m vicino alle scogliere, di norma in prossimità delle stesse stazioni identificate per il controllo delle acque di balneazione ai sensi della normativa vigente.

Le fioriture si sono verificate nei mesi di Luglio ed Agosto. In particolare in provincia di Massa Carrara il 13 luglio si è verificata la presenza di una fioritura soltanto nel punto OST-MS2 con concentrazioni molto elevate (129.600 cell/L). Ai successivi campionamenti la microalga risultava praticamente assente sia in colonna d'acqua che sulla macroalga verosimilmente a causa delle forti mareggiate presenti nei giorni antecedenti. Al campionamento del 3 agosto, invece, nel punto OST-MS1 la concentrazione rilevata è stata di 315.000 cell/L, il valore più elevato dell'intera stagione estiva riscontrato in colonna d'acqua ed anche su macroalghie (5141 cell/g);

Anche in provincia di Pisa la fioritura si è verificata il 13 luglio nella stazione OST-PI 1 (192.119 cell/L in colonna d'acqua e 30.910 cell/g su macroalghie) ed il giorno 8 agosto (171.000 cell/L in colonna d'acqua e 145.380 cell/g su macroalghie).

Nella provincia di Livorno la stazione OST-LI 6 ha evidenziato concentrazioni elevate il 13 luglio (34.523 cell/L) ed il 18 luglio (13.100 cell/L). Nel campionamento successivo i valori sono rientrati nei limiti, mentre il giorno 8 agosto si è evidenziato un nuovo picco (12.114 cell/L). In tutte e tre le provincie alle fioriture è stata associata la presenza di una pellicola gelatinosa marrone-rossastra che rivestiva le parti sommerse, sono stati, inoltre, rilevati segni di sofferenza delle biocenosi, drastica riduzione delle trasparenze, scomparsa e rarefazione delle alghe sommerse, presenza di banchi di mitili sul fondo e ricci con evidenti segni di stress, come la perdita di aculei. Non sono stati tuttavia segnalati malesseri nei bagnanti.

I risultati hanno confermato che tratti della costa toscana sono a rischio di fioriture di *O. ovata*. Nei periodi critici le concentrazioni nella colonna d'acqua possono superare, anche marcatamente i limiti ministeriali. Durante la stagione 2011, tuttavia, il numero delle stazioni che hanno fatto scattare situazioni di allerta è diminuito rispetto alla stagione 2010. La mancanza di risorse non ha consentito di proseguire le indagini sulla contaminazione dell'aerosol marino, nonostante i risultati incoraggianti ottenuti nelle indagini effettuate nel 2009-2010 in collaborazione con le Università di Napoli e Urbino. La presenza del genoma di *Ostreopsis ovata* nell'aerosol marino e, per la prima volta la rilevazione contestuale in alcuni campioni di aerosol di composti

tossici (palitossino-simili) induce a ritenere che sarebbe molto importante proseguire queste ricerche.

Figura 1 - Un tratto del litorale Apuano che mostra alcune stazioni e il posizionamento dei campionatori per la rilevazione dell'aerosol marino

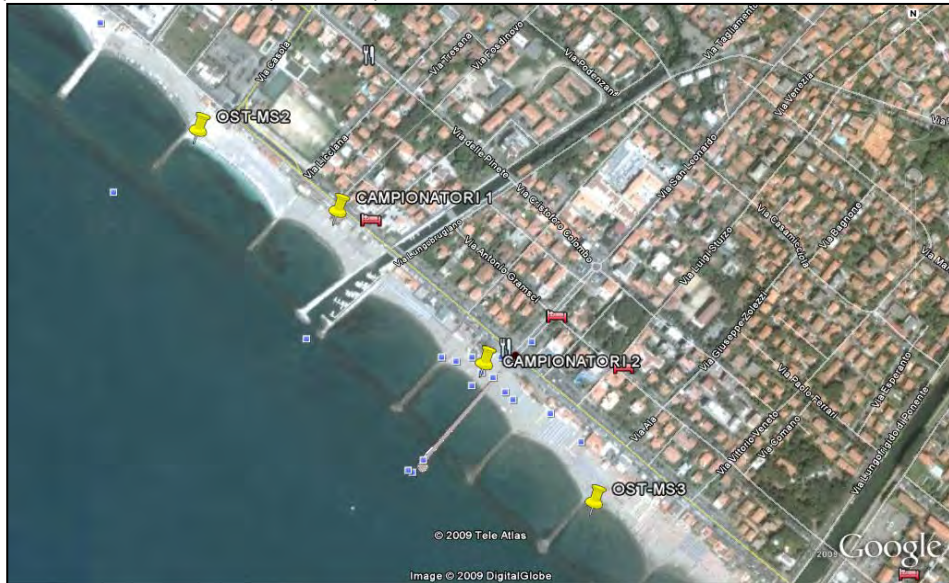


Figura 2 - Un tratto del litorale Pisano e la stazione per la rilevazione dell'aerosol marino

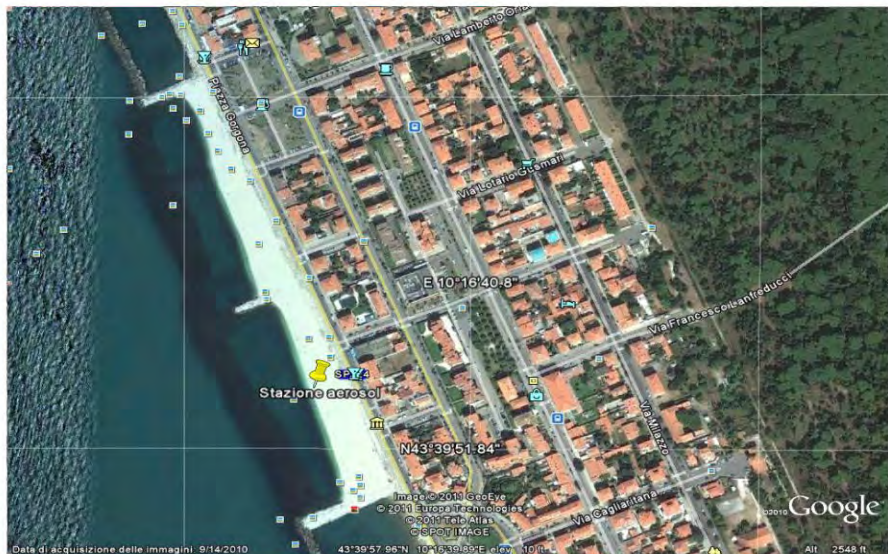


Figura 3 - Litorale Pisano spiagge di ghiaia



Ringraziamenti

Monica Casotti Enrico Cecchi, Cecilia Mancusi, Cinzia Palmieri, Arcangela Pavia, Michela Ria, Simona Scandurra, Fabrizio Serena, Vincenza Talesco,

STAGIONE BALNEARE 2011: MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* NEL LAZIO

di Ilan Bianco, Vera Sangiorgi, Simona Calvanella - ARPA Lazio

Riassunto

L'ARPA Lazio ha effettuato durante la stagione balneare 2011 la sorveglianza sulle proliferazioni di fitobentos potenzialmente tossico a seguito del recepimento della nuova Direttiva Balneazione (D.Lgs. 116/08 e D.G.R. del 2011, Allegato 6). Tale sorveglianza prevede 3 livelli d'indagine. Il primo livello d'indagine considera la sola matrice acqua in corrispondenza di alcuni punti di campionamento previsti e codificati dal D.G.R. balneazione. Dal momento che tale specie è bentonica, il suo ritrovamento in questi campioni, prelevati a distanza dal substrato sul quale cresce, è indice di rilevanti concentrazioni dell'alga nei popolamenti microfitobentonici.

Considerando l'habitus bentonico della specie e al fine di ottimizzare il numero di uscite, si è stabilito di unire il secondo e il terzo livello di indagine procedendo, quindi, al prelievo del campione di acqua sopra al substrato di crescita delle alghe ricercate (secondo livello indagativo) e dello stesso substrato secondo i protocolli operativi ISPRA (terzo livello indagativo). Questa fase viene svolta a riva in corrispondenza del punto di balneazione risultato positivo alla prima indagine.

I prelievi sono stati effettuati nelle province di Roma e Latina in 9 stazioni con frequenza mensile da aprile a settembre (Fig. 1).

Figura 1 - Stazioni di campionamento



Delle 9 stazioni indagate, 7 sono risultate positive rispetto alla presenza di *Ostreopsis ovata* ovvero: punto 29 nel comune di Civitavecchia, punto 38 nel comune di S. Marinella, punto 410 nel comune di Fiumicino, punto 354 e 176 nel comune di S. F. Circeo, punto 208 nel comune di Sperlonga e punto 233 nel comune di Formia. Nel monitoraggio di indagine di secondo/terzo livello, l'abbondanza delle microalghe bentoniche d'interesse è stata stimata sia nell'acqua prelevata sopra al substrato (cell/l), sia direttamente sul substrato (cell/g) (Tab. 1).

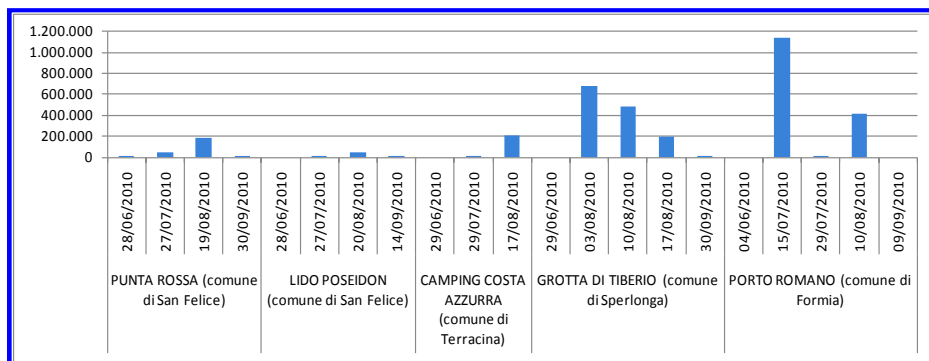
Tabella 1 – Concentrazioni di *Ostreopsis ovata*

| Punto di prelievo | Data | <i>Ostreopsis</i> (cell/l) | <i>Ostreopsis</i> (cell/g) |
|---|------------|-------------------------------|-------------------------------|
| S. Felice Circeo pto 354 Punta Rossa | 30/08/2011 | 80 | 1.383 |
| S. Felice Circeo pto 176 Torre Olevola | 28/07/2011 | 0 | 0 |
| Sperlonga pto 208 Grotte Tiberio | 04/08/2011 | 800 | 96.272 |
| Formia pto 233 Porto Romano | 25/07/2011 | 30.800 | 2.127.201 |
| Formia pto 233 Porto Romano | 22/08/2011 | 6.300 | 112.732 |

Complessivamente il superamento del valore di 10.000 cell/l di *Ostreopsis ovata* in acqua, registrato nella stazioni di Porto Romano il 25/07/2011 (30.800 cell/l), nel Comune di Santa Marinella il 10/08/2011 (circa 21.000 cell/l) e nel Comune di Civitavecchia il 05/09/2011 (circa 12.000 cell), ha determinato la fase di EMERGENZA secondo le linee guida del Ministero della Salute, in seguito alla quale si è proceduto ad informare le strutture sanitarie e le autorità locali di competenza.

I campioni di microfitorbentos, prelevati su macroalghe, hanno rivelato la presenza massiva di *Ostreopsis ovata* principalmente nella stazione di Porto Romano (fino a circa 2.100.000 cell/g) e Grotte di Tiberio (96.000 cell/g) (Fig. 2).

Figura 2 – Concentrazioni di *Ostreopsis ovata* in cell/g (microfitorbentos)



La sorveglianza ambientale, svolta in concomitanza ai fenomeni di fioritura di *Ostreopsis ovata* lungo il litorale, non ha rilevato macroscopiche alterazioni dell'ecosistema marino costiero sebbene nella stazione di Porto Romano si sia spesso osservata una importante alterazione dell'aspetto del substrato dovuto alla

copertura massiccia del fondale da parte di *Ostreopsis ovata*. Non sono pervenute segnalazioni di tipo sanitario.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE COSTE DELLA REGIONE ABRUZZO – ANNO 2011

di Giovanna Martella, ARTA Abruzzo

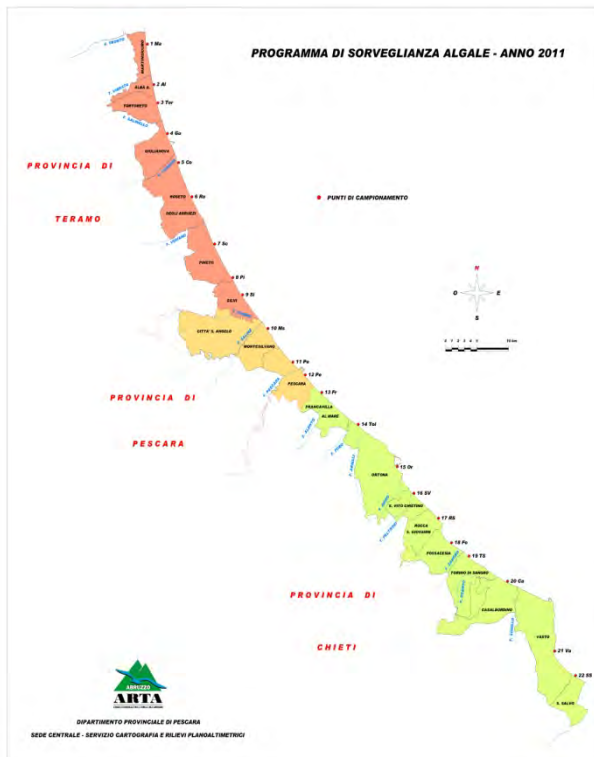
Riassunto

Il programma di sorveglianza algale della regione Abruzzo interessa 22 stazioni di campionamento (Fig. 1); sono state scelte tra i 118 punti di controllo della balneazione (D.Lgs. 116/08) in zone con caratteristiche ambientali il più possibile favorevoli allo sviluppo di *O. ovata* e localizzate, in genere, in corrispondenza di barriere frangiflutti o di pennelli.

Il programma prevede un periodo di indagine compreso tra giugno e settembre, una frequenza di campionamento mensile, l'identificazione delle microalghe sulla matrice acqua, effettuata con il metodo di Utermöhl. Sono rilevati in campo alcuni parametri chimico-fisici: salinità, temperatura, corofilla *a*, ossigeno disciolto, trasparenza e i dati meteo. Complessivamente sono stati prelevati 88 campioni di acqua per l'analisi quali-quantitativa delle microalghe, con particolare attenzione alla specie *Ostreopsis ovata*.

Anche per l'anno 2011 nessuno dei campioni analizzati ha evidenziato la presenza di *Ostreopsis ovata*. Su 36 campioni, in particolare tra il mese di giugno e di luglio, sono state individuate invece fioriture di microalghe responsabili di anomale colorazioni delle acque di balneazione, in particolare: *Chattonella* sp.e *Fibrocapsa* sp..

Figura 1 – Stazioni di campionamento



P.R.I. 1001-2014: PIANO DI MONITORAGGIO ANNUALE SULLA PRESENZA DI *OSTREOPSIS OVATA* NEL LITORALE COSTIERO CAMPANO - 2011

di Lucio De Maio e Stefano Capone - ARPA Campania

Riassunto

Il monitoraggio 2011 è stato effettuato nell'ambito del Piano Regionale Integrato 2011 - 2014 sulla sicurezza alimentare, il benessere e la sanità animale, la sanità vegetale. (DGRC n.377 del 04/08/2011).

A causa di un'alta percentuale di campioni negativi, prelevati in colonna d'acqua, e all'assenza di casi di malessere riscontrati nel 2010, le stazioni individuate per l'indagine della matrice acqua sono state ridotte da 102 a 50. I prelievi sono stati effettuati con frequenza mensile anziché quindicinali da luglio a settembre (Fig.1 e 2). Contestualmente si è data maggiore importanza alle condizioni meteo che favoriscono lo sviluppo di aerosol tossico.

