

## COMPONENTE T

ATTIVITA' T.2.

"Azione Pilota"

Prodotto T.2.1.2.

"Report Azione pilota bivalvi"

## COMPOSANT T

ACTIVITÉ T.2.

"Action pilote"

Produit T.2.1.2

"Rapport Action pilote bivalve"

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## Azione pilota T2.1.2

**“Realizzazione di una stazione sperimentale di allevamento di molluschi bivalvi presso la laguna di Calich”.**

- *Allevamento molluschi bivalvi presso la laguna di Calich*

*A cura dell’Agris Sardegna*

- *Monitoraggio dei metalli, nutrienti ed indicatori batteriologici nelle acque della laguna di Calich*

*A cura dell’ARPAS Sardegna*

- *Determinazione dei contaminanti abiotici e biotici nei molluschi bivalvi allevati nella laguna del Calich.*

*A cura di UNISS-Dipartimento di Medicina Veterinaria*

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

## Relazione a cura di AGRIS Sardegna

La condizione di molti stock ittici marini è intimamente legata allo stato di salute degli ambienti acquatici di transizione, quali stagni e lagune. Questi infatti sono caratterizzati da un'elevata produttività legata agli importanti apporti nutrizionali esterni (bacino imbrifero e maree), interni e derivanti da produzioni primarie ad opera di macrofite, microfite bentoniche e fitoplancton (Mc Lusky e Elliott, 2004).

Numerose specie neconiche hanno adattato i loro cicli biologici, in particolare le fasi giovanili, al fine di massimizzare lo sfruttamento delle ingenti risorse trofiche che si rendono disponibili all'interno di questi ambienti (Elliott e Hemingway, 2002).

Sono soprattutto gli ambienti di transizione quali stagni e lagune ad ospitare in gran numero i giovanili di specie neconiche marine che grazie a questi ambienti possono, una volta accresciutisi, completare il loro ciclo biologico tornando in mare. Di conseguenza la perdita di questi ecosistemi, rappresenta uno dei principali rischi per la sostenibilità delle attività alieutiche, in particolare in quelle regioni caratterizzate da una grande estensione degli ambienti di transizione (Schmitteren, 1999).

In Italia sono andate perse in passato grandi superfici di zone umide salmastre a causa di interventi antropici resisi necessari per fini di salute pubblica (bonifiche antimalariche), oppure di conversione dei suoli ad uso agricolo (bonifiche fondiarie) (Rossi et al., 1999).

Con questi presupposti, diventa assolutamente necessaria la conservazione di questi ambienti di transizione, sostenuta da normative nazionali e della comunità europea, volte non soltanto alla salvaguardia della biodiversità, ma al fine di garantire nel tempo la sostenibilità del prelievo alieutico (Water Frame Directive 2000/60/CE), possibile con una integrazione delle pratiche tradizionali di pesca con pratiche acquaculturali.

A livello mondiale, l'acquacoltura è il settore, nel campo delle produzioni alimentari, con il più elevato trend di crescita. Infatti la produzione mondiale da acquacoltura ammontava a 1 milione di tonnellate nel 1950 mentre oggi si attesta intorno a 50 milioni di tonnellate (67% Cina) e si prevede che nel 2030 possa raggiungere 85 milioni di tonnellate. Secondo quanto riportato dall'ISMEA nel checkup del settore ittico 2013, in Italia nel 2012 i prodotti dell'acquacoltura hanno rappresentato in volume il 49,6% della produzione ittica totale nazionale (204.000 t). La produzione si concentra in modo particolare su cinque specie: trote, spigole, orate per la piscicoltura; mitili e vongole veraci per la molluschicoltura. Secondo i dati dell'Associazione Piscicoltori Italiani, la quota predominante è costituita dalla molluschicoltura (65%) e, nell'ambito di questa, la mitilicoltura ha il peso maggiore con oltre il 76% delle quantità prodotte, a

fronte del 24% della venericoltura. La piscicoltura riveste però un ruolo importante per quanto concerne il valore del prodotto che rappresenta il 66% del totale: la trotecoltura concorre per un 39% ai ricavi complessivi, seguita dall'allevamento delle specie eurialine (orate 20% e spigole 18% circa). In media il 12% delle proteine della nostra dieta provengono dal consumo di prodotti ittici che rappresentano anche un'importante fonte di acidi grassi, vitamine e minerali, indicati per la prevenzione di malattie cardiache. L'aumento del consumo di prodotti ittici dell'acquacoltura italiana deriva anche da interessanti considerazioni: continuità negli approvvigionamenti; salubrità del prodotto, intesa come contenuto in proteine nobili e grassi "buoni"; elevata qualità dei nostri pesci rispetto a quelli prodotti da altre nazioni dovuta principalmente all'ambiente di allevamento ed ai mangimi utilizzati (esiste uno stretto legame tra qualità delle acque di allevamento e prodotto). Negli ultimi anni l'acquacoltura italiana si è caratterizzata anche per una rilevante diversificazione in termini di sistemi produttivi e di tecnologie adottate, in linea con le diversità geografiche ed ambientali del territorio. Vi è inoltre maggior consapevolezza, sia da parte degli operatori che dei consumatori, sugli aspetti ambientali legati alle pratiche acquaculturali. Da ciò ne deriva la necessità di garantire nell'intera filiera produttiva oltre agli aspetti legati alla qualità e alla sicurezza alimentare, anche quelli inerenti la tutela dell'ambiente e dell'ecosistema con l'utilizzo di tecniche di allevamento innovative.

Lo sviluppo di un'industria dell'acquacoltura più competitiva e rispettosa dell'ambiente è un obiettivo prioritario dei finanziamenti europei, sia attraverso il Fondo europeo per la pesca (FEP) che nell'ambito dei programmi UE per la ricerca. Nel 2009 la Commissione ha proposto una strategia per il futuro dell'acquacoltura europea che poggia su tre elementi chiave:

- aiutare il settore a diventare più competitivo attraverso un forte sostegno alla ricerca e allo sviluppo, un migliore assetto territoriale lungo le zone costiere e nei bacini fluviali e aiuti specifici attraverso la politica per il mercato della pesca dell'UE;
- garantirne la sostenibilità mantenendo metodi di produzione rispettosi dell'ambiente ed elevati standard in termini di salute e benessere degli animali e tutela dei consumatori;
- migliorare la gestione e assicurare condizioni favorevoli alle imprese a tutti i livelli (locale, nazionale ed europeo) per consentire al settore di realizzare appieno le sue potenzialità.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

I vari documenti redatti dalla commissione europea negli ultimi anni pongono in evidenza che "la molluschicoltura è la principale voce produttiva dell'acquacoltura nazionale, basata quasi esclusivamente sull'allevamento dei mitili (*Mytilus galloprovincialis*) e della vongola verace filippina (*Ruditapes philippinarum*)".

L'ostreicoltura invece è ancora una pratica poco esercitata in Italia ed è, il più delle volte, un'attività associata solo marginalmente alla mitilicoltura (Rossi et al., 2001).

L'applicazione di modelli di introduzione e razionalizzazione della filiera produttiva di mitili e ostriche può rappresentare un valido supporto alla raccolta di molluschi bivalvi veneridi quasi esclusivamente effettuata su banchi naturali.

A livello locale questo progetto trova le sue principali motivazioni nella presenza di una forte richiesta di prodotti ittici di elevato valore economico da parte del mercato interno e nella vocazione del sito prescelto per le attività di molluschicoltura.

Inoltre i molluschi bivalvi, ed in particolare mitili ed ostriche, essendo dei potenti filtratori (un singolo individuo adulto può filtrare fino a 60-80 litri d'acqua in un giorno, con un'efficienza di filtrazione che può raggiungere il 90 % per particolato sospeso di 2-5 µm) potrebbero dare un'importante contributo alla chiarificazione delle acque lagunari che refluiscono naturalmente nel golfo prospiciente, creando soprattutto nel periodo estivo degli spiacevoli episodi di maree gialle (fioriture algali) che generano imbarazzo fra gli operatori turistici locali.

In questo contesto, attraverso la realizzazione delle diverse attività previste, si possono apportare numerosi vantaggi sia dal punto di vista economico-occupazionale che ambientale. In particolare si potrà strutturare una nuova filiera locale inherente alla produzione di *Mytilus galloprovincialis* e *Crassostrea gigas* con garanzia di tracciabilità del prodotto, caratteristica attualmente molto richiesta dal mercato.

In sintesi, questo progetto contribuisce all'integrazione ed alla diversificazione delle tradizionali pratiche alieutiche già in atto nella laguna migliorando i livelli produttivi e, conseguentemente, quelli occupazionali, valorizzando e incrementando le produzioni lagunari per mezzo di tecniche innovative a basso costo totalmente ecocompatibili.

## Obiettivi

Il progetto prevedeva l'allevamento, secondo un sistema tradizionale, del mitilo *Mytilus galloprovincialis* e dell'ostrica concava, *Crassostrea gigas*, attraverso una tecnologia più recente messa a punto dall'Agris Sardegna.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Gli obiettivi generali dell'attività di ricerca hanno previsto di:

- valutare la potenzialità produttiva molluschicola;
- razionalizzare la gestione produttiva di questo ambiente salmastro costiero attraverso l'applicazione di sistemi di allevamento di molluschi bivalvi;
- concorrere alla conservazione dell'ambiente lagunare attraverso l'applicazione di pratiche di acquacoltura eco-compatibile.
- operare un trasferimento di tecniche e tecnologie conosciute e sperimentate nel campo dell'acquacoltura di molluschi bivalvi.

In particolare gli obiettivi scientifici specifici di questa prima fase di studio, sono stati focalizzati sulla messa a punto di un protocollo *ad hoc* per l'allevamento di molluschi bivalvi nello stagno di Calich e sulla valutazione delle potenzialità produttive di queste pratiche acquaculturali al fine di definire modelli produttivi eco-compatibili, per la valorizzazione delle risorse della laguna stessa.

## Materiali e metodi

L'allevamento dei mitili è stato effettuato, in coltura sospesa, su un piccolo impianto tipo "Trieste" costituito da 2 singole "ventie" (cime), rette da pali di legno fissati profondamente nel sedimento fangoso ed affioranti dall'acqua per circa 1 metro (fig. 1), realizzato *ad hoc* ed installato nel tratto di laguna compreso tra Punta San Gialmini e Punta Fighera. Le ostriche concave sono state posizionate in poches, fissate ad un sistema di galleggiamento messo a punto dai ricercatori del Servizio Risorse Ittiche dell'Agris e costruito da una ditta specializzata, fissato anch'esso alle cime dell'impianto descritto (fig. 2).

Gli esemplari di *Mytilus galloprovincialis* utilizzati per la sperimentazione, sono stati acquistati presso un allevamento presente nel Golfo di Olbia, mentre il seme di *Crassostrea gigas* è stato acquistato presso uno schiuditoio francese (fig. 3).

I mitili sono stati "innestati" in 60 reste della lunghezza di 80 cm, costituite da una calza in materiale plastico avente maglia pari a 38 mm mentre, le 650 ostriche in 4 poches della dimensione di 1 x 0.5 m con maglia da 0.5 cm alla densità di 165 individui per poche e dall'intera biomassa è stato prelevato un campione statisticamente rappresentativo (90 individui) per la determinazione delle caratteristiche morfometriche iniziali (T0): lunghezza, larghezza, peso totale.

L'allevamento dei mitili è iniziato a dicembre 2018 e si è protratto fino a luglio 2019, utilizzando la tecnica esposta in precedenza. Allo scopo di evitare l'attacco dei molluschi da parte di predatori quali orate e

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

saragli, le singole reste sono state "inserite" in un cilindro costituito da rete di polietilene del tipo utilizzato in agricoltura (Fig. 4). Questo sistema è risultato più razionale rispetto al posizionamento di reti protettive perimetrali che avrebbero richiesto un lavoro di pulizia particolarmente gravoso per i pescatori della cooperativa.

In corrispondenza della stazione di allevamento, con cadenza mensile, sono stati rilevati i principali parametri fisico-chimici dell'acqua (temperatura, salinità, pH, ossigeno dissolto e clorofilla) mediante sonda multiparametrica Idronaut OCEAN SEVEN 316 Plus CTD (Fig.5).

Per quanto riguarda la valutazione dell'accrescimento dei mitili, mensilmente sono stati effettuati campionamenti sulle singole reste. Per ciascun campionamento sono stati prelevati da un insieme di 9 reste, 10 individui di *Mytilus galloprovincialis* per singola resta e su ciascun individuo prelevato, mediante calibro elettronico di precisione con sensibilità 0.1 mm e bilancia tecnica ( $\pm 1$  mg) (Fig. 6), sono stati rilevati i seguenti parametri morfometrici:

- lunghezza (massimo asse antero-posteriore);
- larghezza (massimo asse dorso-ventrale);
- peso totale;

La biomassa di ostriche utilizzata per la preparazione delle poches era pari a circa 0,125 kg. Successivamente dall'intera biomassa è stato prelevato un campione statisticamente rappresentativo (90 individui) per la determinazione delle caratteristiche morfometriche iniziali (T0): lunghezza, larghezza, peso totale.

L'allevamento dell'ostrica concava è stato effettuato da gennaio a novembre 2019, utilizzando la tecnica esposta in precedenza.

In corrispondenza della stazione di allevamento, con cadenza mensile, sono stati rilevati i principali parametri fisico-chimici dell'acqua (temperatura, salinità, pH, ossigeno dissolto e clorofilla) mediante sonda multiparametrica Idronaut OCEAN SEVEN 316 Plus CTD (Fig.5).

Per quanto riguarda la valutazione dell'accrescimento delle ostriche, mensilmente sono stati effettuati campionamenti conservativi sulle singole poche. Per ciascun campionamento sono stati prelevati 25 individui di *Crassostrea gigas* per singola poche e su ciascun individuo prelevato, mediante calibro elettronico di precisione con sensibilità 0.1 mm e bilancia tecnica ( $\pm 1$  mg) (Fig. 6), sono stati rilevati i seguenti parametri morfometrici:

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

- lunghezza (massimo asse antero-posteriore);
- peso totale;

## Risultati

### Parametri idrologici

Durante la sperimentazione, effettuata, per quanto riguarda l'allevamento di mitili dal 5 dicembre 2018 al 1 luglio 2019 e per quanto riguarda l'ostrica concava dal 4 marzo 2019 all'11 novembre 2019, è stata portata avanti, con frequenza mensile, una campagna di monitoraggio dei parametri fisico-chimici dell'acqua, allo scopo di seguire le variazioni delle condizioni ambientali di allevamento e le loro possibili ripercussioni sulle performances di crescita dei molluschi allevati.

Nella Tabella 1 sono rappresentati i valori di temperatura, salinità, ossigeno dissolto, concentrazione di clorofilla *a* e pH dell'acqua, registrati mediante sonda multiparametrica in corrispondenza dell'impianto di allevamento sperimentale.

L'analisi dei dati registrati durante il periodo di sperimentazione mostra come i valori di salinità, ossigeno dissolto e pH siano perfettamente rispondenti ai range auspicabili per ambienti con finalità zootecniche. Infatti, solamente per brevi periodi i parametri suddetti hanno mostrato delle variazioni significative che potrebbero essere messe in relazione con riduzione dei tassi di accrescimento e incremento di quelli di mortalità. Questi appaiono infatti quasi sempre nei limiti di sopravvivenza delle specie allevate. Un discorso a parte merita la clorofilla, parametro fondamentale per valutare la portanza dell'ambiente di allevamento. Questa, per buona parte dell'anno (primavera-estate e autunno) ha fatto registrare valori compresi tra 3,4 e 9,4  $\mu\text{gl}^{-1}$ , che rappresentano il valore aggiunto di questo ambiente. Infatti i valori registrabili durante gli stessi periodi nella maggior parte delle lagune tirreniche, risultano essere sensibilmente inferiori. I dati registrati durante questa campagna confermano essenzialmente quelli registrati in passato durante altre sperimentazioni (Serra et al. 2011).

Tab.1 Valori medi dei parametri fisico-chimici dell'acqua registrati, su 3 batimetriche, durante la sperimentazione.

Data	Profondità	Temperatura	Salinità	Ox.	D. Clorofilla <i>a</i>	pH
	cm	°C	psu	mg l <sup>-1</sup>	µg l <sup>-1</sup>	
03/12/2018	30	13,5	4,4	8,2	1,29	7,7

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

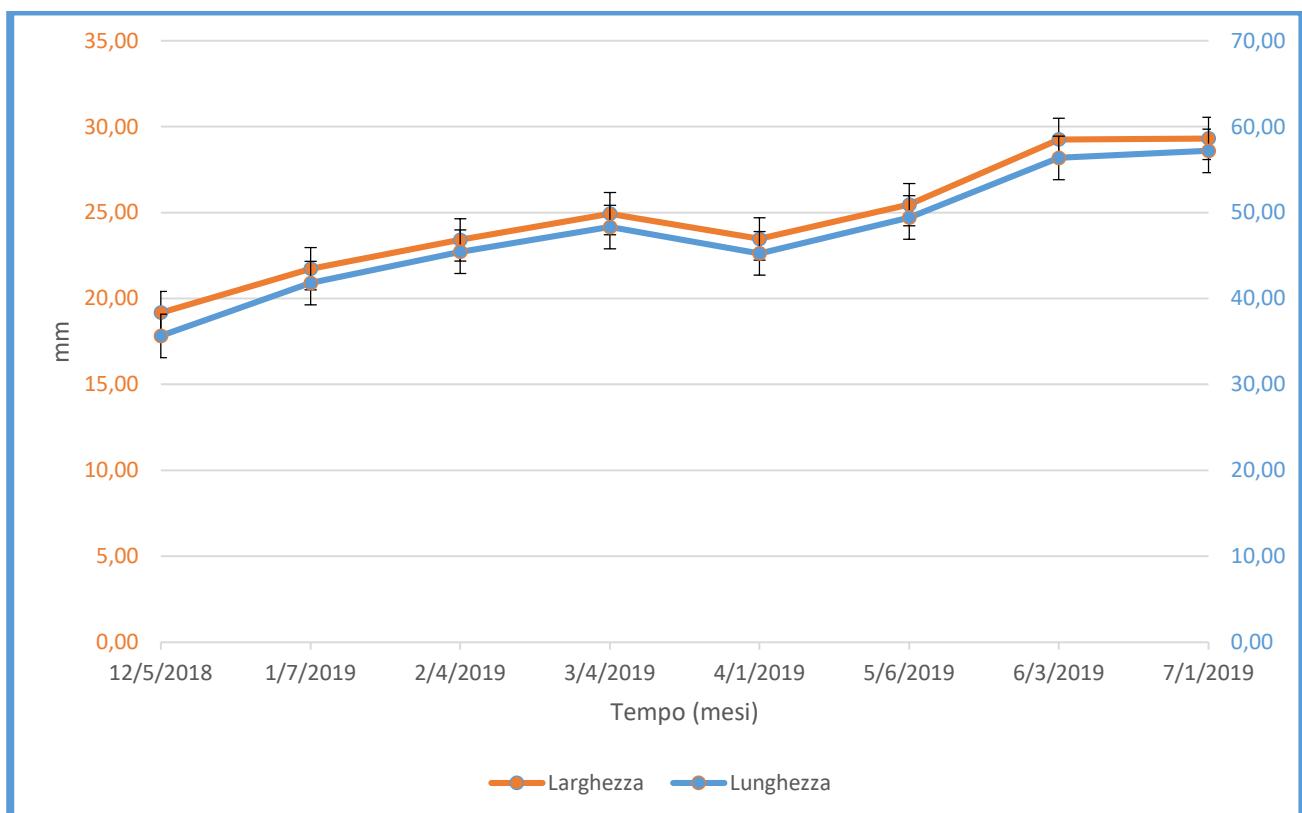
	60	15,4	31,9	6,4	1,34	7,4
	100	16,5	34,5	5,6	0,64	7,6
07/01/2019	30	10,9	16,0	4,3	0,39	8,2
	60	13,2	32,5	3,8	0,64	8,1
	100	13,8	35,6	3,7	0,48	8,1
04/02/2019	30	10,7	1,8	4,4	1,31	7,9
	60	10,7	1,8	4,4	1,3	7,9
	100	12,2	26,1	3,5	1,3	7,6
04/03/2019	30	14,8	17,7	6,9	1,67	8,2
	60	14,8	18,3	7,1	1,95	8,2
	100	14,5	33,5	6,5	2,3	8,2
01/04/2019	30	19,8	18,6	5,2	1,37	8,5
	60	17,0	32,3	6,3	3,41	8,6
	100	16,5	34,0	6,9	1,15	8,5
06/05/2019	30	14,0	23,4	7,2	0,71	9,0
	60	14,0	23,5	7,0	0,71	9,0
	100	13,9	23,7	6,6	0,98	8,9
03/06/2019	30	20,5	28,9	11,4	2,73	8,3
	60	17,9	36,3	12,8	3,54	8,1
	100	17,9	36,7	12,0	1,09	8,0
01/07/2019	30	30,1	31,1	7,1	5,42	8,0
	60	28,2	32,6	7,4	6,84	8,0
	100	26,2	36,3	6,9	8,68	7,8
29/07/2019	30	25,7	33,8	5,89	n.r.	7,9
	60	25,7	33,8	5,78	n.r.	7,9
	100	25,7	34,0	5,61	n.r.	7,9
02/09/2019	30	25,5	32,2	10,31	n.r.	8,18
	60	25,5	35,5	9,27	n.r.	8,08
	100	25,5	37,6	7,2	n.r.	7,96
11/10/2019	30	19,6	23,6	6,7	n.r.	8,1

	60	20,0	24,9	7,0	5,69	8,5
	100	21,2	28,7	7,2	9,44	8,6

## Risultati

### Parametri morfometrici in *Mytilus galloprovincialis*

Nella figura 7 è rappresentato l'andamento dei parametri lunghezza e larghezza, nel periodo di tempo compreso tra l'1 dicembre 2018 e l'1 luglio 2019, considerando l'evoluzione dei relativi valori medi registrati. A luglio le acque del Calich hanno superato il 28 gradi (vedi termografia pag. ) portando alla morte le colonie di *Mytilus galloprovincialis*, motivo per cui la sperimentazione è continuata solo su *Crassostrea gigas*.



La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Fig. 7 Andamento dei parametri lunghezza e larghezza durante i 7 mesi di allevamento sperimentale in *Mytilus galloprovincialis*, nello stagno di Calich.

Si può notare come fino a marzo, l'incremento di questi parametri sia stato significativo con un +17% nel mese di dicembre, +9% a gennaio e +6% a febbraio per quanto riguarda la lunghezza e + 13,5% a dicembre, +7,7% a gennaio e + 6,5% a febbraio per la larghezza. Nel mese successivo invece, si nota un decremento, anche se trascurabile (-6%), in entrambi i valori medi, da ascrivere probabilmente ad una variabilità, legata alle operazioni di campionamento sulle singole reste. Successivamente, l'andamento delle curve relative ai due parametri si evolve quasi parallelamente con un ulteriore + 26% e + 25% nei tre mesi successivi, per lunghezza e larghezza rispettivamente.

Per quanto riguarda il peso (Fig. 8), si può notare una prima fase di incremento ponderale molto importante nei primi 3 mesi (+163%), un mese di decremento, così come per i parametri morfometrici (-19%) ed un nuovo aumento del peso medio a partire da aprile fino al termine della prova sperimentale (+121%) avvenuta a luglio.