Il prelievo su macroalga è stato concentrato sulle stazioni che maggiormente sono state interessate dai fenomeni di fioriture. Queste risultano essere in numero di 23 con campionamenti quindicinali da luglio ad inizio ottobre con contestuale rilievo dei parametri fisico-chimici e meteo-marini.

Le analisi quali/quantitative di *O. ovata* sulla macroalghe e nei campioni di acqua sono state effettuate dal "Laboratorio Multizonale Regionale Mare" del Dipartimento Provinciale di Napoli di ARPAC.

Per quanto riguarda le analisi sugli organismi marini eduli il confronto (2007-2010) tra sensibilità del metodo biologico, il limite di determinazione analitico e le indicazioni di tossicità (bibliografia. e indicazioni EFSA) ha portato alla:

- 1 Limitazione del risultato "positivo" al mouse test a 6 ore, e alla
- 2 Classificazione della positività tra le 6 e le 24 ore come esito "dubbio"

Sono stati effettuati campionamenti quindicinali su organismi marini eduli quali ricci e mitili (Fig.2) in 7 punti, scelti sulla scorta dei risultati biotossicologici pregressi, per le analisi quali/quantitative della tossina e per le analisi tossicologiche da parte dell'Università - Dipartimento di Chimica e l'Istituto Sperimentale Zooprofilattico di Portici (ISZM).

Inoltre, sono state campionate specie animali commestibili per l'uomo presenti in alcune zone contaminate (patelle, murici, granchi, e pesci) che, come negli anni precedenti, hanno dato sempre esito negativo.

Il piano di sorveglianza ha previsto anche la sorveglianza visiva sull'intero sviluppo costiero regionale, ovvero:

- ✓ Opalescenza dell'acqua;
- ✓ Formazione di schiuma (*foaming*) in superficie;
- ✓ Presenza di materiale di consistenza gelatinosa in sospensione;
- ✓ Presenza di pellicola bruna dall'aspetto membranoso sugli scogli e su macroalghe, rilevata mediante ispezioni subacquee

Dai dati raccolti si riscontra una fioritura il 18 luglio con 175.282 cell/L in colonna d'acqua e una picco massimo di 769.451 cell/gr nella seconda metà di luglio in una stazione del Golfo di Napoli. Più in generale è confermata la fioritura in più stazioni nella seconda metà del mese di luglio seguito dal tipico decremento in agosto e dalla sparizione di bloom in settembre, a meno di qualche eccezione.

Per quanto riguarda gli organismi marini eduli, l'ISZM ha riportato circa 72 campioni positivi al "mouse test" con una quantificazione di ovatoossine massima per i mitili di circa 245 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, effettuata dall'Università *Federico II* di Napoli. In conclusione si evince che *Ostreopsis* è presente in quasi tutti i siti indagati lungo le coste della Campania, le fioriture si presentano nel mese di Luglio, esiste un'alta variabilità tra punti diversi anche su una minore scala spaziale, oltre ad un'alta variabilità in uno stesso punto tra i vari anni.

Figura 1 - Stazioni per le acque superficiali

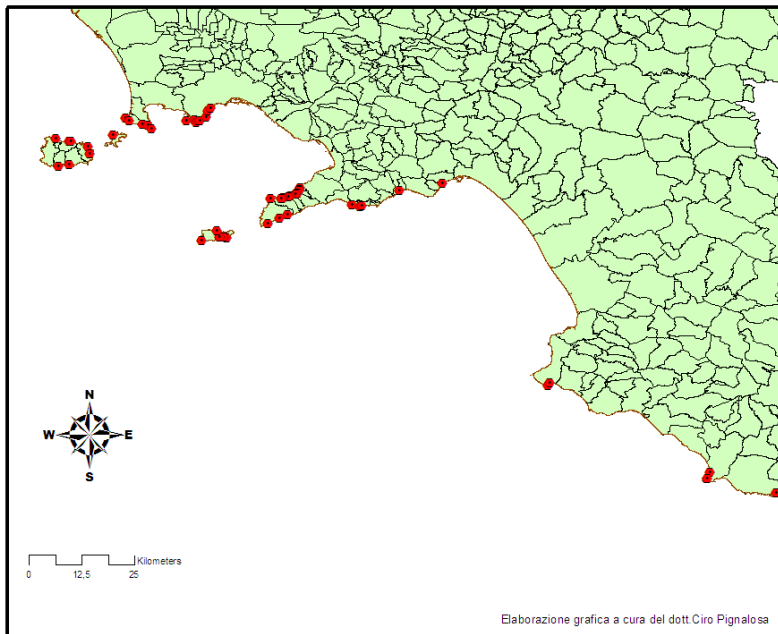


Figura 2 - Campionamenti



MONITORAGGIO DELLE MICROALGHE POTENZIALMENTE TOSSICHE LUNGO LE COSTE DELLA REGIONE CALABRIA - ANNO 2011

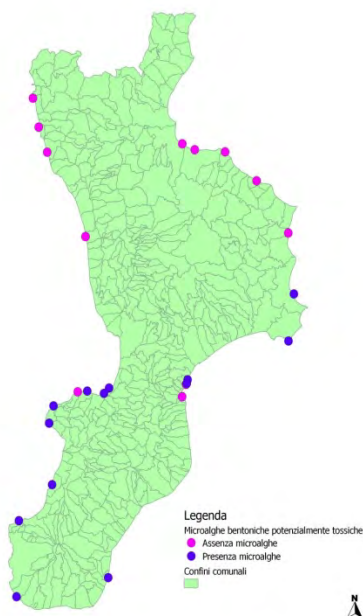
di Francesca Pedullà - ARPA Calabria

Riassunto

Il monitoraggio di sorveglianza delle microalghe bentoniche potenzialmente tossiche e in particolare di *Ostreopsis ovata* è stato eseguito dal personale dei dipartimenti provinciali ARPA Calabria da giugno a settembre con cadenza mensile e bimensile nei mesi di luglio e agosto, sui 25 siti che presentano condizioni geomorfologiche compatibili alle condizioni di crescita delle microalghe bentoniche (Fig. 1).

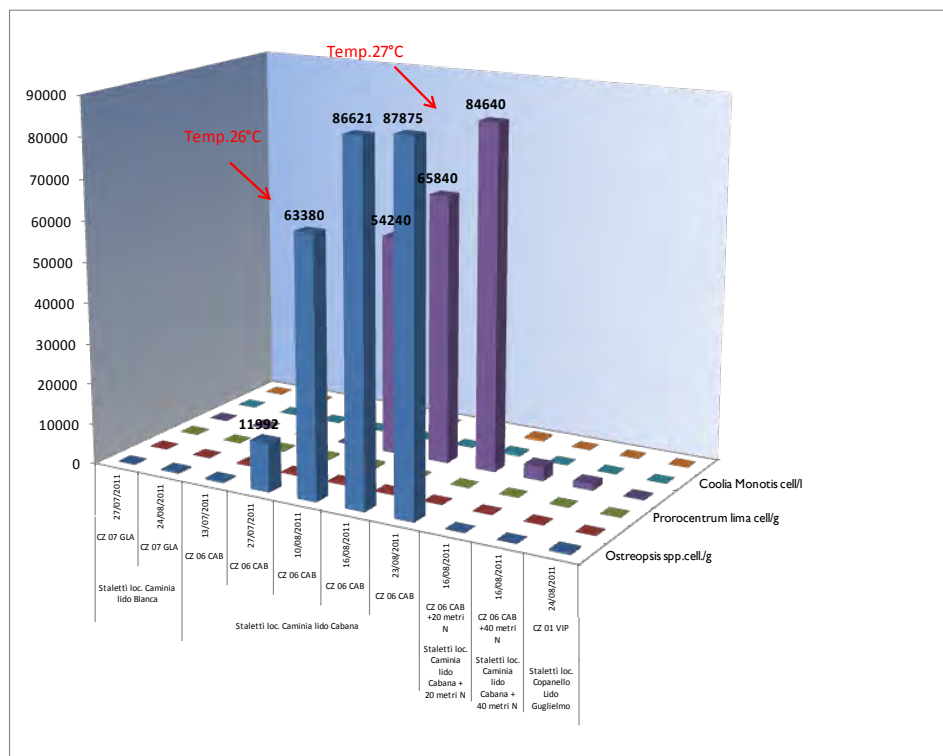
La ricerca è stata condotta secondo i protocolli operativi indicati dal Dlgs 116/08 e per i siti di Crotona secondo il metodo Abbate *et al.* (2010). Il monitoraggio ha riguardato 4 stazioni di campionamento della provincia di Reggio Calabria, 6 della provincia di Vibo Valentia, 4 della provincia di Catanzaro, 8 della provincia di Cosenza e 3 della provincia di Crotona.

Figura 1 - Stazioni di campionamento



Nel corso della stagione balneare non sono state rilevate fioriture di specie potenzialmente tossiche. Le ispezioni non hanno mai rilevato segni di sofferenza o di criticità delle comunità bentoniche. Unica eccezione la stazione di campionamento denominata Caminia "Lido La Cabana" ricadente nel comune di Staletti della provincia di Catanzaro (Fig. 2) dove la cospicua presenza di *Ostreopsis* spp. non ha mai destato segnali di allarme né per la popolazione né per l'ambiente marino.

Figura 2 - Fioritura di *O. ovata* a Staletti (provincia di Catanzaro)



In questo sito i risultati ottenuti hanno evidenziato un bloom algale di *Ostreopsis* spp. con concentrazioni superiori alle 10.000cell./L dal 27 luglio fino 23 agosto. L'istituto di Ricerche Marine di Cesenatico ha eseguito la tipizzazione genica dei campioni e i risultati hanno confermato la presenza di *Ostreopsis ovata* e il profilo tossico tipico caratterizzato da concentrazioni di Ovatossina a di 2,625 ng e la presenza di Palitossina putativa e Ovatossina - b, - c, - d, - e, inferiori al limite di quantificazione.

Sui quattro siti monitorati della provincia di Reggio Calabria non si sono riscontrate fioriture di *Ostreopsis ovata* né di altre alghe potenzialmente tossiche. Come negli anni precedenti è stata rilevata la presenza di tutte le specie microalgali ricercate e concentrazioni maggiori si sono evidenziate sia sulla matrice acqua che sulla macroalga a fine agosto in località Costa Viola.

Per la prima volta è stata riscontrata la presenza di *Anphidinium* spp. (in alga) a Capo Bruzzano [2° campione di Luglio], a Lazzaro [campione di Settembre] e soprattutto a Palmi [campione di Settembre]. Picchi di *Ostreopsis ovata* a Scilla costa Viola a fine agosto e a Lazzaro di *Prorocentrum lima* sempre ad agosto e a settembre.

A fine agosto rispettivamente nei siti di Costa Viola e di Capo Bruzzano la concentrazione cospicua di *D. ovata* era pari a 2.200cell/l e di *Prorocentrum lima* pari a 220 cell/l.

Dall'andamento delle concentrazioni dei nutrienti si evince che le quantità superiori rispetto alle medie si hanno nelle zone ad impatto antropico maggiore, Lazzaro e Palmi, ma questo dato non è correlabile alle concentrazioni significative di microalghe. Per le stazioni di Crotona il campionamento delle microalghe bentoniche è stato eseguito in ottemperanza al protocollo operativo redatto dall'ENEA "Nuova metodica per il campionamento della microalga ticoplanctonica *Ostreopsis ovata* Fukuyo 1981", a cura di M. Abbate *et al.* L'adozione di tale protocollo nasce dall'esigenza di determinare in maniera più agevole l'eventuale presenza della microalga tossica in siti caratterizzati da superfici rocciose ed assenza di macroalghe, nonché dalle oggettive difficoltà di determinare le concentrazioni microalgali in relazione alla tipologia di macroalga epifitata. A partire da luglio fino ad agosto, è stata registrata la presenza di *Ostreopsis ovata* e *Prorocentrum lima*.

Ostreopsis ovata è stata determinata nella stazione Isola Capo Rizzuto nella I quindicina di luglio.

Sui sei siti monitorati della provincia di Vibo Valentia si è rilevata la presenza delle microalghe in tutte le stazioni tranne in quella denominata S. Irene di Briatico. La presenza cospicua di *Ostreopsis ovata* e *Ostreopsis* spp. è stata riscontrata nelle stazioni di Porticciolo, Lido Proserpina e S. Maria di Ricadi tra fine luglio e fine agosto. In provincia di Cosenza non sono state riscontrate microalghe potenzialmente tossiche.

In conclusione è stata confermata la presenza lungo le coste con una percentuale del 56%, in aumento rispetto l'anno scorso con una criticità a Catanzaro e in nessuna zona sono stati segnalati casi di malessere o sofferenza ambientale.

IL DUPLICE EFFETTO DI *OSTREOPSIS OVATA* SU MITILI E RICCI DI MARE: ACCUMULO DI TOSSINE ED ASPETTI PATOLOGICI.

di Adriana Zingone*, Angela Sardo*, Rachele Rossi**, Vittorio Soprano**, Patrizia Ciminiello***, Ernesto Fattorusso*** e Paola Cirino*

*Stazione Zoologica di Ischia – Anthon Dhorn Napoli

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale per il Mezzogiorno

***Chimica delle Sostanze Naturali, Università di Napoli Federico II

Riassunto

L'impatto delle fioriture di *Ostreopsis* sugli animali bentonici è ancora poco noto. È noto che le tossine prodotte vengono accumulate in molluschi bivalvi, cefalopodi ed echinodermi, con valori anche elevati, ad esempio 33.3–97.0 $\mu\text{g pPLT/kg}$ in Grecia e fino a 100-200 $\mu\text{g di ovatossina-a /kg}$ nel Golfo di Napoli (Aligizaki et al. 2008, Fattorusso e Ciminiello, com. pers.). Esperimenti condotti da Rhodes et al. (2002), hanno dimostrato che i molluschi filtrano attivamente le colture algali tossiche e che gli estratti iniettati nei topi producevano morte o cambiamenti nel comportamento, con $\text{LD50} = 0.75 \mu\text{g/kg}$. D'altro canto spesso in mare sono stati riscontrati danni visibili in ricci (ad esempio in Toscana e nelle acque della Nuova Zelanda).

In questo studio sono stati effettuati esperimenti con lo scopo di verificare:

- l'accumulo di tossine nei mitili (*Mytilus galloprovincialis*) e nei ricci (*Paracentrotus lividus*) alimentati con *O. cf. ovata*;
- i danni causati agli animali dall'esposizione a *O. cf. ovata*;
- il tempo di detossificazione in molluschi contaminati da tossine nell'ambiente naturale.

Per quanto riguarda i mitili, sono stati effettuati 6 esperimenti nei quali 10 animali sono stati alimentati con colture di *O. cf. ovata* (10^2 - 10^3 cells ml^{-1}) in 0.5 l, in 3 repliche più il controllo, a 22°C di temperatura per 24 h. I risultati hanno mostrato che i mitili filtravano attivamente e diventavano tossici (test del topo). Tuttavia, quando il rapporto fra le cellule di *Ostreopsis* e il peso dei mitili era più elevato, i tassi di filtrazione si riducevano nettamente (Fig. 1). Inoltre, esponendo i mitili a concentrazioni di circa 2×10^3 cells ml^{-1} per tempi più lunghi, molti animali morivano dopo un giorno (Fig. 2), mentre i sopravvissuti continuavano a filtrare solo per un giorno e mostravano elevata tossicità, misurabile anche in LC/MS (18 - $45 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Figura 1 – Alimentazione di mitili con quantità diverse di *O. cf. ovata* (in alto), tassi di filtrazione (al centro) e tossicità (in basso) in mitili esposti a concentrazioni diverse di *O. cf. ovata* per 24h.