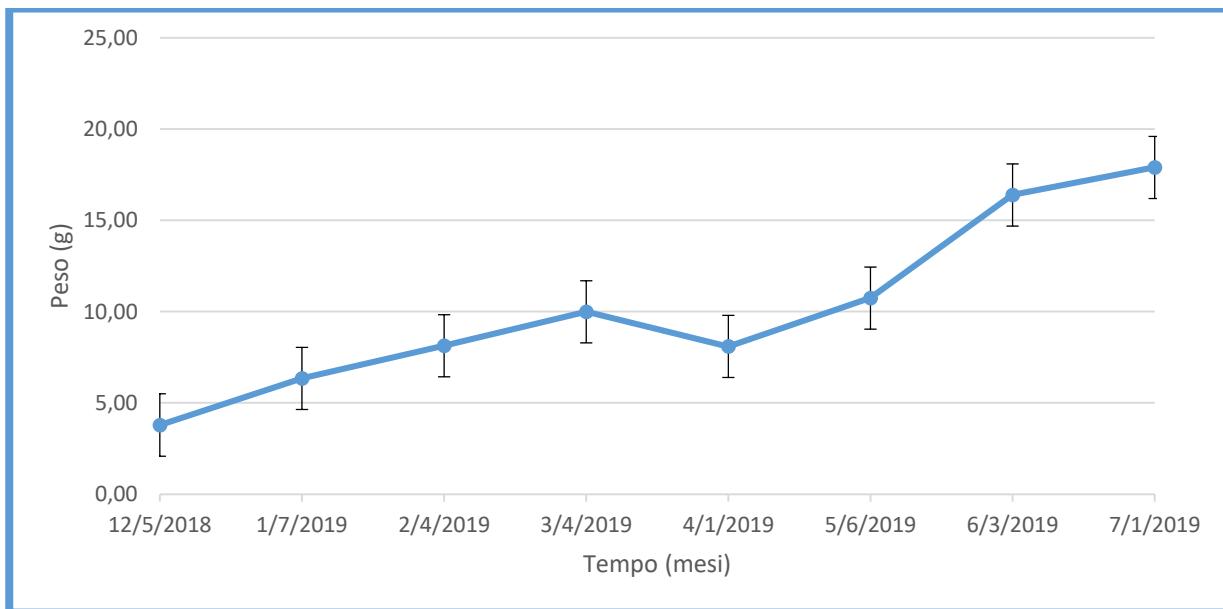


Fig. 8 Andamento del peso totale medio in *Mytilus galloprovincialis*, durante i 7 mesi di allevamento sperimentale nello stagno di Calich.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Per quanto riguarda il peso, il valore massimo registrato per un singolo individuo, al termine della sperimentazione è stato pari a 30 g, mentre il valore minimo è stato di 4 g.

### Parametri morfometrici in *Crassostrea gigas*

Per quanto riguarda le performance di crescita dell'ostrica concava, nell'ambito della prima fase di allevamento (T0, T1 e T2) le rilevazioni biometriche hanno riguardato esclusivamente il parametro peso data la fragilità della conchiglia di ostriche così piccole che, qualora misurate con calibro sarebbero andate incontro ad una rottura del bordo conchigliare con conseguente errore di misura di entità non trascurabile.

Pertanto per quanto riguarda la lunghezza la rilevazione dei dati è iniziata a partire dal mese di maggio in cui è stato registrato un valore medio pari a 23,7 mm. Nei mesi successivi l'incremento della lunghezza è stato repentino durante il periodo estivo e piuttosto ridotto in autunno (Fig. 9). Infatti l'incremento percentuale nei singoli mesi è stato del 18,5% a maggio, 41% a giugno, 12,9% a luglio, 40% ad agosto, 4,1% a settembre e 1,8% ad ottobre. Si è raggiunta così una taglia media finale pari a 66,69 mm di lunghezza.

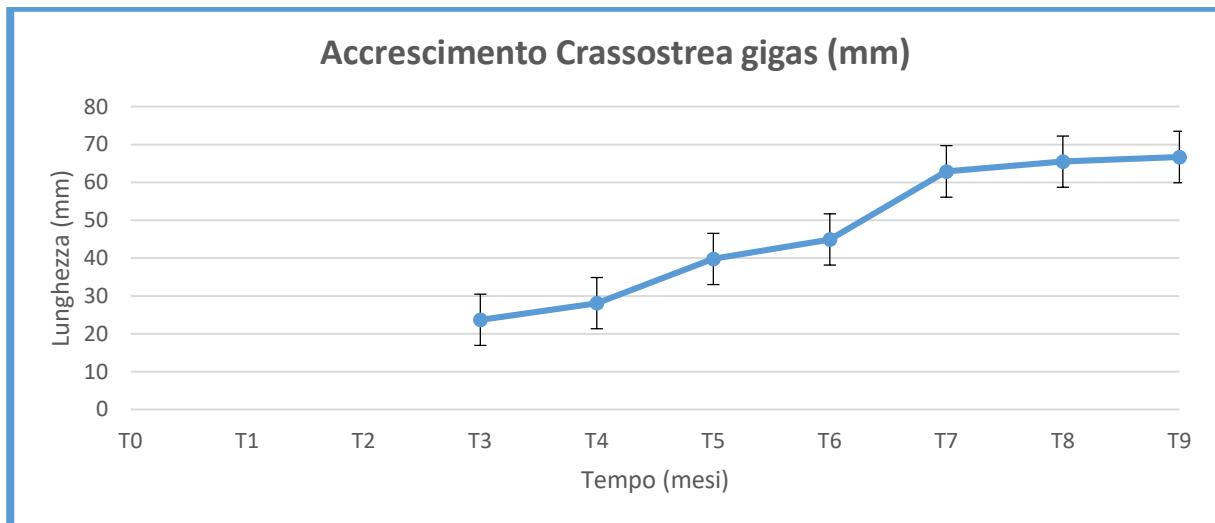


Fig. 9 Andamento medio del parametro lunghezza della conchiglia in *Crassostrea gigas* dal 6 maggio 2019 all'11 novembre 2019, nello stagno di Calich.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Il rilevamento dell'incremento ponderale degli individui di *Crassostrea gigas* allevati è stato svolto per un periodo di circa 9 mesi, a partire dai 0,19 grammi di peso medio del seme immesso nello stagno in data 31 gennaio 2019 fino al raggiungimento del peso medio di circa 60 g in data 11 novembre 2019. Analizzando i dati medi rilevati mensilmente e osservando il grafico di Fig. 10 si possono distinguere 2 fasi di accrescimento, la prima invernale-primaverile della durata di circa 4 mesi caratterizzata da un incremento medio mensile pari a 0,9 grammi e la seconda estivo-autunnale caratterizzata da un incremento medio mensile pari a 11 grammi.

**Accrescimento *Crassostrea gigas* (g)**

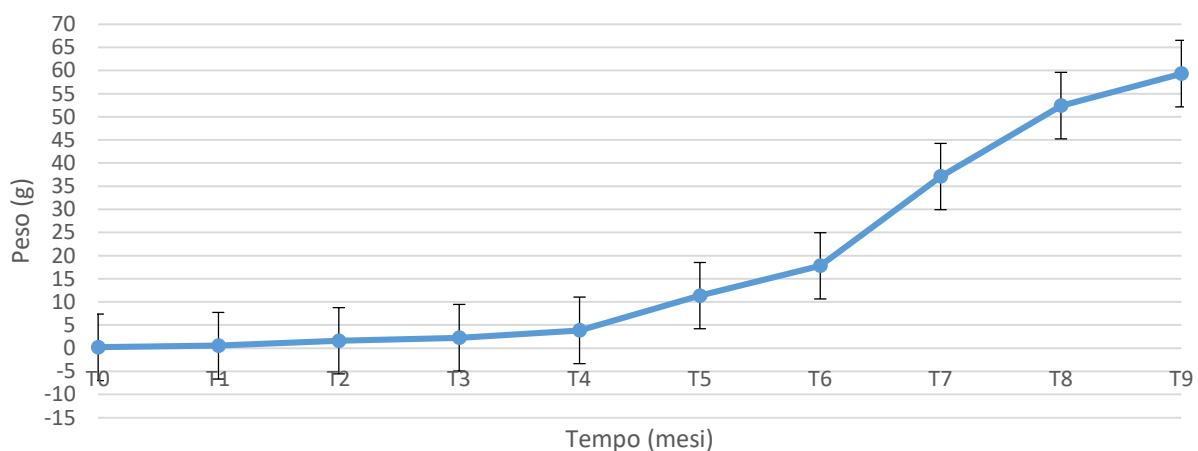


Fig. 10 Andamento del peso totale medio in *Crassostrea gigas*

## Bibliografia

Elliott M., Hemingway K.L., (eds.), 2002. *Fishes in estuaries*. Blackwell Science, Oxford, U.K.

Mc Lusky D.S., Elliott M., 2004. *The estuarine ecosystem*. Oxford University Press, 214 pp.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

## Rapport de AGRIS Sardaigne

L'état de nombreux stocks de poissons marins est intimement lié à l'état de santé des milieux aquatiques de transition, tels que les étangs et les lagunes. Ceux-ci sont en effet caractérisés par une productivité élevée liée aux importants apports nutritionnels externes (bassin versant et marées), internes et dérivants de productions primaires par des macrophytes, microfites benthiques et phytoplancton (Mc Lusky et Elliott, 2004).

De nombreuses espèces néctoniques ont adapté leurs cycles biologiques, en particulier les phases juvéniles, afin de maximiser l'exploitation des importantes ressources trophiques qui se rendent disponibles à l'intérieur de ces environnements (Elliott et Hemingway, 2002).

Ce sont surtout les environnements de transition tels que les étangs et les lagons qui accueillent en grand nombre les juvéniles d'espèces néctoniques marines qui, grâce à ces environnements, peuvent, une fois qu'ils se sont développés, compléter leur cycle biologique en retournant en mer. Par conséquent, la perte de ces écosystèmes constitue l'un des principaux risques pour la durabilité des activités halieutiques, en particulier dans les régions caractérisées par une grande extension des environnements de transition (Schmitter, 1999).

En Italie, de grandes surfaces de zones humides saumâtres ont été perdues par le passé en raison d'interventions anthropiques nécessaires à des fins de santé publique (assainissement anti-malaria) ou de conversion des sols à usage agricole (assainissement foncier) (Rossi et al., 1999).

Dans ces conditions, la conservation de ces environnements de transition, soutenue par des réglementations nationales et de la Communauté européenne, est absolument nécessaire, non seulement pour la sauvegarde de la biodiversité, mais afin de garantir dans le temps la durabilité des prélèvements halieutiques (Water Frame Directive 2000/60/CE), possible avec une intégration des pratiques traditionnelles de pêche avec des pratiques aquacoles.

Au niveau mondial, l'aquaculture est le secteur de la production alimentaire qui présente la plus forte tendance à la croissance. En effet, la production mondiale d'aquaculture s'élevait à 1 million de tonnes en 1950, alors qu'aujourd'hui elle s'établit autour de 50 millions de tonnes (67% Chine) et on prévoit qu'en 2030 elle pourra atteindre 85 millions de tonnes. Selon l'ISMEA dans le bilan du secteur de la pêche

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

2013, en Italie en 2012 les produits de l'aquaculture ont représenté en volume 49,6% de la production halieutique totale nationale (204000 tonnes). La production se concentre en particulier sur cinq espèces : truites, bars, dorades piscicoles; moules et palourdes vénérables conchyliques. Selon les données de l'Association Pisciculteurs Italiens, la part prédominante est constituée par la conchyliculture (65%) et, dans le domaine de celle-ci, la mytiliculture a le poids le plus grand avec plus de 76% des quantités produites, contre 24% de la culture de la vigne.

La pisciculture joue cependant un rôle important en ce qui concerne la valeur du produit qui représente 66% du total : la truite représente 39% des revenus totaux, suivie par l'élevage des espèces eurhaline (environ 20% de dorade et 18% de bars). En moyenne, 12% des protéines de notre alimentation proviennent de la consommation de produits de la mer qui représentent également une importante source d'acides gras, de vitamines et de minéraux, indiqués pour la prévention des maladies cardiaques. L'augmentation de la consommation de produits de la pêche de l'aquaculture italienne découle également de considérations intéressantes : continuité des approvisionnements; salubrité du produit, entendue comme teneur en protéines nobles et en graisses "bonnes"; qualité élevée de nos poissons par rapport à ceux produits dans d'autres pays, due principalement à l'environnement d'élevage et aux aliments pour animaux utilisés (il existe un lien étroit entre la qualité des eaux d'élevage et de produit). Ces dernières années, l'aquaculture italienne s'est également caractérisée par une importante diversification en termes de systèmes de production et de technologies adoptées, en ligne avec les diversités géographiques et environnementales du territoire. En outre, les opérateurs et les consommateurs sont davantage sensibilisés aux aspects environnementaux des pratiques aquacoles. D'où la nécessité de garantir, dans l'ensemble de la chaîne de production, outre les aspects liés à la qualité et à la sécurité alimentaire, ceux liés à la protection de l'environnement et de l'écosystème par l'utilisation de techniques d'élevage innovantes.

Le développement d'une industrie aquacole plus compétitive et plus respectueuse de l'environnement est un objectif prioritaire des financements européens, tant par le biais du Fonds européen pour la pêche (FEP) que dans le cadre des programmes de recherche de l'UE. En 2009, la Commission a proposé une stratégie pour l'avenir de l'aquaculture européenne qui repose sur trois éléments clés :

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

aider le secteur à devenir plus compétitif en soutenant fortement la recherche et le développement, en améliorant l'aménagement du territoire le long des zones côtières et des bassins fluviaux et en accordant des aides spécifiques par le biais de la politique du marché de la pêche de l'UE;

assurer la durabilité en maintenant des méthodes de production respectueuses de l'environnement et des normes élevées en matière de santé et de bien-être des animaux et de protection des consommateurs;

améliorer la gestion et assurer des conditions favorables aux entreprises à tous les niveaux (local, national et européen) pour permettre au secteur de réaliser pleinement son potentiel.

Les différents documents rédigés par la Commission européenne ces dernières années mettent en évidence que "la conchyliculture est la principale activité productive de l'aquaculture nationale, basée presque exclusivement sur l'élevage des moules (*Mytilus galloprovincialis*) et de la palourde de Philippine (*Ruditapes philippinarum*)".

Par contre, l'ostréiculture est encore une pratique peu pratiquée en Italie et est, le plus souvent, une activité associée seulement marginalement à la mytiliculture (Rossi et al., 2001).

L'application de modèles d'introduction et de rationalisation de la filière de production de moules et d'huîtres peut constituer un bon support pour la récolte de mollusques bivalves vénériens presque exclusivement sur des bancs naturels.

Au niveau local, ce projet trouve sa principale motivation dans la forte demande de produits de la pêche de haute valeur économique par le marché intérieur et dans la vocation du site choisi pour les activités conchyliologiques.

En outre, les mollusques bivalves, et en particulier les moules et les huîtres, sont de puissants filtres (un individu adulte peut filtrer jusqu'à 60-80 litres d'eau en une journée, avec une efficacité de filtration pouvant atteindre 90 % pour les particules en suspension de 2-5 µm) pourraient apporter une contribution importante à la clarification des eaux lagunaires qui refluvent naturellement dans le golfe surplombant, en créant surtout pendant la période estivale des épisodes désagréables de marées jaunes (floraison d'algues) qui créent des embarras parmi les voyageurs locaux.

Dans ce contexte, la réalisation des différentes activités prévues peut apporter de nombreux avantages tant du point de vue économique que du point de vue de l'emploi et de l'environnement. En particulier

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

on pourra structurer une nouvelle filière locale inhérente à la production de *Mytilus galloprovincialis* et *Crassostrea gigas* avec garantie de traçabilité du produit, caractéristique actuellement très demandée du marché.

En résumé, ce projet contribue à l'intégration et à la diversification des pratiques halieutiques traditionnelles déjà en cours dans la lagune en améliorant les niveaux de production et, partant, les niveaux d'emploi, en valorisant et en développant les productions lagunaires au moyen de techniques innovantes à bas coût totalement respectueuses de l'environnement.

## Objectifs

Le projet prévoyait l'élevage, selon un système traditionnel, de la moule *Mytilus galloprovincialis* et de l'huître concave, *Crassostrea gigas*, grâce à une technologie plus récente mise au point par l'Agris Sardaigne.

Les objectifs généraux de l'activité de recherche ont consisté à:

- évaluer le potentiel de production conchylicole;
- rationaliser la gestion productive de cet environnement marin côtier par l'application de systèmes d'élevage de mollusques bivalves;
- contribuer à la conservation de l'environnement lagunaire par l'application de pratiques aquacoles respectueuses de l'environnement.
- transférer des techniques et des technologies connues et éprouvées dans le domaine de l'aquaculture de mollusques bivalves.

En particulier, les objectifs scientifiques spécifiques de cette première phase d'étude, ont été axés sur la mise au point d'un protocole ad hoc pour l'élevage de mollusques bivalves dans l'étang de Calich et sur l'évaluation des potentialités productives de ces pratiques aquacoles en vue de définir des modèles de production écologiques compatibles, pour la valorisation des ressources de la lagune elle-même.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## Matériaux et méthodes

L'élevage des moules a été effectué, en culture suspendue, sur une petite installation type "Trieste" composée de 2 individus "ventie" (cime), droites par des pieux de bois fixés profondément dans le sédiment boueux et affleurant de l'eau pendant environ 1 mètre (fig. 1), réalisé ad hoc et installé dans le tronçon de lagune compris entre Punta San Gialmini et Punta Fighera. Les huîtres concaves ont été placées dans des poches, fixées à un système de flottaison mis au point par les chercheurs du Service des Ressources Halieutiques de l'Agris et construit par une société spécialisée, fixée également aux sommets de l'installation décrite (fig. 2).

Les spécimens de *Mytilus galloprovincialis* utilisés pour l'expérimentation ont été achetés dans un élevage présent dans le golfe d'Olbia, tandis que la graine de *Crassostrea gigas* a été achetée chez un schiudier français (fig. 3).

Les moules ont été "greffées" dans 60 filets d'une longueur de 80 cm, constitués d'une chaussette en matière plastique d'une maille de 38 mm, tandis que, les 650 huîtres dans 4 poches de 1 x 0,5 m avec un maillage de 0,5 cm à la densité de 165 individus par poche et un échantillon statistiquement représentatif (90 individus) pour la détermination des caractéristiques morphométriques a été prélevé sur l'ensemble de la biomasse initiales (T0) :

- longueur,
- largeur,
- poids total

L'élevage des moules a commencé en décembre 2018 et a duré jusqu'en juillet 2019, en utilisant la technique exposée précédemment. Afin d'éviter l'attaque des mollusques par des prédateurs tels que la dorade et les sars, les restes individuels ont été "placés" dans un cylindre constitué d'un réseau de polyéthylène du type utilisé en agriculture (Fig. 4). Ce système s'est avéré plus rationnel que le positionnement de filets de protection périphériques qui auraient nécessité un travail de nettoyage particulièrement lourd pour les pêcheurs de la coopérative.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Les principaux paramètres physicochimiques de l'eau (température, salinité, pH, oxygène dissous et chlorophylle) ont été relevés à la station d'élevage à intervalles mensuels au moyen d'une sonde multiparamétrique Hydronaut OCEAN SEVEN 316 Plus CTD (Fig.5).

En ce qui concerne l'évaluation de la croissance des moules, des échantillonnages mensuels ont été effectués sur les différents types de moules. Dix individus de *Mytilus galloprovincialis* par échantillon ont été prélevés sur chaque individu prélevé à l'aide d'un calibre électronique de précision d'une sensibilité de 0,1 mm et d'une balance technique ( 1 mg) pour chaque échantillon (Fig. 6), les paramètres morphométriques suivants ont été relevés :

ou longueur (axe antéro-postérieur maximal); ou largeur (axe dorso-ventral maximal);  
ou poids total; La biomasse d'huîtres utilisée pour la préparation des poches était d'environ 0,125 kg.

Ensuite, un échantillon statistiquement représentatif (90 individus) a été prélevé sur l'ensemble de la biomasse pour la détermination des caractéristiques morphométriques initiales (T0) : longueur, largeur, poids total.

L'élevage de l'huître concave a été effectué de janvier à novembre 2019, en utilisant la technique exposée précédemment.

Les principaux paramètres physicochimiques de l'eau (température, salinité, pH, oxygène dissous et chlorophylle) ont été relevés à la station d'élevage à intervalles mensuels au moyen d'une sonde multiparamétrique Hydronaut OCEAN SEVEN 316 Plus CTD (Fig.5).

En ce qui concerne l'évaluation de la croissance des huîtres, des échantillonnages de conservation ont été effectués chaque mois sur les quelques unes d'entre elles. Pour chaque échantillonnage, 25 individus de *Crassostrea gigas* ont été prélevés sur un petit nombre et sur chaque individu prélevé, à l'aide d'un calibre électronique de précision d'une sensibilité de 0,1 mm et d'une balance technique ( 1 mg) (Fig. 6), les paramètres morphométriques suivants ont été relevés :

ou longueur (axe antéro-postérieur maximal); ou poids total; Résultats

#### Paramètres hydrologiques

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Pendant l'expérimentation, effectuée, en ce qui concerne l'élevage de moules du 5 décembre 2018 au 1er juillet 2019 et en ce qui concerne l'huître concave du 4 mars 2019 au 11 novembre 2019, elle a été menée, avec une fréquence mensuelle, une campagne de surveillance des paramètres physicochimiques de l'eau, afin de suivre les variations des conditions environnementales d'élevage et leurs éventuelles répercussions sur les performances de croissance des mollusques d'élevage.

Le tableau 1 présente les valeurs de température, de salinité, d'oxygène dissous, de concentration de chlorophylle a et de pH de l'eau, enregistrées au moyen d'une sonde multiparamétrique au niveau de la station d'essai.

L'analyse des données enregistrées pendant la période d'essai montre que les valeurs de salinité, d'oxygène dissous et de pH sont parfaitement adaptées aux plages souhaitables pour des environnements à finalité zootechnique. En effet, ce n'est que pendant de courtes périodes que les paramètres susmentionnés ont montré des variations significatives qui pourraient être mises en relation avec la réduction des taux d'accroissement et d'augmentation des taux de mortalité. Ceux-ci apparaissent en effet presque toujours dans les limites de survie des espèces élevées. La chlorophylle est un paramètre fondamental pour évaluer la portance de l'environnement d'élevage. Celle-ci, pendant une bonne partie de l'année (printemps-été et automne) a enregistré des valeurs comprises entre 3,4 et 9,4 µgl<sup>-1</sup>, qui représentent la valeur ajoutée de cet environnement. En effet, les valeurs enregistrables pendant les mêmes périodes dans la plupart des lagunes tyrrhénienes se révèlent sensiblement inférieures. Les données enregistrées durant cette campagne confirment essentiellement celles enregistrées dans le passé lors d'autres expérimentations (Serra et al. 2011).

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Tab.1 Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques de l'eau enregistrées, sur 3 bathymétriques, pendant l'essai.

date	profondeur	température	salinité	oxygène	Chlorophylle	pH
	cm	°C	psu	dissous mg l <sup>-1</sup>	a µg l <sup>-1</sup>	
03/12/2018	30	13,5	4,4	8,2	1,29	7,7
	60	15,4	31,9	6,4	1,34	7,4
	100	16,5	34,5	5,6	0,64	7,6
07/01/2019	30	10,9	16,0	4,3	0,39	8,2
	60	13,2	32,5	3,8	0,64	8,1
	100	13,8	35,6	3,7	0,48	8,1
04/02/2019	30	10,7	1,8	4,4	1,31	7,9
	60	10,7	1,8	4,4	1,3	7,9
	100	12,2	26,1	3,5	1,3	7,6
04/03/2019	30	14,8	17,7	6,9	1,67	8,2
	60	14,8	18,3	7,1	1,95	8,2
	100	14,5	33,5	6,5	2,3	8,2
01/04/2019	30	19,8	18,6	5,2	1,37	8,5
	60	17,0	32,3	6,3	3,41	8,6
	100	16,5	34,0	6,9	1,15	8,5
06/05/2019	30	14,0	23,4	7,2	0,71	9,0
	60	14,0	23,5	7,0	0,71	9,0
	100	13,9	23,7	6,6	0,98	8,9
03/06/2019	30	20,5	28,9	11,4	2,73	8,3
	60	17,9	36,3	12,8	3,54	8,1
	100	17,9	36,7	12,0	1,09	8,0
01/07/2019	30	30,1	31,1	7,1	5,42	8,0
	60	28,2	32,6	7,4	6,84	8,0
	100	26,2	36,3	6,9	8,68	7,8