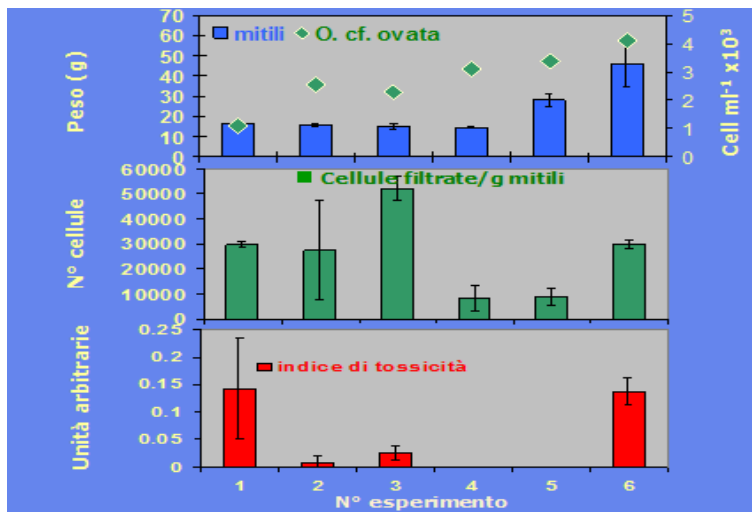
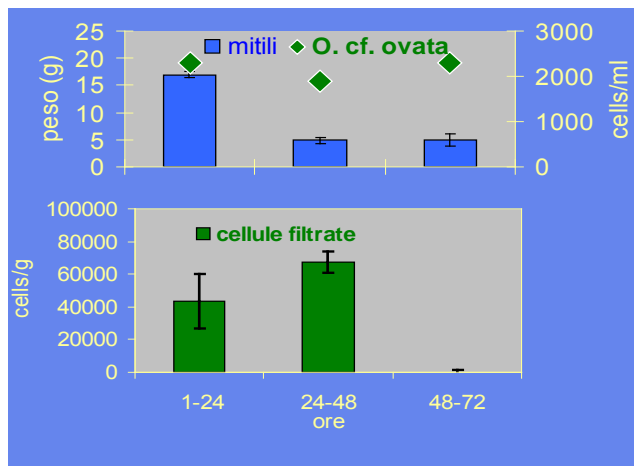


Figura 2 - Tassi di filtrazione in mitili esposti per tre giorni consecutivi a colture di *O. cf. ovata*. Nel pannello in alto, la riduzione dei mitili in seconda giornata era dovuta a mortalità.



In un altro esperimento, mitili tossici prelevati dal Golfo di Napoli durante una fioritura di *O. cf. ovata* sono stati posti in vasche per la detossificazione. La tossicità rimaneva elevata fino al 17° giorno, quando la mortalità dei topi diminuiva e l'ovatossina-a non veniva più rilevata all'analisi LC-MS.

Sono stati poi effettuati 8 esperimenti con 15 ricci in 20 L di acqua di mare, 3 repliche con aerazione a 22°C per 5 giorni, alimentando i ricci con macroalghe (*Asparagopsis taxiformis*) epifitate da *O. cf. ovata*. Si è riscontrato che i ricci

mangiavano le macroalghe epifitate, non mostravano danni e in alcuni casi diventavano tossici.

Per quanto riguarda eventuali danni causati dall'esposizione alla microalga, 4 ricci sono stati posti in beaker contenenti 2 L di coltura di *O. cf. ovata* aerata, a 22°C di temperatura per 5 giorni. Per rappresentare la risposta degli animali, è stato creato un indice di salute:

1= condizioni normali

0,8= spine piegate

0,6= perdita <50% spine

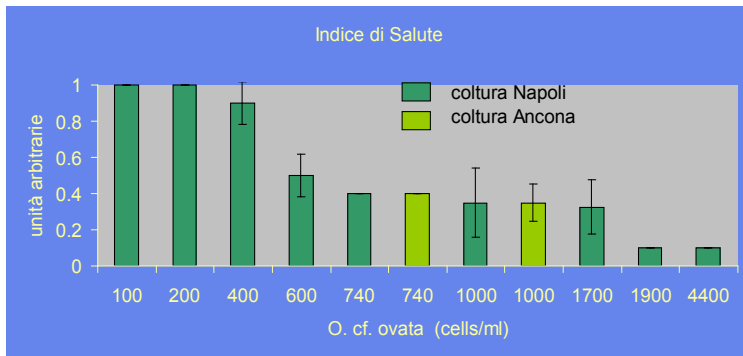
0,4= perdita >50% spine

0,2= morte in 5 giorni

0,1= morte in 4 giorni

Nell'ambito degli esperimenti l'indice ha mostrato una diminuzione all'aumentare della concentrazione della microalga (Fig. 3). I danni non aumentavano se le cellule venivano sonicate per liberare la tossina nel mezzo, e neanche quando si esponevano gli animali a quantità di tossine paragonabili a quelle contenute nelle microalghe.

Figura 3 - Indice di salute in ricci di mare esposti a colture di O. cf. ovata a concentrazioni diverse



In conclusione:

Sia i mitili che i ricci possono accumulare tossine anche con brevi tempi di esposizione a colture di *Ostreopsis cf. ovata*;

L'esposizione prolungata ad alte concentrazioni di *O. cf. ovata* causa danni e morte sia nei mitili che nei ricci;

I danni sembrano non essere imputabili alla presenza della sola tossina disciolta nel mezzo di coltura;

Sono necessarie 2-3 settimane di stabulazione perchè i mitili contaminati ritornino ad essere commestibili

Ringraziamenti

Progetto Regione Campania: "Ostreopsis cf. ovata nelle acque costiere della Campania"

Progetto MATTM-ISPRA: "Ostreopsis cf. ovata e Ostreopsis spp.: nuovi rischi di tossicità".

Bibliografia

K. Aligizaki, P. Katikou, G. Nikolaidis, A. Panou , 2008. First episode of shellfish contamination by palitoxin-like compounds from *Ostreopsis* species (Aegean Sea, Greece). *Toxicon* 51: 418-427.

L. Rhodes, N. Towers, L. Briggs, R. Munday, J. Adamson, 2002. Uptake of palitoxin-like compounds by shellfish fed *Ostreopsis siamesis* (Dinophyceae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 36: 631-636.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE COSTE DELLA REGIONE SICILIA - ANNO 2011

di Benedetto Sirchia e Paola Aiello, ARPA Sicilia

Riassunto

Le indagini sono state effettuate in 42 stazioni (Fig. 1) distribuite lungo i litorali delle 8 province costiere della Sicilia

Figura 1- Stazioni di campionamento



In 18 stazioni delle province di Palermo, Trapani, Agrigento e Catania, già monitorate nell'anno 2010 per la presenza di fioriture, sono stati effettuati, con cadenza mensile nei mesi di giugno e settembre e con cadenza quindicinale nei mesi di luglio e agosto, campionamenti di acqua e macroalghe e misure dei parametri fisico-chimici (Tab. 1). Nelle altre province (Caltanissetta, Ragusa, Siracusa e Messina) in cui nel 2010 o non sono state riscontrate fioriture o non è stata rilevata la presenza di *Ostreopsis* spp., sono stati effettuati, per almeno 1 volta in due mesi consecutivi, campionamenti e misure in 23 nuove stazioni.

Nella località dell'Arenella del litorale Palermitano, tra fine giugno e la prima settimana di luglio, sono stati effettuati 4 campionamenti per malesseri ai bagnanti. Visto che la conferma della identificazione della specie *Ostreopsis ovata* sulla base delle misure cellulari, non è stata effettuata né con l'osservazione in epifluorescenza né con l'analisi genetica, si è scelto di restituire il dato in termini generici, *Ostreopsis* sp. o spp.

Tabella 1 Concentrazioni di *Ostreopsis ovata* in acqua e macroalga

| <i>Provincia</i> | <i>Comune</i> | <i>Stazione</i> | <i>Data</i> | <i>Ostreopsis_sp p_cell_l</i> | <i>Ostreopsis_ spp_cell_g_ fw</i> |
|------------------|------------------------|--|-------------|-----------------------------------|---|
| Trapani | Erice | San Giuliano | 12/07 | 299.440 | 121.799 |
| Trapani | Erice | San Giuliano | 14/07 | 92.150 | 101.531 |
| Trapani | Erice | San Giuliano | 20/07 | 22.320 | - |
| Trapani | Erice | San Giuliano | 27/07 | 12.920 | 47.028 |
| Trapani | Erice | San Giuliano | 03/08 | 48.876 | 74.931 |
| Trapani | Erice | San Giuliano | 10/08 | 52.941 | 3.368 |
| Trapani | S. Vito Lo Capo | Grotta Cavalli | 27/07 | 12.860 | 45.945 |
| Trapani | S. Vito Lo Capo | Grotta Cavalli | 11/08 | 32.458 | 3.668 |
| Palermo | Isola delle Femmine | Isola delle Femmine-Capaci | 05/07 | 44.600 | |
| Palermo | Palermo | Vergine Maria | 16/06 | 427.529 | |
| Palermo | Palermo | Vergine Maria | 27/06 | 32.618 | |
| Palermo | Palermo | Vergine Maria | 05/07 | 65.636 | |
| Palermo | Palermo | Vergine Maria | 22/08 | 258.603 | |
| Palermo | Palermo | Arenella (Spiaggia) | 26/06 | 89.709 | |
| Palermo | Palermo | Arenella (Spiaggia) | 27/06 | 50.036 | |
| Palermo | Palermo | Arenella (Spiaggia) | 30/06 | 21.673 | |
| Palermo | Bagheria | Aspra | 03/08 | 18.400 | |
| Palermo | Bagheria | Aspra | 18/08 | 45.709 | |
| Palermo | Bagheria | Aspra | 25/08 | 55.345 | |
| Palermo | Bagheria | Aspra | 06/09 | 52.327 | |
| Palermo | Bagheria | Aspra | 14/09 | 310.632 | |
| Palermo | Trabia | Tonnara di Trabia | 07/07 | 38.363 | |
| Palermo | Trabia | Tonnara di Trabia | 17/08 | 42.763 | |
| Palermo | Trabia | Tonnara di Trabia | 25/08 | 39.490 | |
| Palermo | Pollina | Finale di Pollina_Costa Turchina | 14/09 | 101.200 | |
| Catania | Acireale | Pozzillo | 25/08 | 13.250 | 935 |
| Catania | Acicastello | Lungomare Scardamiano | 08/07 | 13.850 | 158 x 10 ⁸ |

| | | | | | |
|------------------|-------------------------|------------------------------|--------------|----------------|-------------------|
| <i>Catania</i> | <i>Acicastello</i> | <i>Lungomare Scardamiano</i> | <i>14/07</i> | <i>85.480</i> | <i>1220 x 10°</i> |
| <i>Catania</i> | <i>Acicastello</i> | <i>Lungomare Scardamiano</i> | <i>25/08</i> | <i>224</i> | <i>45.415</i> |
| <i>Catania</i> | <i>Acicastello</i> | <i>Lungomare Scardamiano</i> | <i>08/09</i> | <i>187</i> | <i>27.813</i> |
| <i>SIRACUS A</i> | <i>Augusta</i> | <i>Brucoli</i> | <i>13/07</i> | <i>330</i> | <i>13.500</i> |
| <i>SIRACUS A</i> | <i>Augusta</i> | <i>Brucoli</i> | <i>24/08</i> | <i>Assente</i> | <i>0</i> |
| <i>SIRACUS A</i> | <i>Augusta</i> | <i>Brucoli</i> | <i>08/09</i> | <i>Assente</i> | <i>100</i> |
| <i>Trapani</i> | <i>Mazara del Vallo</i> | <i>Lungomare S.Vito</i> | <i>14/09</i> | <i>131.045</i> | <i>19.440</i> |

- Il superamento di 10.000 cell/l di *Ostreopsis* spp. nella colonna d'acqua ha interessato 10 località balneari delle Province di Trapani, Palermo e Catania;
- Nelle località di Isola delle Femmine - Capaci, Vergine Maria ed Arenella si sono registrati malesseri nella popolazione limitatamente al periodo di fine giugno e primi di luglio;
- Nelle stazioni di Vergine Maria ed Arenella si sono registrati anche valori elevati di nutrienti, questo a conferma della presenza nelle vicinanze di scarichi civili non depurati;
- Il tavolo tecnico Regionale che vede coinvolti Assessorato, ARPA, ASP e Comuni sta cercando di definire un piano di azione più efficace per gestire l'Emergenza, cercando di limitare, con una corretta informazione, anche i danni economici alle attività turistiche balneari di queste località.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE AREE MARINO-COSTIERE PUGLIESI: AGGIORNAMENTO RISULTATI 2011

di Nicola Ungaro, ARPA Puglia

Riassunto

Anche per la stagione estiva 2011 l'ARPA Puglia ha attivato un monitoraggio specifico mirato alla valutazione della distribuzione e dell'abbondanza relativa della microalga potenzialmente tossica *Ostreopsis ovata* lungo le coste regionali pugliesi.

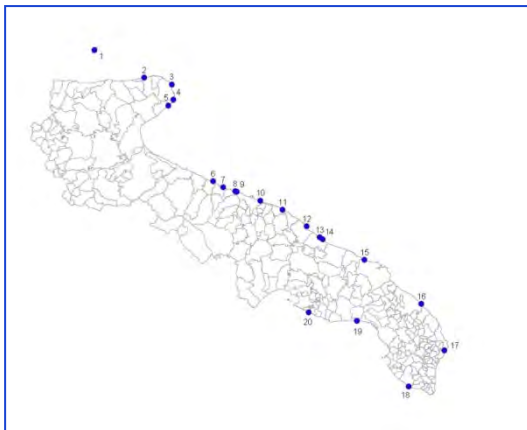
Allo scopo l'Agenzia ha controllato costantemente da giugno a settembre (con frequenza quindicinale) n. 20 siti, distribuiti sull'intero territorio regionale e rappresentativi della tipologia costiera potenzialmente interessata dalla presenza della specie (Fig. 1).

Oltre alle caratteristiche geo-morfologiche (litorali prevalentemente rocciosi), il posizionamento dei punti di prelievo in alcuni casi si è basato su segnalazioni relative agli anni precedenti.

Per questo monitoraggio, il campionamento mirato alla ricerca di *Ostreopsis ovata* è stato effettuato in accordo alla metodica proposta dalla Dr.ssa Marinella Abbate di ENEA-La Spezia (Abbate *et al.*, 2010). In pratica, nei punti selezionati, si sono prelevati dei campioni in acque basse (0.5-1 m di profondità) utilizzando una siringa in plastica da 50 cc con puntale tagliato. La siringa aspirava un quantitativo definito di acqua ad immediato contatto con il fondale (campione "fondo"), mentre un'altra aliquota veniva prelevata in colonna d'acqua (campione "colonna").

La presenza di *Ostreopsis ovata* è stata verificata in laboratorio secondo la metodologia standard (Zingone *et al.*, 1990), e quando presente la specie, si sono stimate le densità cellulari relative (n° cell./l, sia nei campioni "fondo" che nei campioni "colonna d'acqua").

Figura 1 - Punti di campionamento



A differenza del 2010, in cui le fioriture più abbondanti si sono verificate nel mese di Settembre, nel 2011 è stato il mese di Agosto (soprattutto la seconda quindicina) ad evidenziare le maggiori criticità (Fig. 2).

A differenza del biennio 2009-2010 ma analogamente alla stagione estiva 2008, nel mese di agosto 2011 ci sono state molte segnalazioni da parte dei cittadini e turisti circa l'eventuale impatto delle fioriture sulla sanità pubblica, che hanno avuto ampio riscontro

sui media locali e nazionali. In tutti le segnalazioni si faceva riferimento ad aree costiere in cui i campioni raccolti ed analizzati da ARPA Puglia hanno dato esito positivo all'abbondante presenza di *O. ovata*.

Nel 2011 si è inoltre verificato in diversi casi il superamento dei limiti, puntualmente comunicato da ARPA Puglia al Sindaco del Comune interessato dal superamento, alla ASL territorialmente competente e all'Assessorato regionale per le Politiche della Salute.