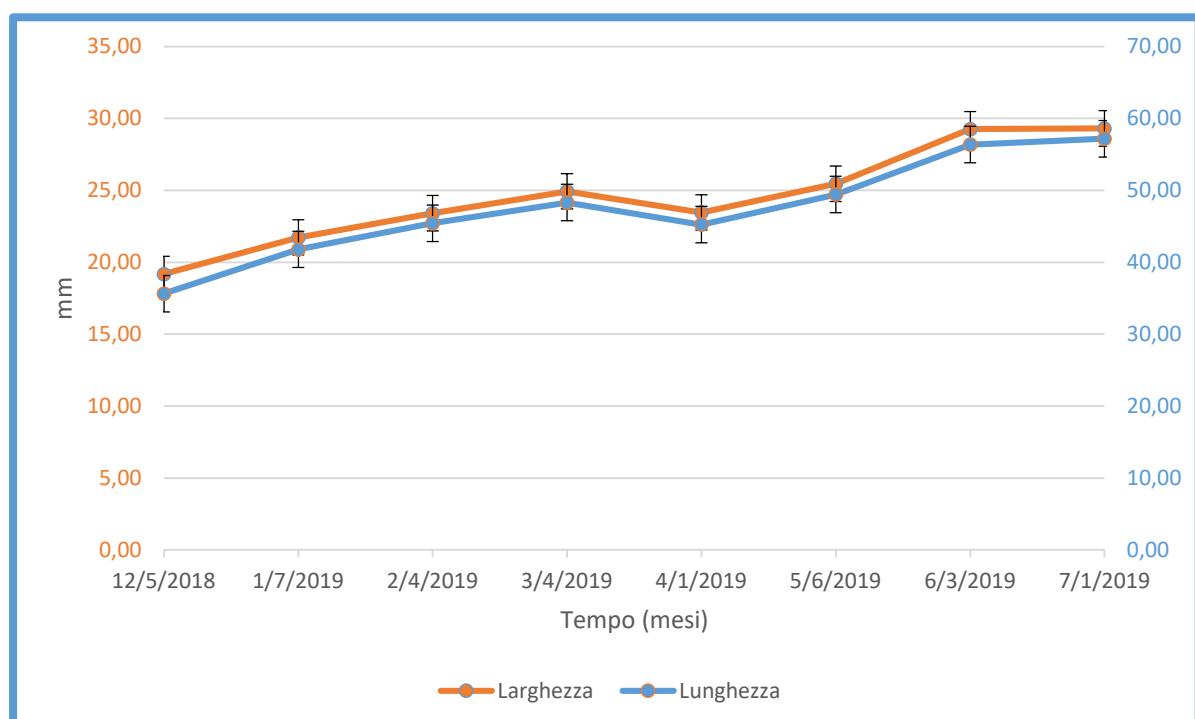
La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

29/07/2019	30	25,7	33,8	5,89	n.r.	7,9
	60	25,7	33,8	5,78	n.r.	7,9
	100	25,7	34,0	5,61	n.r.	7,9
02/09/2019	30	25,5	32,2	10,31	n.r.	8,18
	60	25,5	35,5	9,27	n.r.	8,08
	100	25,5	37,6	7,2	n.r.	7,96
11/10/2019	30	19,6	23,6	6,7	n.r.	8,1

## Résultats

Paramètres morphométriques de *Mytilus galloprovincialis*

La figure 7 présente l'évolution des paramètres longueur et largeur, au cours de la période allant du 1er décembre 2018 au 1er juillet 2019, compte tenu de l'évolution des valeurs moyennes enregistrées. En juillet, les eaux du Calich ont dépassé les 28 degrés (voir thermographie p. ) entraînant la mort des colonies de *Mytilus galloprovincialis*, raison pour laquelle l'expérimentation n'a été poursuivie que sur *Crassostrea gigas*.



La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Fig. 7 Evolution des paramètres longueur et largeur pendant les 7 mois d'élevage expérimental dans *Mytilus galloprovincialis*, dans l'étang de Calich.

On peut noter que jusqu'à Mars, l'augmentation de ces paramètres a été significative avec un +17% en Décembre, +9% en Janvier et +6% en Février en ce qui concerne la longueur et + 13,5% en Décembre, +7,7% en Janvier et + 6,5% en Février pour la largeur. Par contre, au cours du mois suivant, on note une diminution, quoique négligeable (-6%), dans les deux valeurs moyennes, qui est probablement due à une variabilité, liée aux opérations d'échantillonnage sur les différents restes. Par la suite, les courbes des deux paramètres évoluent presque en parallèle avec + 26% et + 25% dans les trois mois suivants, respectivement en longueur et en largeur.

En ce qui concerne le poids (Fig. 8), on peut remarquer une première phase de croissance pondérale très importante dans les 3 premiers mois (+163%), un mois de diminution, ainsi que pour les paramètres morphométriques (-19%) et une nouvelle augmentation du poids moyen à partir d'avril jusqu'à la fin de l'essai expérimental (+121%) en juillet.

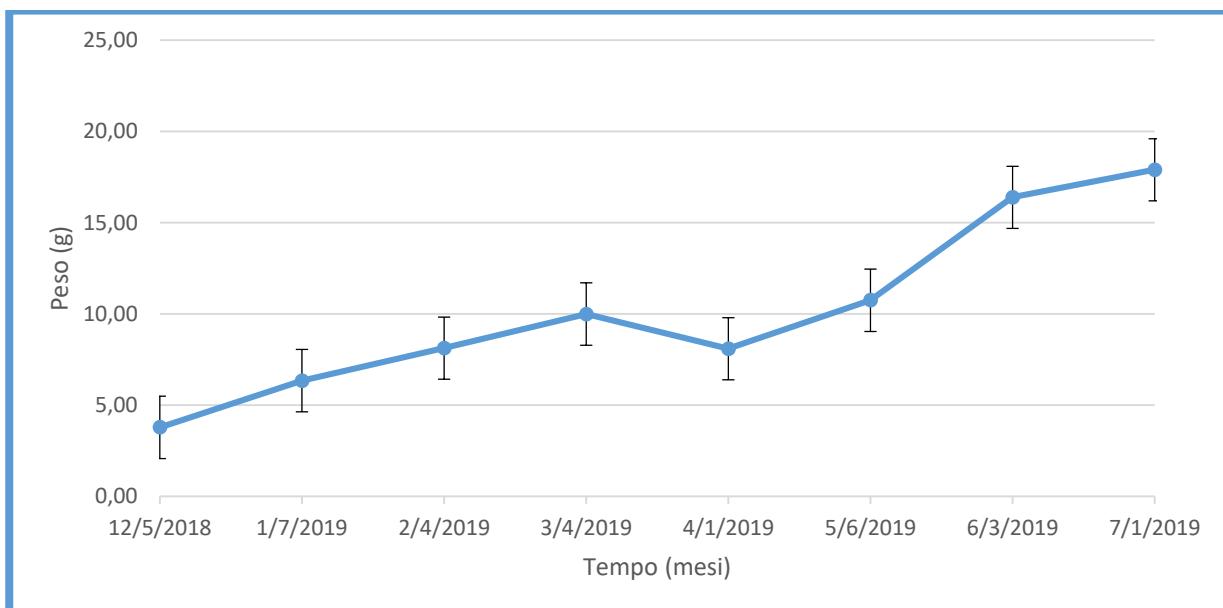


Fig. 8 Évolution du poids total moyen en *Mytilus galloprovincialis* pendant les 7 mois d'élevage expérimental dans l'étang de Calich.

En ce qui concerne le poids, la valeur maximale enregistrée pour un individu a été de 30 g à la fin de l'essai, tandis que la valeur minimale a été de 4 g.

#### Paramètres morphométriques de *Crassostrea gigas*

En ce qui concerne les performances de croissance de l'huître concave, dans le cadre de la première phase d'élevage (T0, T1 et T2), les relevés biométriques ont porté exclusivement sur le paramètre poids en raison de la fragilité de la coquille d'huîtres si petites que, si elles étaient mesurées avec un calibre, elles auraient connu une rupture du bord de la coquille, ce qui aurait entraîné une erreur de mesure non négligeable.

Par conséquent, en ce qui concerne la longueur, la collecte des données a commencé à partir du mois de mai où une valeur moyenne de 23,7 mm a été enregistrée. Dans les mois qui ont suivi, l'augmentation de la longueur a été soudaine pendant la période estivale et plutôt réduite en automne (Fig. 9). En effet, l'augmentation en pourcentage au cours des mois individuels a été de 18,5% en mai, 41% en juin, 12,9% en juillet, 40% en août, 4,1% en septembre et 1,8% en octobre. On a ainsi atteint une taille moyenne finale de 66,69 mm de longueur.

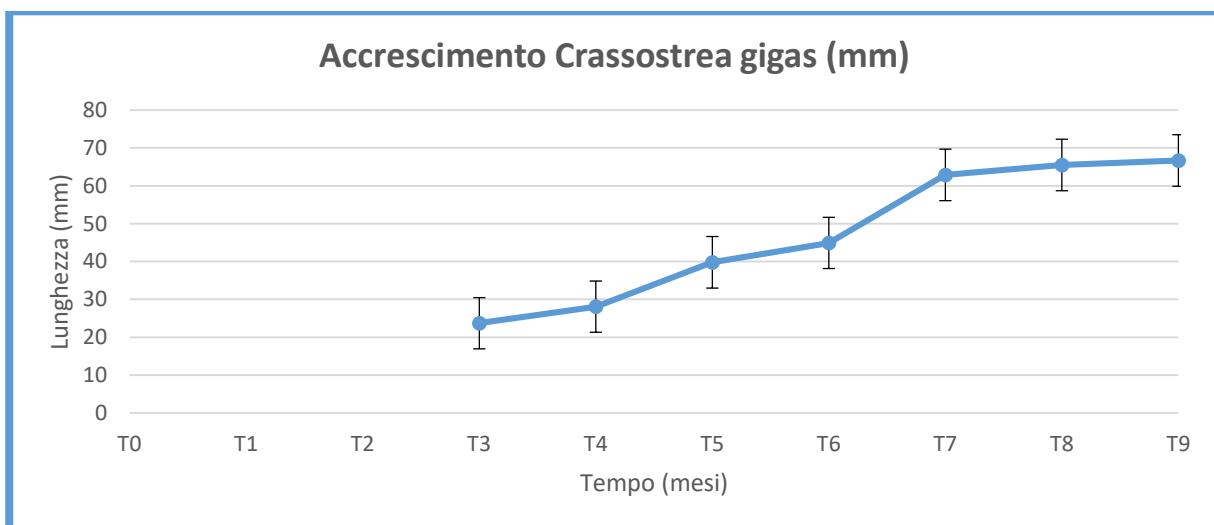


Fig. 9 Évolution moyenne du paramètre longueur de la coquille en *Crassostrea gigas* du 6 mai 2019 au 11 novembre 2019, dans l'étang de Calich.

La prise en compte de l'accroissement du poids des individus de *Crassostrea gigas* élevés a été effectuée pendant une période d'environ 9 mois, à partir de 0,19 gramme de poids moyen des graines introduites dans l'étain le 31 janvier 2019 jusqu'à ce qu'elles atteignent un poids moyen d'environ 60 g le 11 novembre 2019. En analysant les données moyennes relevées mensuellement et en observant le graphique de Fig. 10, on peut distinguer deux phases d'accroissement, la première hivernale-printemps d'une durée d'environ 4 mois caractérisée par une augmentation moyenne mensuelle de 0,9 gramme et la seconde estivale-d'automne caractérisée par une augmentation mensuelle moyenne de 11 grammes.

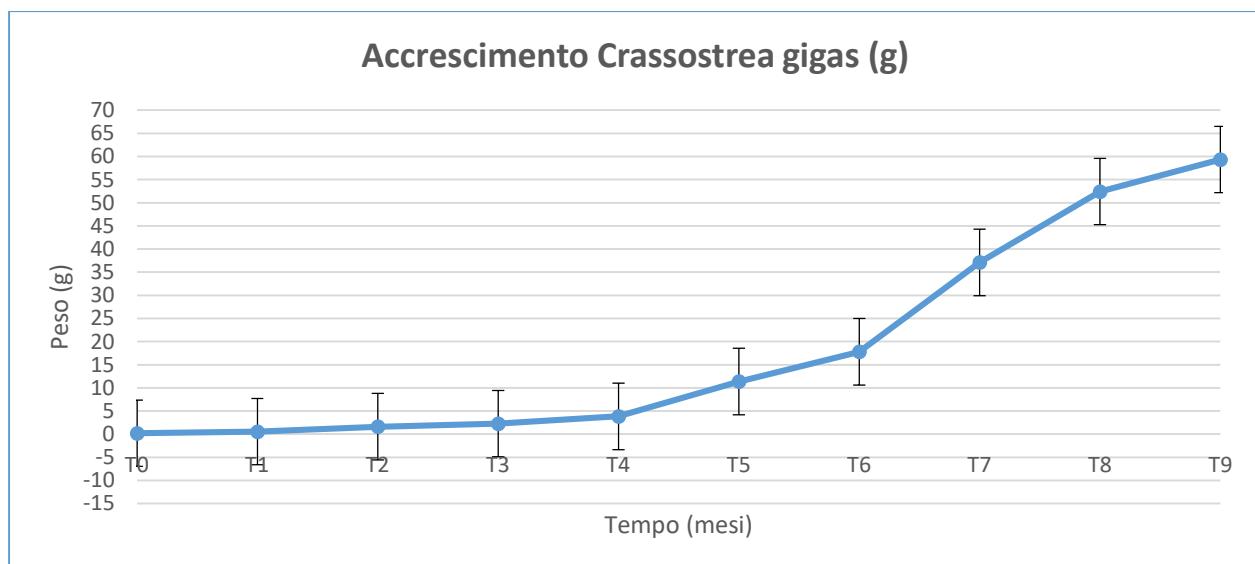


Fig. 10 Évolution du poids total moyen en *Crassostrea gigas*

## Bibliographie

Elliott M., Hemingway K.L., (eds.), 2002. *Fishes in estuaries*. Blackwell Science, Oxford, U.K.

Mc Lusky D.S., Elliott M., 2004. *The estuarine ecosystem*. Oxford University Press, 214 pp.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## Relazione a cura dell'ARPAS Sardegna

### 1. Premessa

Così come indicato nel protocollo d'intesa sottoscritto tra gli Enti partecipanti all'azione pilota T2.1.2. – "REALIZZAZIONE DI UNA STAZIONE SPERIMENTALE DI ALLEVAMENTO BIVALVI", ARPAS esercita funzioni di controllo delle fonti di pressione ambientali determinate dalle attività umane, monitora lo stato dell'ambiente attraverso controlli sulla qualità di diverse matrici (acqua, aria, suolo, ecc.) e fornisce supporto tecnico alla pubblica amministrazione.

In particolare, nell'ambito del seguente progetto, il Dipartimento di Sassari e Gallura ha svolto una caratterizzazione preliminare della matrice acqua eseguendo campionamenti trimestrali finalizzati alla ricerca di metalli, nutrienti ed indicatori batteriologici quali *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*

I dati raccolti sono stati poi integrati con i risultati della campagna estiva annuale per il Piano di gestione dei reflui trattati del depuratore comunale di Alghero "S. Marco".

La tabella di seguito mostra il dettaglio dei campionamenti eseguiti.

**Tabella 1 - Profilo analitico**

Data	AMBITO	TRIMESTRE	Stazione	Acqua					
				<i>E. coli</i>	Salmonella	Nutrienti	Metalli	Sonda	
Dicembre 2018	RETRALAGS	I	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Marzo 2019	RETRALAGS	II	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Maggio 2019	RETRALAGS	III	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Giugno 2019	Pdg S. Marco		Punto 1	X	X	X		X	
Luglio 2019			Punto 1	X	X	X		X	
Settembre 2019	RETRALAGS	IV	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 1 new	X	X	X	X	X	

## 2. Risultati

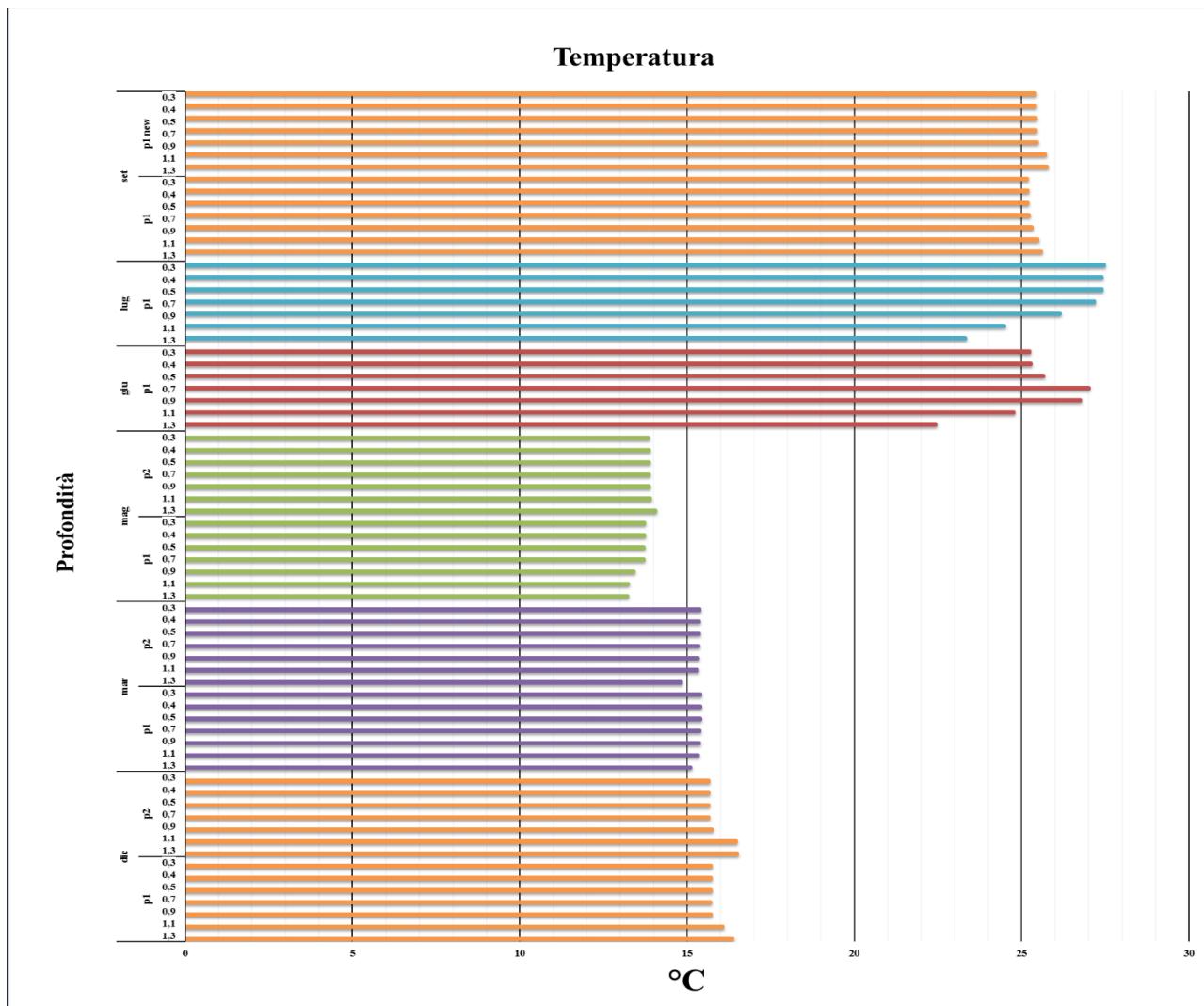
### 2.1. Parametri fisico-chimici da campo

Nel corso di ciascun prelievo sono stati eseguiti i profili di colonna mediante l'utilizzo di una sonda multiparametrica – modello EXO2 – YSI

Tale strumento permette di acquisire in continuo, lungo la verticale del profilo batimetrico, i valori dei principali parametri fisico-chimici che caratterizzano la matrice acqua. In particolar modo, nella seguente trattazione sono state prese in considerazione le seguenti grandezze fisico-chimiche:

- **Temperatura**

In generale le variazioni di temperatura influenzano la vita di ogni specie in quanto essa svolge le sue attività vitali entro il range termico al quale si è adattata. In questo modo, influenzando la quantità e la diversità della vita aquatica, la temperatura concorre in modo significativo ai cambiamenti stagionali che avvengono nel corpo idrico. In un ambiente come quello aquatics, in condizioni di contorno favorevoli al proliferare di organismi algali (es. disponibilità di nutrienti), il raggiungimento dell'optimum termico può corrispondere ad un incremento dello sviluppo del fitoplancton e delle macroalghe, con un conseguente maggior consumo di ossigeno e, nei casi più drammatici, alla comparsa di crisi distrofiche con morie di organismi aquatics. Il dettaglio dei rilievi termici eseguiti nel corso del progetto è raffigurato nell'istogramma di figura 1.



3

**Figura 1**

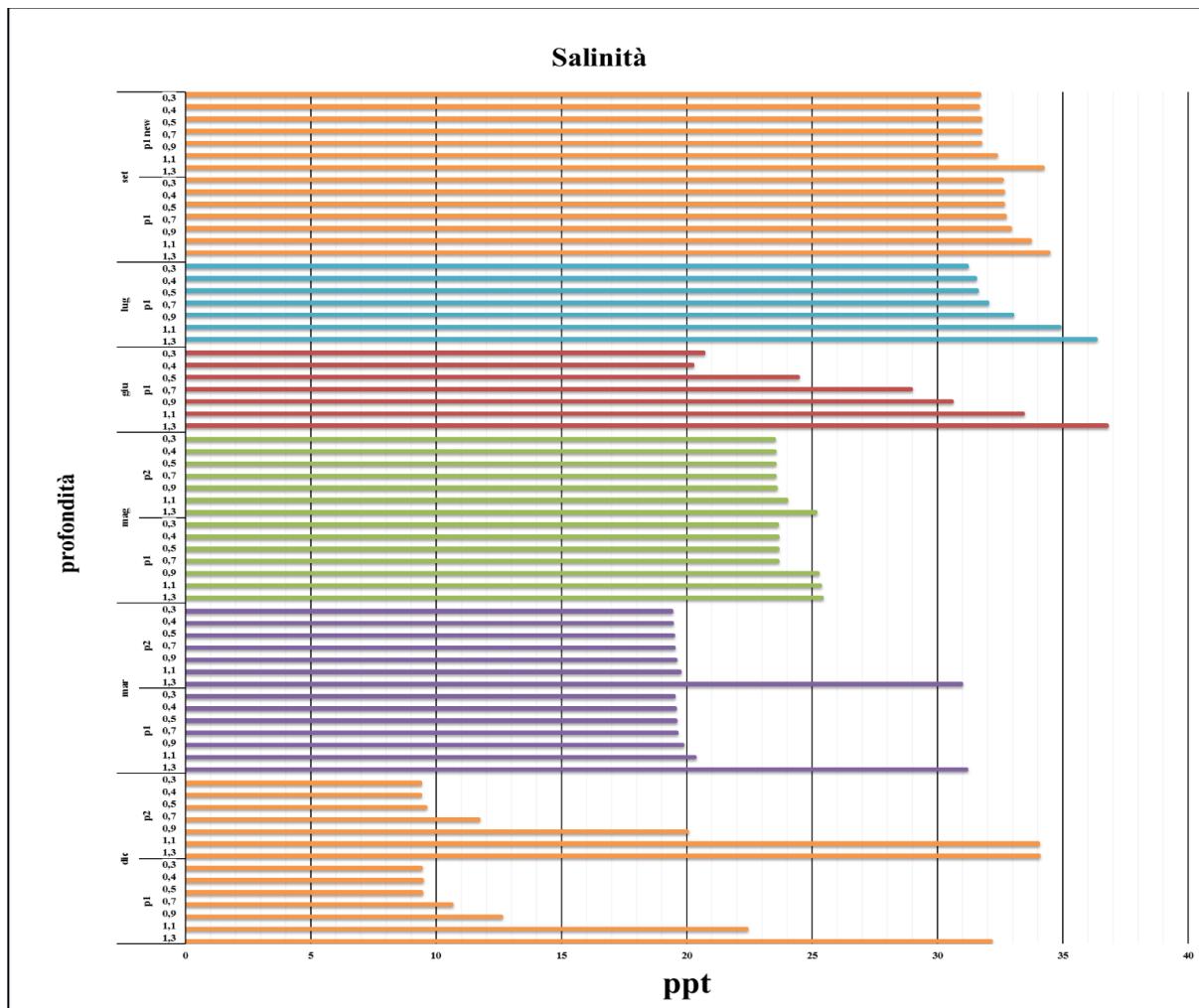
Risulta evidente una sostanziale omogeneità in colonna fino al mese di maggio, con temperature mai al di sopra dei 17 °C. Al contrario, nel corso dei mesi estivi, pur verificandosi un generale e prevedibile innalzamento termico, si evidenzia nella colonna d'acqua una diminuzione della temperatura procedendo dalla superficie verso il fondo, dovuta sia alla stratificazione termica, data dal riscaldamento degli strati superficiali a contatto con l'aria, sia dall'ingresso di acque più fresche e salate dal mare. I picchi massimi registrati sono risultati intorno ai 28°C nei mesi di giugno e luglio, in linea con quanto rilevato da ARPAS negli anni passati.