L'ARPA Puglia ha comunque dato immediata e costante comunicazione al pubblico di tutti i risultati ottenuti durante il corso del 2011, attraverso la pubblicazione di appositi bollettini sul proprio sito web.

Figura 2 - Risultati del monitoraggio 2011 nelle acque marino costiere pugliesi

| | | Giugno | | Luglio | | Agosto | | Settembre | |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 1° Quindicina | 2° Quindicina | 1° Quindicina | 2° Quindicina | 1° Quindicina | 2° Quindicina | 1° Quindicina | 2° Quindicina |
| S.Domino-sotto il ristorante Il Pirata (FG) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.400 | 55.000 | 11.200 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 400 | 1.200 | 120 |
| Ioc. Pietra nera 30 mt dx canale (FG) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| porto di Vieste 100 mt dx (FG) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| spiaggia Pugnochiuso (FG) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 200 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| spiaggia baia delle zagare (FG) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.200 | 0 | 400 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 500 mt sud fagna cilt.na Bisceglie (BAT) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 5.721,167 | 602,697 | 2.300 | 13.920 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 565,463 | 4.890,564 | 400 | 7.400 |
| | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 2.100 | 2.051,268 | 269,433 | 33.840 | 243,633 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 59.400 | 3.120 | 4.840 | 69.376 |
| Molfetta 1° Cala (BA) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.680 | 7.901,575 | 30.080 | 219,633 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 248,122 | 2.920 | 12.960 | 12,960 |
| Hotel Riva del sole (BA) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 300 | 379,657 | 224,161 | 42,640 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 23.440 | 9.800 | 3.280 | 3.280 |
| 200 mt sud lido Lucciola (BA) | Acque fondo | 0 | 0 | 50 | 200 | 289,200 | 279,881 | 87,725 | 115,140 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 160 | 25.920 | 37,034 | 1.760 | 86,576 | 86,576 |
| Lido Trullo (BA) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.600 | 52.400 | 76.120 | 21,760 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.200 | 4.000 | 8.400 | 8.400 |
| ditta IOM-ex Sansolive (BA) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 11.200 | 460,377 | 4.360 | 3.400 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 80 | 520 | 1.280 | 2.160 |
| La Forcatella prima casa bianca (BR) | Acque fondo | 600 | 700 | 1.200 | 300 | 36.000 | 388.000 | 4.700 | 5.200 |
| | Acque colonna | 200 | 160 | 320 | 400 | 26.400 | 2.320 | 2.800 | 2.800 |
| Torre Canne di fronte al faro (BR) | Acque fondo | 400 | 200 | 400 | 100 | 700 | 116.800 | 900 | 80 |
| | Acque colonna | 240 | 0 | 360 | 0 | 280 | 18.720 | 120 | 200 |
| Apani lido S. Vincenzo (BR) | Acque fondo | 440 | 300 | 240 | 0 | 100 | 200 | 700 | 200 |
| | Acque colonna | 390 | 90 | 200 | 120 | 0 | 40 | 40 | 40 |
| San Cataldo-vicino al Faro (LE) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 120 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| porto Badisco-scalo di Enea (LE) | Acque fondo | 0 | 0 | 560 | 6.240 | 163,371 | 195,609 | 58,339 | 17,669 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 1.160 | 750 | 1.720 | 400 | 0 | 0 |
| scarico Itica Ugento a Punta Macolone (LE) | Acque fondo | 0 | 160 | 320 | 40 | 120 | 280 | 0 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 80 | 40 | 40 | 0 | 0 | 0 |
| spiaggia libera Torre Columena (TA) | Acque fondo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Acque colonna | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| stabilimento Bala d'argento (TA) | Acque fondo | 2.000 | 3.200 | 21.600 | 20.200 | 38.400 | 23.600 | 37.600 | 257.350 |
| | Acque colonna | 0 | 160 | 960 | 800 | 2.560 | 2.880 | 1.280 | 9.600 |

Sulla base dei risultati del monitoraggio, sembra plausibile che il maggiore numero di segnalazioni riportate per il 2011 possa essere messo in relazione al periodo in cui si sono concentrate le fioriture più abbondanti, il mese di Agosto, in cui è notoriamente maggiore il turismo balneare, oltre che a situazioni meteo-marine favorevoli alla formazione di aerosol.

Bibliografia

Abbate M., Bordone A., Cerrati G., Peirano A. [2010] - Nuova metodica per il campionamento della microalga ticoplanctonica *Ostreopsis ovata* Fukuyo 1981. RT/2010/7/ENEA ISSN/0393-3016.

Zingone A., Honsell G., Marino D., Montresor M., Socal G. [1990] - Fitoplancton. In: M. Innamorati, D. Marino, I. Ferrari, M. Riberia d'Alcalà (Eds.), Metodi nell'ecologia del plancton marino. *Nova Thalassia*, 11: 183-198.

Ringraziamenti

Si ringraziano tutti gli operatori dei Dipartimenti Provinciali ARPA Puglia per il loro decisivo contributo nelle fasi di campionamento ed analisi.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE COSTE DELLA REGIONE MOLISE – ANNO 2011

di Maria Silvia Bucci, ARPA Molise

Riassunto

La presentazione riporta i risultati del monitoraggio di *Ostreopsis ovata* e di altre microalghe potenzialmente tossiche nell'area marino-costiera del Molise effettuato dall'Agenzia Regionale, Dipartimento di Campobasso. Le indagini sono state condotte in due stazioni già monitorate negli anni precedenti (Lido Cala Sveva e Villaggio Diomedea) caratterizzate da pennelli frangiflutto.

Il monitoraggio ha avuto inizio il 30 giugno per il sito di Termoli; poi entrambe le stazioni sono state indagate nel mese di luglio, seconda quindicina di agosto e prima metà di settembre.

Figura 1 - Stazioni di campionamento



Il campionamento è stato effettuato sia secondo il metodo classico su macroalghe, che tramite quello della “siringa” su roccia

In ciascun sito sono stati effettuati come di consuetudine:

- sopralluoghi in mare con riconoscimento visivo dei segnali che possono preludere alla fioritura algale;
- prelievi di campioni d’acqua, di macroalghe (genere dominante) e prelievi con siringa per la ricerca quali-quantitativa di *Ostreopsis ovata* e delle specie di Dinophyceae appartenenti alla lista delle specie potenzialmente tossiche;
- prelievi di campioni d’acqua per analisi chimiche di supporto;

- misure in situ di Temperatura dell'aria, dell'acqua e dell'Ossigeno Disciolto; annotazione di dati meteo marini.

Risultati:

- Le analisi quali-quantitative al microscopio rovesciato, effettuate sulle tre matrici indagate (acqua, acqua di lavaggio macroalghe e acqua meteorica della "siringa"), non hanno evidenziato la presenza di *Ostreopsis ovata* o di alcuna delle microalghe potenzialmente tossiche;
- le variazioni tassonomiche della popolazione fitobentonica, osservate nell'applicazione dei due metodi, a differenza del precedente anno, sono risultate di minore entità; nei campioni derivati dal prelievo con la siringa è risultata frequente la presenza di cianoficee
- Le analisi chimiche a supporto del monitoraggio biologico non hanno messo in evidenza nessun parametro il cui valore si discostasse dall'atteso;

L'applicazione di questo monitoraggio ha permesso, inoltre, di osservare che, nonostante la relativa vicinanza dei due siti, e la tipologia strutturale abiotica abbastanza simile, le due stazioni hanno una certa biodiversità, seppur contenuta, nella composizione delle comunità macroalgali

Conclusioni

Il dato importante di questo monitoraggio è stato quello di non aver nessun "dato" da valutare in linea con quanto riscontrato lungo la costa abruzzese. Un risultato positivo è stato quello di constatare come l'opinione pubblica mostri un interesse sempre maggiore per le tematiche ambientali. Infatti frequentemente, durante i sopralluoghi, si creano condizioni di dialogo con i bagnanti che permettono di divulgare piccole "pillole" informative ambientali.

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE COSTE DELLA REGIONE MARCHE AGGIORNAMENTO 2011

di Manuela Ercolessi e Anna Lisa Grucci, ARPA Marche

Riassunto

Nel 2011 è stata svolta da parte dell'ARPAM l'attività di monitoraggio marino, per la sorveglianza dell'alga tossica *Ostreopsis ovata*, secondo le indicazioni contenute nei Protocolli operativi sulla linea di attività "Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* lungo le coste italiane" (APAT, 2007) e le Linee guida "Gestione del rischio associato alle fioriture di *Ostreopsis ovata* nelle coste italiane" del Ministero della Salute.

Il monitoraggio è stato effettuato da Giugno fino alla fine di Settembre, nei siti di campionamento (Tab. 1, Figg. 1 e 2) previsti sono state effettuate misurazioni dei parametri chimico-fisici delle acque nonché la temperatura dell'aria e la direzione ed intensità del vento e del moto ondoso; i sopralluoghi ed i prelievi sono stati effettuati prevalentemente nei primi metri di spiaggia sommersa, o comunque dove l'esperienza ha dimostrato la maggiore crescita di questa microalga, prevalentemente in corrispondenza di ambienti costieri costituiti da fondali duri naturali. Sono stati effettuati 69 campionamenti di acqua, prelevata in prossimità del substrato, ove sono presenti le macroalghe e/o altri organismi bentonici.

Nella tabella 1 si riporta il posizionamento delle stazioni di campionamento e di misura della matrice acqua, mentre nella tabella 3 i parametri idrologici da rilevare in ogni singola stazione.

Tabella 1- Coordinate geografiche e caratteristiche batimetriche delle stazioni della rete di monitoraggio (la Latitudine e la Longitudine sono espresse in gradi, primi, secondi).

| Stazioni | Località | Provincia | Lat. (N) gg.pp.ss. | Long. (E) gg.pp.ss. | Distanza. costa m | Prof. metri |
|----------|---------------------------|-----------|-----------------------|------------------------|----------------------|----------------|
| 1 | Pesaro - San Bartolo | PU | 43.55.30 | 12.53.20 | 5 | 1.5 |
| 2 | Falconara M. Foce Esino | AN | 43.38.42 | 13.22.08 | 15 | 1.5 |
| 3 | Ancona Passetto | AN | 43.37.00 | 13.32.04 | 10 | 8.5 |
| 4 | Portonovo Fortino | AN | 43.33.56 | 13.35.31 | 15 | 2.5 |
| 5 | Portonovo Giacchetti | AN | 43.33.42 | 13.36.04 | 10 | 2 |
| 6 | Sirolo | AN | 43.31.26 | 13.37.26 | 15 | 2 |
| 7 | Numana Hotel Fior di Mare | AN | 43.30.44 | 13.37.31 | 10 | 1.5 |
| 8 | Portorecanati Fiumarella | MC | 43.26.25 | 13.39.42 | 5 | 1.5 |
| 9 | Pedaso Enel | AP | 43.05.16 | 13.50.49 | 5 | 1.5 |

Fig. 1 - Esempi di litorale protetto da opere costiere dove sono state effettuati i campionamenti nella Provincia di Ancona (da sinistra: Passetto, Sirolo, Numana).



Fig. 2- Punti di Campionamento



A differenza degli anni precedenti in cui l'alga evidenziava una distribuzione preferenziale lungo il litorale Sud delle Marche, nel 2011 (Tab.2) *Ostreopsis* è risultata assente in tutte le stazioni a Sud del Conero, ed ha evidenziato dei picchi di densità nella stazione Passetto di Ancona a partire dalla seconda metà del mese di Agosto, in corrispondenza ad un innalzamento delle temperature dell'acqua. La concentrazione sopra il livello di allerta è sfociata poi in una significativa fioritura a fine Agosto, innescando una fase di allarme seguita dalla chiusura della balneazione nel

tratto di litorale interessato dal fenomeno. La proliferazione algale arrivata al culmine il 26 Agosto raggiungendo un picco di 4.300.000 cellule/L, è andata poi scemando fino ad una concentrazione intorno a circa 980.000 cellule/L a Settembre. Nel mese di settembre 2011 *Ostreopsis ovata* è stata rinvenuta anche lungo la costa antistante la provincia di Pesaro in prossimità del Monte San Bartolo. Nelle province di Macerata ed Ascoli Piceno *Ostreopsis* non è mai stata riscontrata nei campionamenti effettuati.

ARPAM ha sempre divulgato al pubblico i fenomeni di fioritura, tramite rete informatica, attraverso la pubblicazione giornaliera sul sito web www.arpa.marche.it di bollettini recanti gli esiti analitici dei campionamenti effettuati allo scopo di sorveglianza del fenomeno.

E' stata inoltre attivata a partire dall'anno 2010, una rete di comunicazione tra ARPAM e Pronto soccorso degli Ospedali Riuniti di Ancona (Umberto I, G.M. Lancisi e G. Salesi) che ha dato inizio ad un rapporto di informazione diretta con l' ARPAM per quanto riguarda la segnalazione di casi clinici riconducibili all'alga tossica: nonostante ciò nel 2011 non sono pervenute nessun tipo di segnalazioni.

Tabella 2- Risultati del monitoraggio di *O. ovata* 2011 nella provincia di Ancona e Pesaro.

| Stazione di campionamento | Date | T (°C) Aria | T (°C) Acqua | <i>O. ovata</i> (Cell./l) | <i>O. ovata</i> (Cell./gr) | Ossigeno disciolto(% saturazione) | pH | Salinità (psu) | Clorofilla 'a' (µg/l) |
|---------------------------|--------|-------------|--------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------------|------|----------------|-----------------------|
| Ancona Passetto | 08-giu | 23,0 | 22,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,50 | 35,00 | 0,4 |
| | 16-giu | 26,0 | 23,0 | 0 | 0 | 105,00 | 8,30 | 34,90 | 0,4 |
| | 07-lug | 25,0 | 24,0 | 0 | 0 | 96,00 | 8,35 | 35,00 | 0,3 |
| | 19-lug | 24,0 | 25,0 | 0 | 0 | 101,00 | 8,21 | 35,40 | 0,8 |
| | 03-ago | 26,0 | 26,0 | 0 | 0 | 101,00 | 8,45 | 35,00 | 0,3 |
| | 19-ago | 28,0 | 26,0 | 115000 | 7640 | 98,00 | 8,45 | 35,50 | 0,6 |
| | 22-ago | 28,0 | 27,0 | 1550000 | 56460 | 93,00 | 8,48 | 35,00 | 1,0 |
| | 24-ago | 28,0 | 26,6 | 1900000 | 79351 | 96,00 | 8,31 | 35,50 | 0,4 |
| | 26-ago | 28,0 | 27,0 | 4300040 | 57301 | 92,00 | 8,14 | 36,70 | 0,6 |
| | 29-ago | 26,0 | 26,5 | 2674000 | 96021 | 91,00 | 8,20 | 36,00 | 0,5 |
| | 02-set | 29,0 | 26,5 | 980000 | 130000 | 94,00 | 8,20 | 36,00 | 0,6 |
| | 07-set | 25,0 | 27,0 | 287500 | 61053 | 102,00 | 8,15 | 34,80 | 1,8 |
| | 28-set | 24,0 | 24,0 | 4040 | 128 | 92,00 | 8,18 | 35,40 | 0,5 |
| Portonovo Emilia | 08-giu | 23,0 | 22,5 | 0 | 0 | 98,00 | 8,45 | 35,00 | 0,3 |
| | 16-giu | 26,0 | 23,0 | 0 | 0 | 108,00 | 8,35 | 35,20 | 0,5 |
| | 07-lug | 26,0 | 24,0 | 0 | 0 | 98,00 | 8,45 | 35,50 | 0,5 |
| | 19-lug | 26,0 | 25,0 | 0 | 0 | 100,00 | 8,18 | 35,00 | 0,9 |
| | 03-ago | 26,0 | 26,0 | 0 | 0 | 98,00 | 8,50 | 34,50 | 0,6 |
| | 18-ago | 28,0 | 26,0 | 0 | 0 | 98,00 | 8,45 | 34,50 | 0,3 |
| | 19-ago | 28,0 | 26,0 | 0 | 0 | 99,00 | 8,50 | 35,00 | 0,8 |
| | 22-ago | 28,0 | 27,0 | 0 | 0 | 105,00 | 8,46 | 35,00 | 1,2 |
| | 24-ago | 28,0 | 26,6 | 0 | 0 | 98,00 | 8,28 | 35,30 | 0,5 |
| | 26-ago | 28,0 | 26,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,21 | 36,50 | 0,3 |
| | 29-ago | 26,0 | 26,5 | 0 | 0 | 95,00 | 8,18 | 36,50 | 0,5 |
| | 02-set | 27,0 | 26,0 | 0 | 0 | 94,00 | 8,19 | 35,50 | 0,5 |
| | 28-set | 24,0 | 24,0 | 6520 | 55 | 95,00 | 8,15 | 35,90 | 0,9 |
| Portonovo Giacchetti | 19-ago | 28,0 | 26,0 | 0 | 0 | 101,00 | 8,45 | 35,00 | 0,6 |
| | 24-ago | 28,0 | 26,6 | 0 | 0 | 95,00 | 8,25 | 35,40 | 0,5 |
| Sirolo Bagni Peppe | 19-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 102,00 | 8,46 | 35,00 | 0,6 |
| | 24-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 94,00 | 8,31 | 35,60 | 0,6 |
| Sirolo Nord camping | 19-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 100,00 | 8,45 | 35,00 | 0,5 |
| | 24-ago | 29,0 | 25,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,34 | 35,30 | 0,3 |
| Sirolo | 19-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 101,00 | 8,45 | 35,00 | 0,5 |

| Stazione di campionamento | Date | T (°C) Aria | T (°C) Acqua | <i>O. ovata</i> (Cell./l) | <i>O. ovata</i> (Cell./gr) | Ossigeno disciolto(% saturazione) | pH | Salinità (psu) | Clorofilla 'a' (µg/l) |
|---------------------------|--------|-------------|--------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------------|------|----------------|-----------------------|
| Villa Bianchelli | 24-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,29 | 35,50 | 0,6 |
| Numana Hotel Fior di Mare | 19-ago | 29,0 | 26,5 | 0 | 0 | 99,00 | 8,50 | 35,00 | 0,6 |
| | 22-ago | 28,0 | 27,0 | 0 | 0 | 98,00 | 8,49 | 35,00 | 1,0 |
| | 24-ago | 30,0 | 26,5 | 0 | 0 | 94,00 | 8,30 | 35,60 | 0,5 |
| | 26-ago | 29,0 | 27,0 | 0 | 0 | 94,00 | 8,10 | 36,50 | 0,4 |
| | 29-ago | 27,0 | 26,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,10 | 36,00 | 0,3 |
| | 02-set | 28,0 | 26,5 | 0 | 0 | 96,00 | 8,20 | 36,00 | 0,4 |

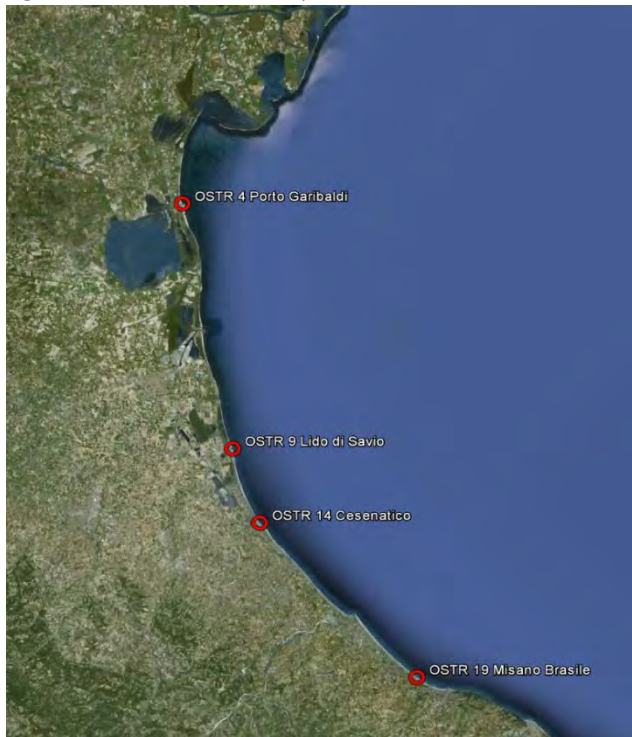
MONITORAGGIO FINALIZZATO AL CONTROLLO DELLA MICROALGHE EPIFITICHE TOSSICHE SU SUBSTRATI DURI ARTIFICIALI LUNGO LA FASCIA COSTIERA DELL'EMILIA ROMAGNA (GIUGNO-SETTEMBRE 2011)

di Cristina Mazziotti e Claudio Silvestri - ARPA Emilia Romagna - Struttura Oceanografica Daphne

Riassunto

La Regione Emilia-Romagna finanzia il progetto annuale sulla Rete di monitoraggio microalghe epifitiche tossiche. Il monitoraggio che si svolge da giugno a settembre viene effettuato in stazioni rappresentative di un'area più vasta che corrispondono alle stazioni della rete di monitoraggio sullo stato qualitativo dell'ecosistema costiero previste dalla normativa e attuate da ARPA, Struttura Oceanografica Daphne. I prelievi avvengono in corrispondenza di pennelli (Stazioni OSTR9-Lido di Savio, OSTR14-Cesenatico) o barriere frangiflutto (Stazioni OSTR4-Porto Garibaldi, OSTR19-Misano) [Figg.1 e 2]

Figure 1-2 - Stazioni di campionamento





Il monitoraggio prevede un campionamento quindicinale per un totale di 96 campioni di cui 32 sono di acqua superficiale in vicinanza delle macroalghie presenti e 32 di retinata di micro fitoplancton, oltre al prelievo delle macroalghie adese su substrati duri. In assenza di macroalghie (13/06/2011 Porto Garibaldi e Lido di Savio) sono stati prelevati mitili adesi alla barriera frangiflutti. In situ sono stati rilevati i parametri chimico-fisici dell'acqua (temperatura, ossigeno disciolto, salinità, clorofilla "a") ed effettuate le rilevazioni delle condizioni meteo-marine (WMO) quali: copertura del cielo, direzione e velocità del vento, altezza onda e temperatura dell'aria. A supporto vengono utilizzati anche i profili verticali della sonda multiparametrica rilevati dalla motonave DAPHNE II in fase di monitoraggio.

La rilevazione delle condizioni meteo marine, dei parametri chimico-fisici e dello stato trofico è importante qualora si dovesse manifestare un bloom di microfitobenthos tossico, al fine di avere elementi di analisi per individuare fattori causali ed effetti ambientali. In laboratorio i campioni di acqua vengono sottoposti immediatamente ad analisi microscopica al fine di comunicare agli organi istituzionali di riferimento l'eventuale presenza di microfitobenthos tossico (in particolare *Ostreopsis* spp.) entro 24 ore dal prelievo.

Dai risultati ottenuti durante il monitoraggio si può affermare che, anche per quest'anno, le indagini atte ad individuare la presenza di microfitobenthos tossico (*Ostreopsis* spp. e *Coolia monotis*) nelle quattro aree della costa emiliano-romagnola, non hanno messo in evidenza la presenza di *Ostreopsis* spp. e *C. monotis* né in sospensione né sui substrati analizzati (macroalghie o mitili).

MONITORAGGIO DI *OSTREOPSIS OVATA* LUNGO LE COSTE DELLA PROVINCIA DI SASSARI NELL'ESTATE 2011

di Marisa Mameli, Valeria Manca, Cristina Russu ARPA Sardegna

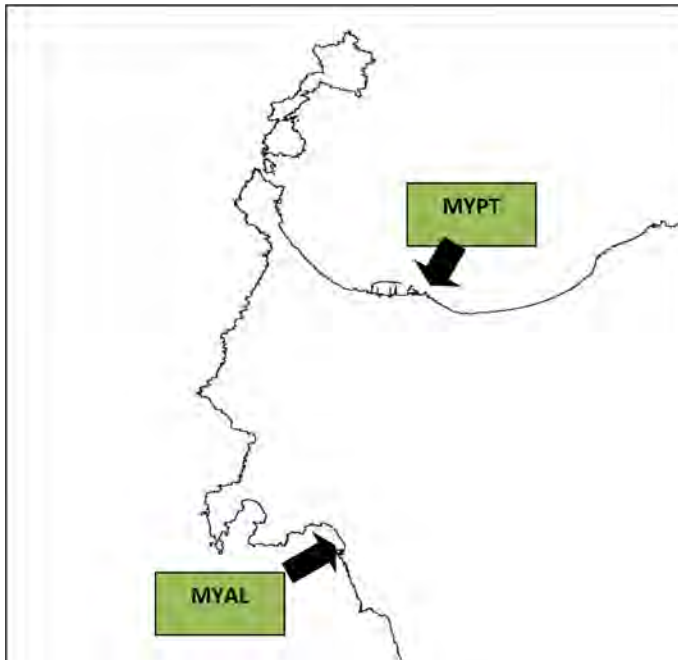
Riassunto

Nel corso della stagione balneare 2011 il Dipartimento Provinciale di Sassari ha attivato un piano di monitoraggio di *O. ovata* in ottemperanza all'art. 3 del Decreto Ministero della Salute 30/03/2010 attuativo del D.Lgs.116/2008.

Sono stati individuati due siti di prelievo scelti tra quelli nei quali sussisteva un ragionevole sospetto di proliferazione della microalga essendosi questa già manifestata, negli anni passati, in quantità rilevante.

Lo studio ha riguardato un punto di campionamento ricadente nel Comune di Alghero, Las Tronas - MYAL già indagato nella stagione estiva 2009 ed interessato, nel medesimo periodo, da fioriture algali della specie *O. ovata* ed uno nuovo, denominato Acque dolci - MYPT, nel Comune di P. Torres, con caratteristiche favorevoli all'eventuale sviluppo di *O. ovata* la cui presenza era stata segnalata nella zona dal 2007 (Fig. 1).

Figura 1 - Stazioni di campionamento



La campagna di monitoraggio ha interessato parte della stagione balneare, nel periodo compreso tra Giugno ed Agosto, con prelievi a cadenza quindicinale del substrato macroalgale e della colonna d'acqua.

I prelievi della matrice acqua sono stati destinati sia all'analisi quali-quantitativa della componente microalgale ticoplanctonica (*Ostreopsis ovata*, *Coolia monotis*, *Prorocentrum lima* e delle altre specie appartenenti all'elenco di priorità definito del M.A.T.T.M.) sia alla determinazione quantitativa dei principali nutrienti (azoto totale, nitriti, nitrati, ammoniaca, fosforo totale e silicati).

Le osservazioni ed il conteggio delle microalghe sono stati effettuati con metodo Uthermol sul materiale fissato con Lugol, mentre i parametri chimici sono stati determinati utilizzando i metodi ufficiali del manuale ICRAM.

Durante ciascun campionamento sono stati registrati i parametri chimico-fisici pH, salinità e ossigeno disciolto ed i dati meteo-marini temperatura dell'aria, temperatura dell'acqua, direzione e intensità del vento, copertura del cielo, irraggiamento solare, stato del mare.

Per il sito Acque dolci (MYPT) la zona di prelievo è stata individuata all'interno di un tratto di costa roccioso a ridosso di un dente artificiale a WSW che la ripara dai venti di ponente e libeccio e di un promontorio roccioso a NE (Balai) che la protegge invece dai venti di grecale. Il sito si trova inoltre al centro del tratto di costa compreso tra due spiagge facilmente accessibili e perciò frequentate principalmente da famiglie.

Il primo campionamento svolto è risultato l'unico in cui non è stata rilevata la presenza della microalga potenzialmente tossica *Ostreopsis ovata*, relativamente al campione della colonna d'acqua, mentre sia *Coolia monotis* sia la stessa *Ostreopsis ovata* sono sempre state rilevate nella matrice macroalgale (Tabb. 1-2).

Tabella 1 - Valori microalghe tossiche 2011 in colonna d'acqua

| <i>Ordinario / Extra</i> | <i>Data</i> | <i>C. monotis</i> | <i>O. ovata</i> | <i>P. lima</i> | <i>t. acqua [°C]</i> | <i>t. aria [°C]</i> |
|--------------------------|--------------|-------------------|-----------------|----------------|----------------------|---------------------|
| <i>ordinario</i> | <i>09/06</i> | <111 | <111 | 111 | 22,6 | 21,0 |
| <i>ordinario</i> | <i>23/06</i> | <111 | 111 | <111 | 25,5 | 25,0 |
| <i>ordinario</i> | <i>07/07</i> | 2.700 | 50.000 | 1.400 | 24,5 | 26,0 |
| <i>I extra</i> | <i>08/07</i> | 1.667 | 45.000 | <111 | 25,7 | 27,0 |
| <i>II extra</i> | <i>11/07</i> | 333 | 21.000 | <111 | 26,5 | 28,0 |
| <i>III extra</i> | <i>15/07</i> | <111 | 2.000 | <111 | 24,7 | 29,1 |
| <i>ordinario</i> | <i>21/07</i> | 1.000 | 2.000 | <100 | 24,0 | 23,0 |
| <i>ordinario</i> | <i>04/08</i> | 667 | 8.000 | 333 | 26,7 | 28,0 |
| <i>ordinario</i> | <i>18/08</i> | <100 | 1.000 | <100 | 26,1 | 27,0 |

Tabella 2 - Valori microalghe tossiche 2011 su macroalga

| Ordinario /Extra | Data | <i>C. monotis</i> | <i>O. ovata</i> | <i>P. lima</i> | t. acqua (°C) | t. aria (°C) |
|------------------|-------|-------------------|-----------------|----------------|---------------|--------------|
| ordinario | 09/06 | 881 | 174 | 1.079 | 22,6 | 21,0 |
| ordinario | 23/06 | 754 | 8.541 | 2.281 | 25,5 | 25,0 |
| ordinario | 07/07 | 51.873 | 480.307 | 4.803 | 24,5 | 26,0 |
| I extra | 08/07 | / | / | / | 25,7 | 27,0 |
| II extra | 11/07 | / | / | / | 26,5 | 28,0 |
| III extra | 15/07 | / | / | / | 24,7 | 29,1 |
| ordinario | 21/07 | 410 | 1.297 | 297 | 24,0 | 23,0 |
| ordinario | 04/08 | 405 | 47.041 | 453 | 26,7 | 28,0 |
| ordinario | 18/08 | 921 | 7.346 | 1.930 | 26,1 | 27,0 |

Nel corso del primo campionamento ordinario del mese di luglio (Fig. 2), all'atto del prelievo, sono state rilevate le caratteristiche macroscopicamente visibili di una fioritura di *Ostreopsis ovata*, ovvero la presenza di un pellet galleggiante marroncino e schiumoso con sofferenza della comunità macroalgale, in particolar modo della specie *Dictyota dichotoma*.

Le analisi hanno rilevato un fenomeno di fioritura in atto con concentrazioni di circa 480.300 cellule/g peso fresco substrato nella matrice macroalgale e 50.000 cellule/l nella colonna d'acqua.

A seguito di tali rilievi è stata messa in atto la procedura descritta dal D.M. 30 marzo 2010 in merito alla "Fase di emergenza" (Allegato C), prevista a seguito del superamento del valore soglia stabilito a 10.000 cellule/litro .