### Salinità

 La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

La salinità rappresenta uno dei parametri più rappresentativi di un ambiente come quello del Calich, definito di "transizione". Tale fattispecie comprende quei corpi idrici salmastri, originati dal mescolamento tra le acque costiere e le acque dolci dei fiumi, quali lagune, stagni costieri, laghi salmastri e zone di delta ed estuario. Le acque di transizione sono definite nel D.Lgs. 152/2006 come *"corpi idrici superficiali in prossimità di una foce di un fiume, che sono parzialmente di natura salina a causa della loro vicinanza alle acque costiere, ma sostanzialmente influenzati dai flussi di acqua dolce"*. Questa peculiarità fa degli stagni\lagune costieri, ecosistemi ad elevata produttività nei quali si selezionano specie adattate ad ampie variazioni di salinità che, come la temperatura, variando in modo significativo durante l'anno, influenza anch'essa fortemente i cambiamenti stagionali all'interno del corpo idrico. Tipicamente i nutrienti arrivano dentro il sistema nel corso dei mesi piovosi e vengono utilizzati dagli organismi vegetali quando aumentano temperatura ed irraggiamento solare. Di seguito il grafico relativo alle misure di salinità eseguite presso l'impianto pilota.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée



**Figura 2**

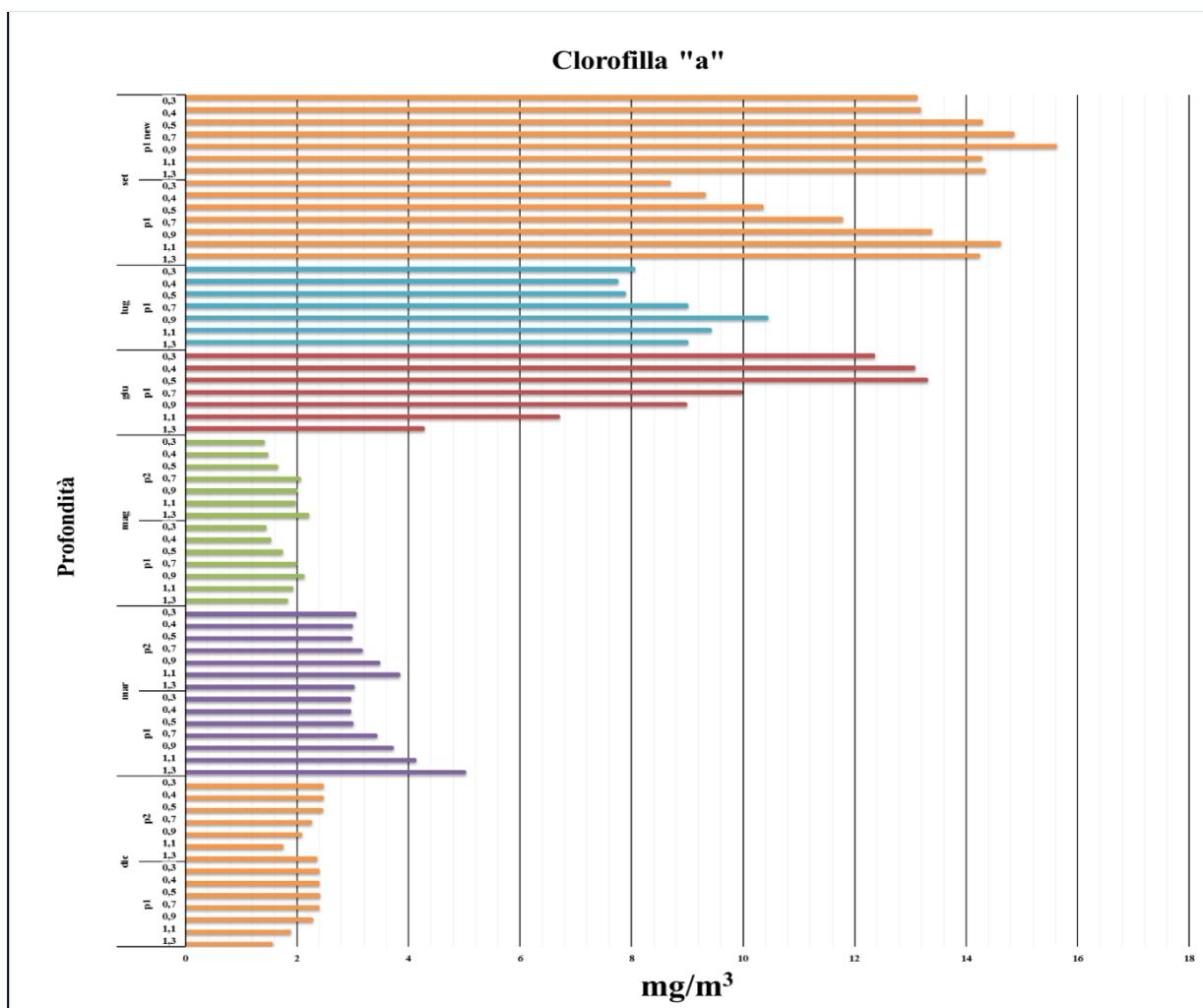
Le variazioni di salinità maggiori in colonna si evidenziano nei mesi invernali e a giugno, a seguito delle abbondanti piogge. In particolare a dicembre si registrano i maggiori apporti di acqua dolce dal bacino imbrifero, con una conseguente stratificazione di acque a bassa salinità in superficie e acque saline sul fondo, con variazioni di quasi 25 ppt. Fatta eccezione per il prelievo di maggio, la costante presenza di acqua ad elevata salinità negli strati profondi è da ricondurre all'apporto delle acque saline in arrivo dalla foce a mare che si stratificano sul fondo, in virtù della loro maggiore densità rispetto alle acque dolci. In generale sono stati evidenziati aumenti di salinità anche in superficie con la fine del periodo piovoso e con il contestuale aumento di temperatura (strati superficiali intorno a 32 ppt a fronte di una salinità media dell'acqua di mare pari a circa 37-38 ppt).

## La cooperazione al cuore del Mediterraneo La coopération au coeur de la Méditerranée

- **Clorofilla "a"**

La clorofilla "a", pigmento fotosintetico comune a tutti gli organismi autotrofi, è un parametro fondamentale per la valutazione della produttività di un ecosistema acquatico. Essa aumenta nel mezzo con il proliferare del fitoplancton, ovvero il plancton vegetale in grado di compiere fotosintesi. Come accennato in precedenza, ciascuna specie presenta optimum in relazione ai diversi fattori ambientali; di conseguenza anche le differenti specie di fitoplancton all'interno di un corpo idrico di transizione verranno selezionate da temperatura, salinità, irraggiamento solare, disponibilità di nutrienti etc. Ciò implica che laddove una di queste variabili sia al di fuori dal range di tolleranza di una specie, eserciterà un effetto limitante sulla sua proliferazione. Nel grafico sottostante i rilievi di clorofilla eseguiti.

6



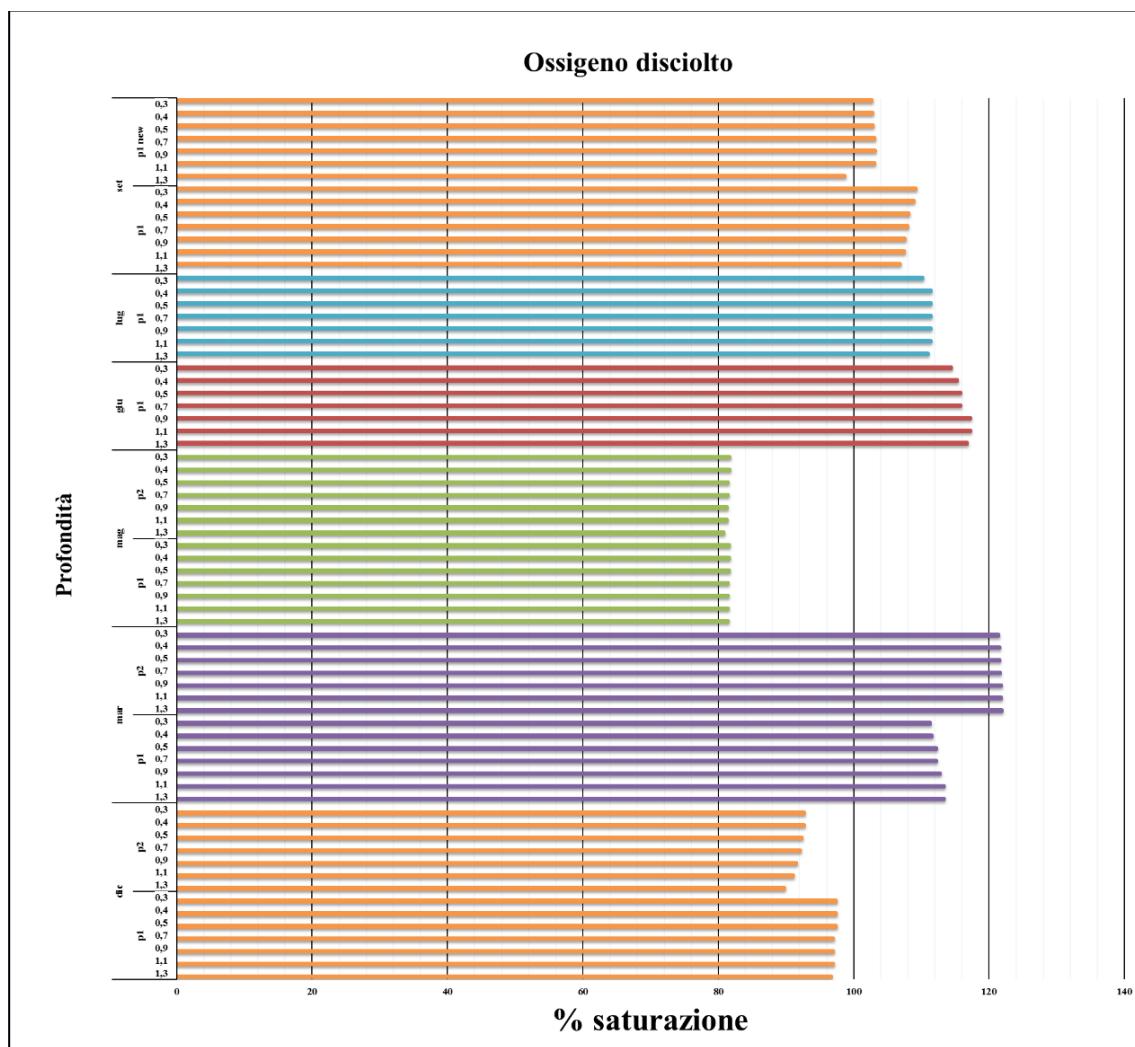
**Figura 3**

Nonostante i valori di clorofilla non siano mai scesi sotto livelli trascurabili, appare evidente come lo sviluppo della comunità fitoplanctonica sia avvenuto solo a seguito dell'aumento delle temperature occorso nel mese di giugno. Tuttavia, rispetto ai rilievi eseguiti da ARPAS in anni precedenti, le concentrazioni rilevate non hanno mai superato valori particolarmente elevati. Come vedremo successivamente, nonostante a dicembre i nutrienti siano stati rilevati in concentrazioni significative, le differenti specie microalgali non sono state in grado di utilizzarli efficacemente in quanto limitate dalle basse temperature.

### • Ossigeno dissolto

L'ossigeno dissolto è un parametro strettamente correlato alla clorofilla in quanto prodotto attraverso il processo di fotosintesi. Valori ottimali si aggirano intorno al 100% di saturazione. Una biomassa fitoplanctonica elevata determinerà uno scostamento dall'equilibrio della saturazione di ossigeno, andando a determinare condizioni di sovrassaturazione\ipersaturazione. Viceversa, un consumo di ossigeno tale da determinare iposaturazione o addirittura anossia deriva dall'utilizzo dello stesso da parte delle popolazioni batteriche che proliferano in presenza di elevata materia organica da degradare, come nel caso di fioriture macroalgali o fitoplanctoniche. Anche in questo caso l'andamento dei rilievi eseguiti è schematizzato nel seguente grafico.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée