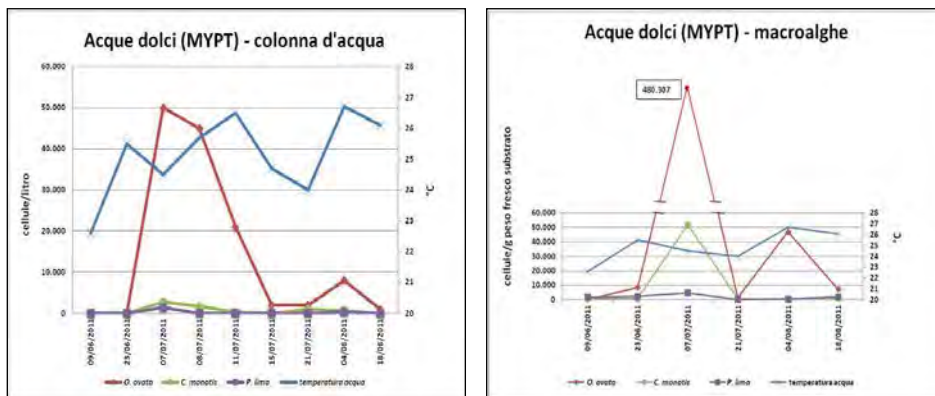
Le concentrazioni di *O. ovata* si sono mantenute al di sopra del valore soglia per circa una settimana per poi diminuire di un ordine di grandezza, passando da 20.000 cell/l a 2.000 cell/l dal prelievo del 11 luglio a quello del 15 luglio.

Nelle stazioni suppletive, "Scoglio lungo" e "Balai", non è mai stato superato il limite di 10.000 cell/l nella colonna d'acqua. Il picco massimo, pari a 5.000 cell/l, è stato raggiunto nella stazione "Scoglio lungo" l' 8 luglio.

Già a partire dal prelievo successivo, effettuato in data 11 luglio, non è stata rilevata la presenza di *O. ovata* nei campioni analizzati relativi ad entrambe le stazioni.

Nel corso del resto della campagna non sono stati registrati altri superamenti del valore soglia ma si segnala, in relazione al prelievo del 4 agosto, un valore di *O. ovata* pari a 8.000 cellule/litro in colonna in coincidenza con un aumento della temperatura dell'acqua arrivata a quasi 27 °C.

Figura 2 – Andamento concentrazioni algali colonna d'acqua e macroalghe stazione di prelievo "Acque dolci" - MYPT



Le densità di *O. ovata*, rilevate nelle due differenti matrici (Fig.2), sono risultate simili nel tempo con valori circa 10 volte superiori, nelle macroalghe rispetto a quelli in colonna d'acqua, in corrispondenza dell'episodio di fioritura. Mancano purtroppo i dati relativi alla matrice macroalgale nei prelievi extra ovvero quando si ipotizza un sostanziale rilascio di microalghe in colonna a seguito del fenomeno di proliferazione in atto.

La stazione del secondo sito, Las Tronas (MYAL), è situata all'interno di una piccola insenatura naturale a fondale prevalentemente roccioso, parzialmente ricoperto da macroalghe con rocce affioranti, localizzata tra due stazioni di campionamento per il controllo della qualità delle acque di balneazione (Via Carducci ed El trò). Questo tratto di costa è interessato da venti prevalenti del III e IV quadrante e da numerose mareggiate con onde che sono le più alte tra quelle statisticamente registrate in Italia dal sistema ondometrico nazionale.

Nel primo mese di campionamento (Tabb. 3-4) la presenza di *Ostreopsis ovata* è stata registrata solo sulle macroalghe, con valori minimi nella prima quindicina del mese e modesti nella seconda, in concomitanza con l'incremento termico dell'aria e dell'acqua. Nel periodo successivo [7 luglio], sempre nella matrice macroalgale, sono state rilevate le concentrazioni di *O. ovata*, *C. monotis* e di *P.lima* più alte di tutta la campagna di monitoraggio (rispettivamente circa 53.000 - 9.000 - 4.800 cellule/g peso fresco di substrato), mentre nella colonna d'acqua la loro concentrazione appariva ancora contenuta per *O. ovata*, minima per *C. monotis* e sotto il limite di rilevabilità per *P. lima*.

Tabella 3 – Abbondanza microalghe bentoniche in colonna d'acqua stazione di prelievo "Las Tronas" – MYAL

| <i>Ordinario / Extra</i> | <i>Data</i> | <i>C. monotis</i> | <i>O. ovata</i> | <i>P. lima</i> | <i>t. acqua [°C]</i> | <i>t. aria [°C]</i> |
|------------------------------|-------------|-------------------|-----------------|----------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>ordinario</i> | 09/06 | < 111 | < 111 | < 111 | 20,4 | 21,0 |
| <i>ordinario</i> | 23/06 | 222 | < 111 | 111 | 22,7 | 26,0 |
| <i>ordinario</i> | 07/07 | 222 | 2.000 | < 111 | 24,6 | 24,0 |
| <i>ordinario</i> | 21/07 | 1.700 | 9.000 | 100 | 21,2 | 22,0 |
| <i>extra</i> | 25/07 | 1.000 | 4.000 | 1.000 | 18,9 | 23,0 |
| <i>ordinario</i> | 04/08 | 6.000 | 13.000 | 333 | 26,0 | 26,0 |
| <i>extra</i> | 08/08 | 1.000 | 1.333 | < 333 | 28,2 | 27,5 |
| <i>ordinario</i> | 18/08 | 1.000 | 2.000 | < 333 | 27,0 | 27,0 |

Tabella 4 – Abbondanza microalghe bentoniche macroalghe stazione di prelievo "Las Tronas" – MYAL

| <i>Ordinario / Extra</i> | <i>Data</i> | <i>C. monotis</i> | <i>O. ovata</i> | <i>P. lima</i> | <i>t. acqua [°C]</i> | <i>t. aria [°C]</i> |
|------------------------------|-------------|-------------------|-----------------|----------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>ordinario</i> | 09/06 | 168 | 15 | 336 | 20,4 | 21,0 |
| <i>ordinario</i> | 23/06 | 6.507 | 3.767 | 4.521 | 22,7 | 26,0 |
| <i>ordinario</i> | 07/07 | 9.088 | 52.859 | 4.843 | 24,6 | 24,0 |
| <i>ordinario</i> | 21/07 | 3.235 | 1.627 | 559 | 21,2 | 22,0 |
| <i>extra</i> | 25/07 | n.d. | n.d. | n.d. | 18,9 | 23,0 |
| <i>ordinario</i> | 04/08 | 2.535 | 1.166 | 1.352 | 26,0 | 26,0 |
| <i>extra</i> | 08/08 | n.d. | n.d. | n.d. | 28,2 | 27,5 |
| <i>ordinario</i> | 18/08 | 1.090 | < 9 | 2.117 | 27,0 | 27,0 |

Nella seconda parte del mese di luglio è stata rilevata una diminuzione della concentrazione di *O. ovata* sulla macroalga ed un primo valore significativo di concentrazione della specie su colonna d'acqua (9.000 cellule/litro).

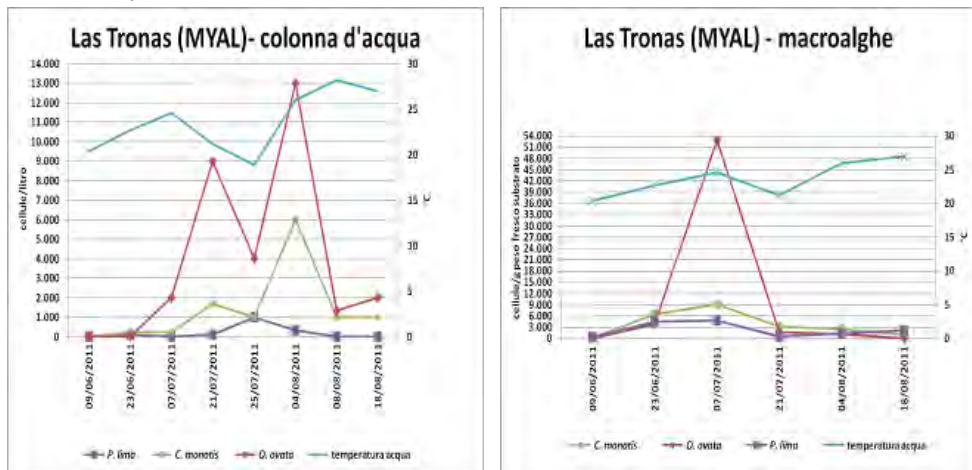
In virtù di questo risultato è stato quindi ritenuto opportuno campionare a distanza di pochi giorni per verificare l'andamento del fenomeno in atto così come previsto dalla "Fase di Attenzione" descritta nel D.M. 30 marzo 2010 (Allegato C).

Dall'analisi del campione di colonna del 25 luglio, in accordo con il repentino abbassamento della temperatura il fenomeno è risultato essere in regressione (4.000 cellule/litro).

A distanza di dieci giorni, il ripristinarsi dell'alta pressione atmosferica ha nuovamente favorito, in colonna d'acqua, lo sviluppo di *O. ovata* (13.000 cellule/litro), le cui concentrazioni hanno raggiunto il valore più alto dell'intera stagione balneare. Le densità della medesima specie, sul substrato macroalgale, rimanevano invece contenute. Nei prelievi straordinari i valori di *O. ovata* rilevati, nonostante il permanere delle alte temperature, sono risultati contenuti. Negli ultimi campioni la concentrazione della specie algale è rimasta contenuta nella colonna d'acqua e addirittura sotto il limite di rilevabilità nelle macroalghe, sebbene permanesse la condizione di alta temperatura dell'acqua e dell'aria.

Dal confronto dell'andamento di *O. ovata* nelle due matrici analizzate (Fig. 3) si desume uno sfasamento temporale tra il picco di concentrazione sulla macroalga ed il presentarsi del fenomeno nella colonna d'acqua. Questo potrebbe avvalorare l'ipotesi che il raggiungimento di alte concentrazioni in colonna sia strettamente correlato al rilascio delle cellule di *O. ovata*, appartenenti alla comunità epifittica, adese alle macroalghe.

Figura 3 - Andamento delle concentrazioni algali in colonna d'acqua e macroalga, stazione di prelievo "Las tronas" - MYAL



La ricerca di *Ostreopsis ovata* è stata accompagnata dall'analisi dei nutrienti condotta sui campioni della colonna d'acqua. Dall'analisi di quest'ultimi nelle tre giornate interessate dagli aumenti più significativi della concentrazione dell'alga, è emerso che il ripetersi del fenomeno nel tempo non è ascrivibile ad una particolare combinazione dei nutrienti.

La campagna relativa all'estate 2011 ha mostrato il superamento del valore soglia di 10.000 cellule/litro in entrambe le stazioni sottoposte a monitoraggio.

Le concentrazioni massime sono sempre state rilevate in giornate caratterizzate da scarso idrodinamismo, ma con temperature di aria e acqua decisamente differenti nei due siti. Nella stazione MYPT le densità massime sono relative a giornate con temperature di aria e acqua rispettivamente di 26 °C e 24°C contro i 22 °C dell'aria e i 21,2 °C dell'acqua nel punto di prelievo MYAL.

In relazione agli episodi di proliferazione di *O. ovata*, sono stati rilevati sul campo fenomeni di sofferenza della comunità biotica solo nella stazione MYPT, nella quale è stata accertata la presenza di biotossine algali nel corso dell'episodio di fioritura.

Le indagini svolte sono dunque servite a monitorare i fenomeni di proliferazione permettendo di tenere il fenomeno sotto controllo nella sua evoluzione spaziale e temporale. Non è stato però possibile stabilire se tali eventi abbiano determinato episodi di malessere nei frequentatori dei siti monitorati in quanto non è stata istituita, per la stagione balneare trascorsa, una struttura di coordinamento e gestione del rischio.

Per quanto riguarda la stagione balneare 2012, sarà aggiunta una nuova stazione di monitoraggio sita nel territorio di Castelsardo, anch'essa a ridosso di opere di protezione dall'erosione costiera e caratterizzata dunque da ridotto idrodinamismo. Inoltre verrà inserito un test di tossicità sulla matrice acqua (es. *Vibrio fischeri*) nel profilo analitico. Infine sarà proposta l'attivazione di un coordinamento tra ARPAS e strutture sanitarie locali al fine di verificare tempestivamente la presenza nei bagnanti di malesseri riconducibili alla sintomatologia descritta in bibliografia.

DETERMINAZIONE STRUTTURALE DELL'OVATOSSINA-A MEDIANTE STUDI NMR E LC- MS/MS AD ALTA RISOLUZIONE

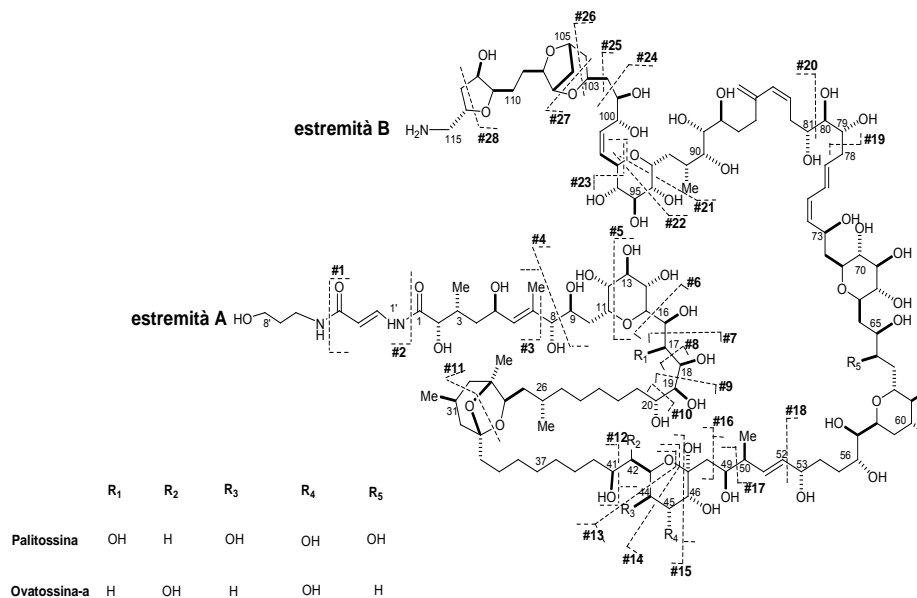
di Patrizia Ciminiello, Carmela Dell'Aversano, Ernesto Fattorusso, Martino Forino, Luciana Tartaglione - Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli

Riassunto

Dal 2005 il dinoflagellato bentonico *Ostreopsis cf. ovata* ha iniziato a proliferare in tutto il bacino del Mediterraneo provocando talvolta episodi di tossicità. Studi di cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS) hanno permesso di individuare nella palitossina, una delle più potenti tossine ad oggi note, e nei suoi analoghi le ovatossine, le tossine prodotte da *O. cf. ovata* e verosimilmente responsabili delle intossicazioni umane (Ciminiello et al. 2006, 2010). L'obiettivo del presente lavoro è stato approfondire l'indagine chimica sull'ovatossina-a, il componente principale del profilo tossico di *O. cf. ovata*. A tale scopo ci siamo avvalsi di: i) tecniche LC-MS ad alta risoluzione e ii) tecniche di risonanza magnetica nucleare mono e bidimensionali (1D e 2D NMR).

Negli studi LC-MS ad alta risoluzione è stato in primo luogo interpretato il complesso pattern di frammentazione della palitossina, molecola nota strutturalmente (Fig.1) e che è stata usata come standard di riferimento. Sono stati effettuati esperimenti LC-MSⁿ ad alta risoluzione sul composto tal quale senza necessità di derivatizzazione. Nelle condizioni utilizzate, la molecola frammenta in numerosi punti dello scheletro carbonioso generando un folto numero di ioni frammento a diversi stati di carica. La maggior parte degli ioni frammento mostrano la presenza del calcio nella loro formula elementare e su questa base è stata accertata la tendenza della palitossina a formare ioni addotto con il calcio ed altri ioni bivalenti. Il pattern di frammentazione della palitossina è stato successivamente utilizzato come modello nell'interpretazione dello spettro LC-MSⁿ ad alta risoluzione dell'ovatossina-a. Con questo approccio è stato possibile fare delle ipotesi strutturali sull'ovatossina-a; in particolare l'ovatossina-a paragonata alla palitossina: 1) manca di 3 ossidrili, uno al C-17, uno al C-44 o al C-45, e uno nella regione che va dal C-53 al C-78; 2) presenta un gruppo ossidrilico al C-42; 3) presenta le stesse caratteristiche strutturali della palitossina nelle regioni che vanno dall'estremità A al C-16, dal C-18 al C-41, dal C-46 al C-52, e dal C-79 all'estremità B.

Figura 1 – Struttura chimica della palitossina e dell'ovatossina-a



Parallelamente agli studi analitici abbiamo condotto un lavoro preparativo che ci ha permesso di ottenere per la prima volta l'ovatossina-a in forma pura. Il campione di ovatossina-a è stato impiegato per l'indagine chimico-strutturale mediante 1D e 2D NMR che ha confermato le ipotesi fatte sulla base degli esperimenti LC-MSⁿ ad alta risoluzione e individuato gli esatti punti di differenza con la palitossina nelle sostituzioni al C-17, C-42, C-44 e C-64, indicando inequivocabilmente che l'ovatossina-a è la 42-idrossi-17,44,64-trideossi-palitossina. Fino ad oggi, la mancanza di materiale purificato aveva impedito sia lo studio sulla reale tossicità delle ovatossine, nonché la possibilità di stabilire un limite di tollerabilità per tali composti negli alimenti marini. L'aver ottenuto l'ovatossina-a pura offre non solo la possibilità di indagare a fondo la sua tossicità ma pone le fondamenta per la preparazione di materiale di riferimento da utilizzare in analisi LC-MS a scopo quantitativo.

Bibliografia

Ciminiello P., Dell'Aversano C., Fattorusso E., Forino M., Magno S., Tartaglione L., Grillo C., Melchiorre N. *Analytical Chemistry* (2006) 78, 6153.
 Ciminiello P., Dell'Aversano C., Dello Iacovo E., Fattorusso E., Forino M., Grauso L., Tartaglione L., Guerrini F., Pistocchi R. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (2010) 24, 2735.

DETERMINAZIONE DI *OSTREOPSIS* SPP. IN CAMPIONI DI BIOAEROSOL MARINO CON TECNICHE MOLECOLARI

di Casabianca Silvia, Casabianca Anna, Antonella Penna – Università di Urbino Carlo Bo – Dip. di Scienze Biomolecolari – Sezione Biologia Ambientale

Riassunto

Questo studio rappresenta due anni di analisi molecolari di real time PCR (qrt-PCR) su campioni di bioaerosol marino raccolti nel sito di campionamento lungo il litorale catalano a Llanerres (Spagna) nel periodo estivo 2010.

In questo contributo, vengono presentati risultati preliminari delle analisi molecolari di qrt-PCR per l'identificazione e quantificazione di *Ostreopsis* spp. in campioni di filtro di quarzo di aerosol marino durante lo sviluppo del bloom di *Ostreopsis* nel mese di Agosto 2010.

In particolare, nell'anno precedente, agosto 2009, erano state condotte le analisi molecolari di PCR per l'identificazione di specie di *Ostreopsis* nel bioaerosol marino campionate sempre nella stessa località (Llanerres, Spagna). La fioritura di *O. cf. ovata* (la cui identificazione è stata confermata con le analisi molecolari di PCR) era caratterizzata da abbondanze di 10^4 - 10^5 cellule L^{-1} su campioni di acqua superficiale.

Le analisi molecolari di PCR su campioni di bioaerosol marino per l'identificazione della presenza di differenti specie di *Ostreopsis* hanno prodotto risultati positivi per entrambe le specie di *Ostreopsis*, quali *O. cf. ovata* e *O. cf. siamensis*.

I campioni ambientali di macroalga (Figg. 1-2), acqua di mare e bioaerosol marino prelevati nell'agosto 2010 a Llanerres (Fig. 3) sono stati analizzati con analisi molecolari di qrt-PCR per l'identificazione e quantificazione di *Ostreopsis* spp. Inoltre, i campioni di macroalga (*Corallina elongata*) e acqua di mare sono stati analizzati col metodo di microscopia ottica per le stime quantitative di *Ostreopsis* spp.

L'analisi molecolare di qrt-PCR dei campioni di macroalga e acqua di mare ha evidenziato rispettivamente abbondanze di 10^4 - 10^5 cellule g^{-1} fw e 10^3 - 10^4 cells L^{-1} della specie *O. cf. ovata*, mentre *O. cf. siamensis* è risultata assente.

Figura 1 - *Corallina elongata*



Figura 2 - Campione di macroalghe



Figura 3 - Area di campionamento



L'analisi molecolare di qrt-PCR dei campioni di bioaerosol marino ha evidenziato la presenza solo della specie *O. cf. ovata*. In particolare, è stato quantificato il numero di cellule di *O. cf. ovata*. I risultati delle analisi molecolari hanno mostrato un numero di copie di rDNA per filtro di quarzo compreso tra 100 e 54000 corrispondente ad un numero di cellule di *O. cf. ovata* di 1-116. Il numero di cellule totali (qrt-PCR) è stato calcolato dividendo il numero totale di copie di rDNA per il numero medio normalizzato di copie per cellula di *O. cf. ovata* a Llanerres. Questo rappresenta in assoluto il primo data quantitativo e specie specifico di cellule tossiche di *Ostreopsis* nell'aerosol marino.

- Sviluppo del metodo qrt-PCR

Lo sviluppo del metodo molecolare di quantificazione di *Ostreopsis cf. ovata* in qrt-PCR è stato caratterizzato dai seguenti parametri:

1. Efficienza del metodo (qrt-PCR): 98 - 100%
2. Range dinamico di quantificazione: 10^6 - 2 rDNA copy no.
3. Limite di quantificazione: 2 rDNA copy no.
4. Coefficiente di variazione: 20 - 25%.

Analisi di qrt-PCR e di microscopia su campioni di macroalghe

I risultati delle analisi molecolari di qrt-PCR per l'identificazione e quantificazione di *Ostreopsis* in campioni di macroalghe sono state paragonate con quelli della microscopia ottica. Le conte del numero di cellule eseguite con i due metodi sono state correlate: è stata ottenuta una correlazione positiva tra i due metodi: $n = 24$, Spearman $r = 0.93$, $p = 0.0022$. Le abbondanze *O. cf. ovata* erano nel range di 10^3 - 10^5 cellule \cdot g⁻¹ fw.

Inoltre, in collaborazione con i colleghi spagnoli Magda Vila (ICM-CSIC, Barcelona) e Pilar Riobò (IIM-CSIC, Vigo) sono state eseguite le analisi del contenuto di palitossina nei campioni di macroalga e bioaerosol marino: i dati di PLTX equivalenti cell⁻¹ erano nel range di 0.3 - 5 pg. Mentre, nei campioni di filtro di quarzo di bioaerosol marino non è stata determinata nessuna quantità di PLTX.

Analisi di qrt-PCR e di microscopia su campioni di acqua di mare

I risultati delle analisi molecolari di qrt-PCR per l'identificazione e quantificazione di *Ostreopsis* in campioni di acqua di mare sono state paragonate con quelli della microscopia ottica. Le conte del numero di cellule eseguite con i due metodi sono state correlate: è stata ottenuta una correlazione positiva tra i due metodi: $n = 24$, Spearman $r = 0.97$, $p = 0.0002$. Le abbondanze *O. cf. ovata* erano nel range di 10^3 - 10^4 cellule L⁻¹.

Conclusioni preliminari

Identificazione molecolare di *Ostreopsis* spp. in campioni di aerosol marino

Questo studio ha mostrato che il metodo molecolare di qrt-PCR è risultato estremamente sensibile e specifico per la rilevazione e quantificazione di *O. cf. ovata* in campioni di aerosol marino. Il metodo ha dimostrata la sua elevata riproducibilità di quantificazione di *O. cf. ovata* in matrici complesse come quelle dei filtri di quarzo assieme a campioni di macroalghe e acqua di mare. Inoltre, il metodo di qrt-PCR ha mostrato una sensibilità maggiore dei metodi analitici e bio-analitici che non hanno rilevato la presenza di PLTX. Pertanto, il metodo di qrt-PCR potrebbe essere utile nel controllo e prevenzione all'esposizione di cellule di *O. cf. ovata* e composti della PLTX. Inoltre, un efficiente monitoraggio attraverso un' accurata e adeguata strategia di campionamento è fondamentale per la gestione e prevenzione dei rischi di salute ed economici legati alle fioriture di *O. cf. ovata* nelle aree costiere italiane.

Referenze bibliografiche

Battocchi C., Totti, C., Vila, M., Masò M., Capellacci S., Accoroni S., Renè A., Scardi M., Penna A. (2010) Monitoring toxic microalga *Ostreopsis* (Dinoflagellate) species in coastal waters of the Mediterranean Sea using molecular PCR-based assay combined with light microscopy. *Marine Pollution Bulletin*, 60:1074-1084.

Bravo I., Vila M., Casabianca S., Rodriguez F., Rial P., Riobò P., Penna A. (2012): Life cycle stages of the benthic palytoxin-producing dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae). *Harmful Algae* 18: 24-34.

Casabianca S., Casabianca A., Riobò P., Franco J.M., Vila M., Penna A. Bioaerosol qrt-PCR assay development for toxic marine dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* quantification (in contribution).

Ciminiello P., Dell' Aversano C., Iacovo E.D., Fattorusso E., Forino M., Tartaglione L., Battocchi C., Crinelli R., Carloni E., Magnani M., Penna A. (2012): Unique Toxin Profile of a Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* Strain: HR LC-MSn Characterization of Ovatoxin-f, a New Palytoxin Congener. *Chemical Research in Toxicology* 25: 1243-1252.

Penna A., Bertozzini E., Battocchi C., Giacobbe M. G., Galluzzi L., Garcés E., Vila M., Lugliè A., Magnani M. (2007) Monitoring of HAB species in the Mediterranean Sea through molecular techniques techniques. *Journal of Plankton Research*, 29: 19-38.

Penna A, Fraga, S., Battocchi, C., Casabianca, S., Perini, F., Capellacci, S., Casabianca, A., Riobò, P., Giacobbe, M.G., Totti, C., Accoroni, S., Vila, M., René, A., Scardi, M., Aligizaki, K., Nguyen-Ngoc, L., Vernesi, C. (2012): Genetic diversity of the genus *Ostreopsis* Schmidt: phylogeographical considerations and molecular methodology applications for field detection in the Mediterranean Sea. *Cryptogamie* 33, 153-163.

Perini F., Casabianca A., Battocchi C., Accoroni S., Totti C., Penna A. (2011) New Approach Using the Real-Time PCR Method for Estimation of the Toxic Marine Dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in Marine Environment. *Plos One*, 6: 1-9.

Vila M, Arin, L., Battocchi C., Bravo, I., Fraga, S., Penna, A., Reñé, A., Riobò, P., Rodriguez, F., Sala, M., Camp, J., de Torres, M., Franco, J.M. (2012): Management of *Ostreopsis* blooms in recreational waters along the Catalan coast (NW Mediterranean Sea): cooperation between a research project and a monitoring program. *Cryptogamie* 33, 143- 152.

ECOLOGIA DELLE FIORITURE DI *OSTREOPSIS* CF. *OVATA* NELLA RIVIERA DEL CONERO

di Cecilia Totti¹, Stefano Accoroni¹, Salvatore Pichierrri¹, Federica Colombo¹, Tiziana Romagnoli¹, Mauro Marini², Cecilia Battocchi³, Antonella Penna³, Patrizia Ciminiello⁴, Carmen Dell'Aversano⁴, Ernesto Fattorusso⁴, Stefania Gorbì¹, Francesco Regoli¹

¹Dip. Scienze della Vita e dell'Ambiente (DISVA), Università Politecnica delle Marche, Ancona

²ISMAR CNR, Ancona

³Dip. Scienze Biomolecolari, Università di Urbino

⁴Dip. Chimica delle Sostanze Naturali, Università di Napoli

Riassunto

Nell'ultimo decennio, fioriture di dinoflagellate bentoniche tossiche appartenenti alla famiglia delle Ostreopsidaceae (*Ostreopsis* cf. *ovata* e *O.* cf. *siamensis*) sono diventate sempre più intense e frequenti lungo tutte le coste rocciose del Mar Mediterraneo. Tali fioriture sono state associate ad effetti nocivi sulla salute umana ed a morie di organismi marini bentonici, dovuti alla produzione di composti palitossina-simili. In questo lavoro presentiamo una sintesi delle attività di ricerca condotte da DISVA (in collaborazione anche con altri istituti) riguardo (i) ecologia dei bloom di *O.* cf. *ovata* in N Adriatico (andamento temporale, relazione con temperatura, nutrienti, idrodinamismo, profondità e substrato), (ii) analisi morfometriche, (iii) determinazione e quantificazione delle tossine, (iv) risposte ecotossicologiche nei mitili.

L'area di studio è rappresentata da diverse stazioni situate lungo la Riviera del Conero (AN) caratterizzate da fondale roccioso e bassa profondità. Negli ultimi anni la nostra attenzione si è focalizzata sulla stazione Passetto (Figg.1-2), una delle più impattate dalla fioritura. Il campionamento è stato effettuato nel 2006 (anno di prima segnalazione), 2007, 2009, 2010 e 2011 su diversi substrati bentonici (macroalghe, sassi, mitili) e nella colonna d'acqua. I campioni sono stati trattati, secondo il protocollo per consentire il distacco delle cellule dai substrati (Totti *et al.*,



Figura 1 – Il sito di campionamento Passetto, ove durante il picco della fioritura di *Ostreopsis* cf. *ovata* si raggiungono ogni anno elevati valori di abbondanza

2010) e analizzati al microscopio ottico rovesciato.

Le abbondanze cellulari sono state infine espresse come cell. g⁻¹ fw/dw e cell. cm⁻².

Contemporaneamente venivano rilevate le condizioni meteomarine, temperatura, salinità e la concentrazione dei nutrienti disciolti.

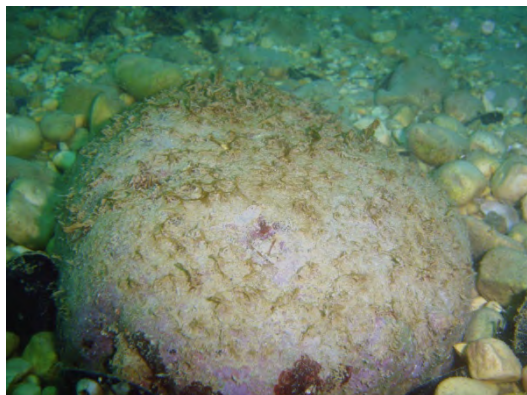


Figura 2- Mat prodotta da *Ostreopsis ovata* sul fondale marino

Analisi molecolari condotte ogni anno hanno confermato la presenza del solo genotipo "ovata" (Perini *et al.*, 2011). I massimi di abbondanza annuali sono stati osservati ogni anno a fine estate (2007: metà ottobre; 2009 e 2010: metà settembre), con abbondanze nell'ordine di grandezza di 106 cell. g⁻¹ fw [corrispondente a 107 cell. g⁻¹ dw e 104 cell. cm⁻²]. A differenza di quanto osservato in altre aree del Mediterraneo, le fioriture si sviluppano quando la temperatura dell'acqua è in netta diminuzione. Altre dinoflagellate tossiche

bentoniche, quali *Prorocentrum lima*, *Coolia monotis* e *Amphidinium* spp. sono state rilevate in associazione con *O. cf. ovata*, seppur con abbondanze significativamente inferiori. Confrontando le abbondanze medie di *O. cf. ovata* sulle macroalghe con quelle sui substrati duri, abbondanze significativamente più elevate sono state osservate su questi ultimi; tra le macroalghe, quelle a tallo ramificato supportavano abbondanze più elevate che quelle a tallo non ramificato. Le abbondanze di *O. cf. ovata* mostrano un netto decremento con la profondità. L'idrodinamismo sembra giocare un ruolo importante sulla dinamica del bloom di *O. cf. ovata*: abbondanze significativamente più elevate sono state osservate nei siti protetti rispetto a quelli esposti, in particolar modo durante la fase esponenziale della fioritura (Totti *et al.*, 2010).

Durante i bloom le concentrazioni di nutrienti mostravano un andamento molto variabile, con valori che rientravano in quelli attesi per un'area costiera poco profonda e soggetta a un moderato impatto antropico. Non abbiamo osservato nessuna relazione evidente tra concentrazione di nutrienti e fioritura né nel 2009 né nel 2010 (Accoroni *et al.*, 2011, Accoroni *et al.*, 2012a).

L'analisi morfometrica condotta sui campioni naturali misurando oltre 2400 cellule ha messo in evidenza che la popolazione di *O. cf. ovata* della Riviera del Conero presenta una grande variabilità dimensionale, superiore a quella finora riportata in letteratura. Il DV variava da 17.5 a 75 µm, W da 12.5 a 60 µm e AP da 10 a 31.25 µm. Il rapporto DV:AP [in media 2.31] risulta superiore a quello riportato in letteratura (Accoroni *et al.*, 2012b).

Fenomeni di intossicazione per l'uomo (dispnea, congiuntiviti, dermatiti, rinorrea, febbre) e morie di invertebrati bentonici (patelle, ricci di mare e mitili) e macroalghe vengono osservati comunemente in concomitanza delle fioriture di *O. cf. ovata*. Durante la fioritura del 2009, è stato riscontrato un elevato contenuto di tossine totali (fino a 75 pg cell.⁻¹); erano presenti la palitossina putativa e tutte le ovatoossine finora conosciute, di cui OVTX-a era la componente prevalente (Accoroni *et al.*, 2011).

Nel 2009 sono stati effettuati studi di ecotossicologia (Gorbi *et al.*, 2012) volti ad indagare le risposte biologiche (biomarker) nei mitili campionati sia in ambiente naturale, durante i periodi di fioritura algale, o esposti in condizioni di laboratorio a concentrazioni note di *Ostreopsis*. Tali risposte includono marker di neurotossicità, di

disturbo ossidativo, di alterazioni lisosomiali e perossidazione lipidica, di danno genotossico, di modificazioni tissutali, di condizione fisiologica dell'organismo e forniscono una risposta predittiva dell'effetto di tossicità, prima che questo si manifesti ai livelli più elevati di organizzazione biologica o che possa rappresentare un rischio per la salute pubblica. Le principali risposte osservate nei mitili esposti riguardano: (i) l'inibizione dell'attività della pompa Na⁺ K⁺-ATPasi, (ii) l'alterazione della risposta immunitaria (variazione del rapporto granulociti:ialinociti e diminuzione della capacità di fagocitosi), (iii) la riduzione della stabilità della membrana lisosomiale, (iv) l'alterazione del comportamento alimentare indicata dalla riduzione dei lipidi neutri (sostanze di riserva) e dalla degenerazione e assottigliamento dei tubuli della ghiandola digestiva dei mitili.

Bibliografia

- Accoroni S., Romagnoli T., Colombo F., Pennesi C., Di Camillo C.G., Marini M., Battocchi C., Ciminiello P., Dell'Aversano C., Dello Iacovo E., Fattorusso E., Tartaglione L., Penna A., Totti C., 2011. *Ostreopsis* cf. *ovata* bloom in the northern Adriatic Sea during summer 2009: Ecology, molecular characterization and toxin profile. *Marine Pollution Bulletin* 62(11), 2512-2519.
- Accoroni S., Colombo F., Pichierri S., Romagnoli T., Marini M., Battocchi C., Penna A., Totti C., 2012a. Ecology of *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms in the northern Adriatic Sea. *Cryptogamie-Algologie*, 33(2): 191-198.
- Accoroni S., Romagnoli T., Pichierri S., Colombo F., Totti C., 2012b. Morphometric analysis of *Ostreopsis* cf. *ovata* cells in relationship with environmental conditions and bloom phases. *Harmful Algae*, 1.
- Gorbi S., Bocchetti R., Binelli A., Bacchiocchi S., Orletti R., Nanetti L., Raffaelli F., Vignini A., Accoroni S., Totti C., Regoli F. Biological effects of palytoxin-like compounds from *Ostreopsis* cf. *ovata*: a multibiomarkers approach with mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 89(5): 623-632.
- Perini F., Casabianca A., Battocchi C., Accoroni S., Totti C., Penna A., 2011. New approach using the real-time PCR method for estimation of the toxic marine dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in marine environment. *PLoS ONE* 6(3): e17699. doi:10.1371/journal.pone.0017699.
- Totti C., Accoroni S., Cerino F., Cucchiari E., Romagnoli T., 2010. *Ostreopsis ovata* bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata. *Harmful Algae* 9(2): 233-239.

INIZIATIVE ISPRA: *OSTREOSPIS OVATA* NELLA MARINE STRATEGY, NELL'ANNUARIO DEI DATI AMBIENTALI E NEL PROGETTO RENO

di Patrizia Borrello, Antonello Bruschi, Roberta De Angelis, Erika Magaletti, Valeria Pesarino, Cecilia Silvestri, Emanuela Spada, ISPRA

Riassunto

In questa presentazione viene trattata la tematica di *Ostreopsis ovata* a livello Europeo e Nazionale.

Il D.Lgs 190/2010 di recepimento della Direttiva quadro sulla "Strategia Marina" (Direttiva 2008/56/EC) prevede una road map sulle fasi iniziali di attuazione ai sensi degli articoli 8,9-paragrafo 1 e 10 paragrafo 1

Entro il 15 luglio 2012 infatti va comunicata alla Commissione Europea :

qual è la valutazione iniziale dello stato ambientale attraverso i dati esistenti (art. 8 della Direttiva); la determinazione del "Buono Stato ambientale" (art.9 della Direttiva) e la determinazione di una serie di traguardi ambientali e indicatori (art.10 della Direttiva),

notificando gli esiti entro il 15 ottobre 2012 attraverso dei *Reporting sheets* con format specifico (Fig. 1).

Figura 1 – scadenze per i reporting sheets

| <i>Article</i> | <i>Main tasks to 2016</i> | <i>Report due</i> |
|----------------|--|------------------------|
| <i>Art. 8</i> | <i>Initial Assessment</i> <ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Environmental characteristics</i> ➤ <i>Pressures and impacts</i> ➤ <i>Socio-economic analysis and costs of degradation</i> | <i>Oct 2012</i> |
| <i>Art. 9</i> | <i>Determine characteristics for GES</i> | <i>Oct 2012</i> |
| <i>Art. 10</i> | <i>Establish environmental targets and associated indicators</i> | <i>Oct 2012</i> |
| <i>Art. 11</i> | <i>Establish and implement monitoring programmes</i> | <i>Oct 2014</i> |
| <i>Art. 13</i> | <i>Develop a programme of measures</i> | <i>Mar 2016 latest</i> |

La struttura dei reporting sheets per il WISE-Marine segue lo schema già utilizzato per la Water Framework Directive (2000/60/CE) del modello DPSIR (Fig.2).

Figura 2 – Struttura del reporting sheet che segue lo schema DPSIR

| DPSIR element | Drivers | Pressures | State | Impacts | Ges & Targets & Ges | Responses |
|--|---|---|---|--|--|--|
| Description | <i>Analysis of uses of marine environment (economic and social)</i> | <i>Analysis of pressures on marine environment from human activities Assessment of impacts from pressures</i> | <i>Assessment of current state of marine environment (ecosystem structure and functioning) Take account of impacts from pressures</i> | <i>Assessment of costs of degradation, based on impacts on environment and to human welfare (ecosystem goods and services)</i> | <i>Define good environmental status (GES) Assess gap between current state and GES Define targets to achieve or maintain GES</i> | <i>Development of programme of measures to deliver targets</i> |
| Links to MSFD Articles | <i>Art. 8(1c)</i> | <i>Art. 8(1b)</i> | <i>Art. 8(1a)</i> | <i>Art. 8(1c)</i> | <i>Art. 9 Art. 10</i> | <i>Art. 13</i> |
| Links (to be made explicit in the reporting sheets) | <i>Identify the main pressures from each activity</i> | <i>Link pressures to main activities. Identify main ecosystem components being impacted</i> | <i>Identify main pressures and impacts – link to main pressures</i> | | | |
| Link to Reporting sheets | <i>Reported in Economic and social reporting sheets</i> | <i>Reported in Pressures and impacts reporting sheets</i> | <i>Reported in Characteristics reporting sheets</i> | <i>Costs of degradation reported in Economic and social reporting sheets</i> | <i>GES reported in GES reporting sheets Targets reported in Targets reporting sheets</i> | <i>Programmes of measures reporting to be developed for 2015 reporting</i> |

Il Reporting sheet “Microbial Pathogens” comprende le “Bathing waters” e “Shellfish”. *Ostreopsis ovata* rientra nelle acque di balneazione ma la determinazione del GES

(Good Environmental Status) al momento è prevista solo per le "Shellfish". Infatti nessun descrittore tratta espressamente dei Patogeni microbici, nessuna informazione è stata riportata nei reports dei Task Group ICES/JRC e non vi sono criteri e indicatori nella Decisione della Commissione (2010/477/EU) sui criteri del GES che facciano espresso riferimento a questa tematica.

Con una soglia di tipo ambientale di impatto sulle comunità bentoniche e quindi sulla qualità delle acque, sarebbe possibile considerare la concentrazione di *O. ovata* come un indicatore per la Marine Strategy.

Un'altra novità che coinvolge la microalga bentonica tossica è il suo inserimento come indicatore nell'annuario dei Dati Ambientali di ISPRA: La concentrazione di *Ostreopsis ovata* (2010) diviene infatti un indicatore di Stato e Impatto, sia per l'ambiente marino bentonico, sia come fattore ambientale di possibile rischio per la salute umana evidenziato sul profilo delle acque di balneazione che è un'attenta analisi dei fattori ambientali.

Inoltre da circa 3 anni la tematica viene trattata anche nelle "Tematiche in primo piano" Area Tematica "Idrosfera", Capitolo "Ambito costiero" ad integrazione degli elementi informativi relativi alle questioni ambientali prioritarie

Infine i dati di *Ostreopsis ovata* saranno fondamentali per lo sviluppo del progetto "ReNO" che vuole utilizzare strumenti matematici e di modellistica numerica per investigare come i parametri fisico-chimici e biologici concorrono ad influenzare la concentrazione di *Ostreopsis ovata* attraverso:

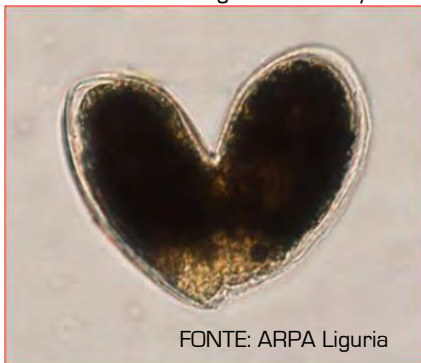
- La creazione della banca dati: 1) raccolta di tutte le fonti di dati disponibili (servono migliaia di dati); 2) progettazione ed omogeneizzazione della banca dati; 3) creazione della banca dati (excel/file di testo);
- La raccolta, studio e sintesi delle conoscenze (bibliografia ecc.), focalizzandosi sui fattori che influenzano la concentrazione di *Ostreopsis ovata* e sull'utilizzo di reti neurali per i bloom algali;
- L'applicazione della rete neurale: Selezione dei parametri di input sulla base degli studi eseguiti; test sulla struttura ottimale della rete neurale (numero di layer, numero di neuroni per layer, algoritmo di apprendimento); risultati preliminari per focalizzare meglio la parte di studi bibliografici, conoscenze microbiologiche e analisi dei dati; nuovi test sulla base degli esiti del punto precedente.

I risultati che si vogliono perseguire in ordine di raggiungibilità sono: 1) Ottenere indicazioni circa l'influenza dei vari parametri sulla concentrazione di *Ostreopsis ovata*, 2) Ottenere possibili indicazioni di nuovi parametri da aggiungere alle misure

CONCLUSIONI

Emanuela Spada e Patrizia Borrello ISPRA

La giornata si è conclusa con le proposte per il proseguimento della Linea di attività ISPRA: “Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* lungo le coste italiane”.



FONTE: ARPA Liguria

Figura 1 - Cellule di *Ostreopsis cf. ovata*

La discussione si è incentrata sulla difficoltà di riconoscimento della specie tossica, in quanto nel Mar Mediterraneo esistono due specie *O. ovata* (Fig. 1) e *O. siamesis*, l'identificazione delle quali mediante la sola analisi morfologica risulta molto complessa; attraverso l'analisi molecolare invece, è stato possibile rilevare che in Mediterraneo *O. ovata* è più diffusa rispetto a *O. siamesis*. È stato inoltre sottolineato che riconoscere la specie è molto importante, poiché, si hanno profili tossicologici distinti con effetti diversi sull'uomo e sugli organismi bentonici (Accoroni *et al.*, 2011). In Sicilia, ad esempio, è stata messa in evidenza la contemporanea

presenza di *O. cf. ovata* e di *O. cf. siamensis* in diversi campioni analizzati. Considerato che le tecniche di microscopia non consentono di distinguere e quantificare correttamente tali specie durante le attività di monitoraggio, il dato di abbondanza è stato espresso in modo cumulativo, relativo cioè ad entrambe le specie rilevate (*Ostreopsis* spp.). Pertanto è stato suggerito, in mancanza di tecniche di analisi molecolare, di indicare la specie tossica come *O. cf. ovata*.

Le ARPA hanno anche sollecitato la costituzione del tavolo tecnico di aggiornamento sulla tematica *Ostreopsis ovata* con il Ministero della Salute, il MATTM, le ARPA e il coinvolgimento di alcune Università e Istituti di ricerca che si occupano di alghe tossiche. Lo scopo infatti sarebbe anche quello di fornire una metodologia che definisca classi o valori soglia. Infatti ad oggi è previsto soltanto il limite di allarme delle 10.000 cell/L, a fini gestionali, stabilito dal precedente tavolo tecnico, a seguito dell'emergenza del 2005 avvenuta in Liguria. Alcune ARPA hanno inoltre sottolineato la necessità di effettuare studi per verificare se esistano relazioni tra l'attività di depurazione e i bloom di *Ostreopsis* spp.

Il processo di conoscenza sulla tematica, iniziato nel 2006, può senz'altro essere migliorato e aggiornato alla luce dell'esperienza e della competenza che le ARPA e gli altri Istituti di Ricerca e Università hanno raccolto in questi anni. ISPRA pertanto si è impegnata a portare avanti presso i Ministeri della Salute e dell'Ambiente questa richiesta.

Le informazioni raccolte a livello nazionale hanno già permesso alla linea di attività di essere inclusa nello sviluppo della Marine Strategy (2008/56/CE); in particolare nella valutazione iniziale delle acque marine, che comprende l'analisi degli elementi e delle caratteristiche essenziali e dello stato ecologico delle acque, l'analisi delle pressioni e degli impatti sullo stato ecologico delle acque e l'analisi degli aspetti socio-economici dell'uso di queste acque nonché del costo del degrado dell'ambiente marino. Tutto ciò, con lo scopo di migliorare in modo strutturato il monitoraggio di questa e altre alghe tossiche come anche previsto dalla citata Direttiva, che pone la scadenza del 2014 per la presentazione dei programmi di monitoraggio.

ⁱ Accoroni S., Romagnoli T., Colombo F., Pennesi C., Di Camillo G.C., Marini M., Battocchi C., Ciminiello P., Dell'Aversano C., Dello Iacovo E., Fattorusso E., Tartaglione L., Penna A., Totti C., 2011 - *Ostreopsis cf. ovata* bloom in the northern Adriatic Sea during summer 2009: Ecology, molecular characterization and toxin profile. Mar. Poll. Bull. 62 (2011): 2512-2519.

² Direttiva 2008/56/CE del parlamento europeo e del consiglio del 17 giugno 2008 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria nel campo della politica per l'ambiente marino (direttiva quadro sulla strategia per l'ambiente marino)

ATTI