**Figura 4**

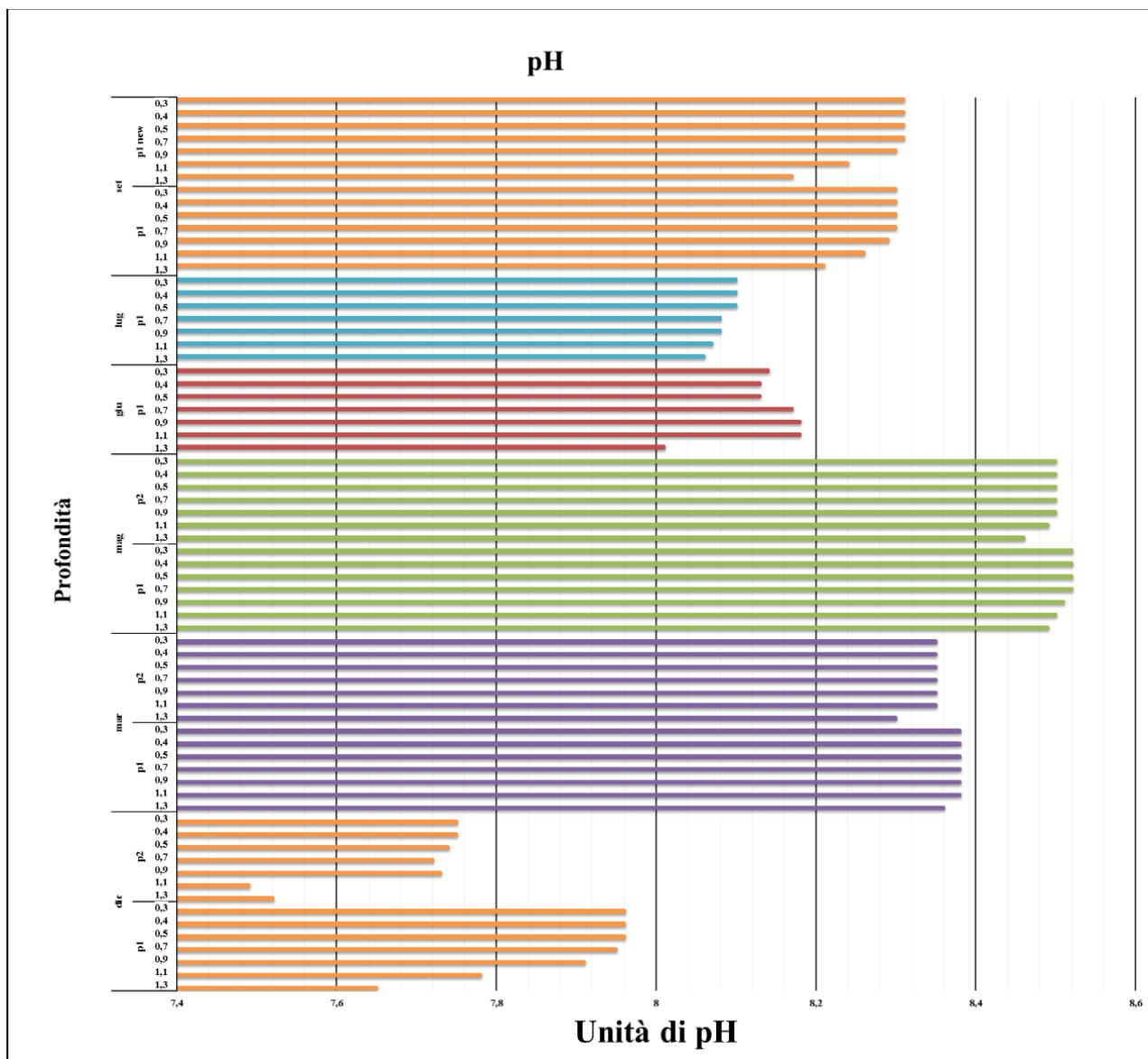
Non sono state rilevate particolari criticità a carico di questo parametro se non lievi aumenti sopra il livello del 120% a marzo e un abbassamento del tenore di ossigeno non particolarmente significativo nel mese di maggio. Entrambi gli eventi non trovano particolare riscontro nelle evidenze precedentemente discusse.

- pH

Il pH è un indice che fornisce una misura della concentrazione degli ioni idrogeno nell'acqua. In un generico corpo idrico tale grandezza varia sia in virtù di processi naturali (es. interazioni con le rocce circostanti) sia per fenomeni legati all'attività dell'uomo. Partendo dal presupposto che un'acqua di mare in un ambiente come quello del mar Mediterraneo presenta pH compreso tipicamente tra 8,1 e 8,3,

## La cooperazione al cuore del Mediterraneo La coopération au coeur de la Méditerranée

risulta evidente che in uno stagno costiero, gli scambi con il mare e gli apporti di acqua dolce saranno i due elementi che determineranno le fluttuazioni stagionali di questo parametro.



**Figura 5**

Anche in questo caso le fluttuazioni maggiori tra superficie e fondo sono state rilevate nel mese di dicembre, durante il quale l'acqua dolce in arrivo dai fiumi attraverso le piogge ha stratificato sopra la massa di acqua più salata del fondo. Nei mesi estivi invece, quando anche la salinità ha raggiunto i valori più alti, sono stati registrati pH pressoché sovrapponibili all'acqua di mare.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

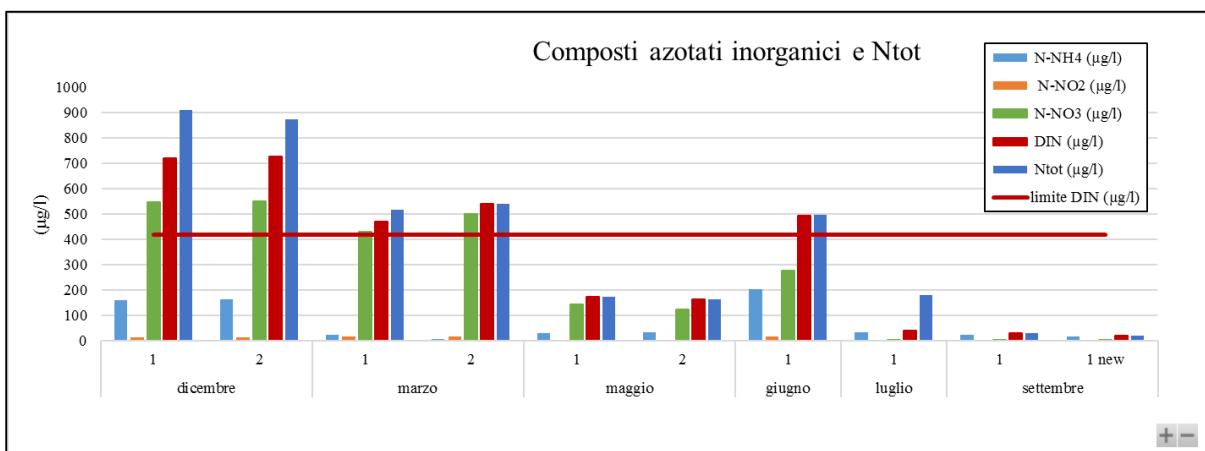
## 2.2. Nutrienti

In generale, la valutazione dello stato di qualità dei corpi idrici è disciplinata dal testo unico sull'ambiente, il D.lgs 152/06. Per le acque di transizione come il Calich è prevista la determinazione di una serie di indicatori tra cui il DIN, ovvero l'azoto inorganico dissolto dato dalla somma dell'azoto derivante da nitriti, nitrati ed ammoniaca. Nella procedura di classificazione dello stato ecologico, i valori medi annuali di DIN devono essere minori della soglia di 420 µg/l stabilita dal DM 260/2010, attuativo del TUA, per le acque con salinità media inferiore a 30 ppt come il Calich.

In Tabella 2 sono riportati i valori di ciascun analita utilizzato nel calcolo del DIN e, nell'ultima colonna i valori di azoto totale. Nei casi in cui le concentrazioni siano risultate inferiori al limite di rilevabilità corrispondente, è stata loro attribuita di default una concentrazione pari alla metà di tale valore (in blu).

**Tabella 2**

Anno	mese	punto	N-NH4 (µg/l)	N-NO2 (µg/l)	N-NO3 (µg/l)	DIN (µg/l)	Ntot (µg/l)
2018	dicembre	1	161,0	13,8	545,0	719,8	910,0
		2	163,0	13,8	550,0	726,8	872,0
2019	marzo	1	23,0	18,0	430,0	471,0	517,0
		2	< LR	18,0	499,0	524,5	541,0
2019	maggio	1	30,0	< LR	144,0	175,0	175,0
		2	35,0	< LR	125,0	163,0	163,0
2019	giugno	1	202,0	16,0	276,0	494,0	495,0
		2	< LR	< LR	< LR	42,0	179,0
2019	settembre	1	25,0	< LR	< LR	30,0	30,0
		1 new	16,0	< LR	< LR	20,0	20,0



**Figura 6**

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Il grafico in figura 6 evidenzia chiaramente l'andamento temporale dei parametri in esame. Nei periodi di maggiore apporto di acque piovane dal bacino imbrifero, si può notare come la quota prevalente del DIN sia relativa alla percentuale di nitrati, la forma di azoto inorganico immediatamente disponibile per l'assimilazione da parte degli organismi vegetali. L'andamento annuale complessivo di azoto totale, azoto organico e DIN ha mostrato come l'apporto dei nutrienti sia stato legato prevalentemente al periodo delle piogge (il valore del DIN aumenta al diminuire della salinità) e il loro utilizzo all'aumento della temperatura e dell'irraggiamento solare (diminuzione del DIN e contestuale aumento di azoto organico). Gli alti valori di ammoniaca rilevati a dicembre e a giugno fanno invece ipotizzare criticità legate all'apporto di reflui non depurati.

Anche nel caso degli ortofosfati, anch'essi nutrienti essenziali per lo sviluppo degli organismi vegetali, si evidenzia un picco nel mese di giugno che appare abbastanza isolato rispetto al trend generale.

**Tabella 3**

anno	mese	punto	P-PO4 ( $\mu\text{g/l}$ )	Ptot ( $\mu\text{g/l}$ )
<b>2018</b>	dicembre	1	192	195
		2	192	195
<b>2019</b>	marzo	1	22	51
		2	20	44
	maggio	1	201	237
		2	102	117
	giugno	1	761	770
	luglio	1	62	129
		1	3,5	3,5
	settembre	1 new	3,5	3,5

### 2.3. indagini batteriologiche

Alla stregua di quanto richiesto dalla normativa di riferimento per le acque adibite all'allevamento di molluschi bivalvi, ARPA ha eseguito analisi in riferimento ad *E. coli* e *Salmonella spp.*, entrambi indicatori di inquinamento organico tipico di reflui fognari.

A conferma di quanto ipotizzato in precedenza, concentrazioni significative di *E. coli* sono state rilevate solo contestualmente ai picchi di ammoniaca di dicembre e giugno, confermando l'ipotesi di criticità legate all'apporto di reflui fognari. Si sottolinea inoltre la presenza di *Salmonella spp.* nel campionamento di dicembre nel solo punto 1, ad indicare una criticità al limite della rilevabilità.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

**Tabella 4**

Anno	mese	punto	E. coli (ufc/100ml)	Salmonella spp. (pres-ass/l)
2018	dicembre	1	660	presente
		2	350	assente
2019	marzo	1	0	assente
		2	0	assente
2019	maggio	1	0	assente
		2	6	assente
	giugno	1	130	ND
	luglio	1	4	ND
	settembre	1	0	assente
		1 new	0	assente

12

#### 2.4. Metalli

Sempre in riferimento a quanto stabilito dalla normativa di riferimento per la caratterizzazione delle acque adibite alla molluscoltura, è stata eseguita una caratterizzazione preliminare relativa alla presenza di metalli disciolti, con particolare riferimento a quelli indicati dal D.Lgs 172/15 per lo stato di qualità ambientale dei corpi idrici. I risultati non hanno mostrato alcuna criticità, con concentrazioni dei differenti analiti pressoché sempre al di sotto dei rispettivi limiti di rilevabilità, fatta eccezione per l'arsenico, comunque sempre sotto gli standard di qualità medi annui stabiliti dalla norma.

**Tabella 5**

Anno	mese	punto	Cd ( $\mu\text{g/l}$ )	Pb ( $\mu\text{g/l}$ )	Cr tot ( $\mu\text{g/l}$ )	Hg ( $\mu\text{g/l}$ )	Ni ( $\mu\text{g/l}$ )	As ( $\mu\text{g/l}$ )	
2018	dicembre	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	< 1	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.00	< 2.5	< 1	
2019	marzo	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,06	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,80	
2019	maggio	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,84	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,11	
	settembre	1	< 0.2	0,95	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,67	
		1 new	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,63	
<b>Standard di qualità ambientale_Media Annuia</b>			0,2	1,3	4	/	8,6	5	
<b>Standard di qualità ambientale_Concentrazione Massima Ammissibile</b>			0,45	14	/	0,07	34	/	

 La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

## Rapport de l'ARPAS Sardaigne

### 1. Préambule

Comme indiqué dans le protocole d'accord signé entre les organismes participant à l'action pilote T2.1.2. - "CONSTRUCTION D'UNE STATION EXPÉRIMENTALE D'ÉLEVAGE BIVALVE", ARPAS exerce des fonctions de contrôle des sources de pression environnementales déterminées par les activités humaines, surveille l'état de l'environnement par des contrôles de qualité de différentes matrices (eau, air, sol, etc.) et fournit un soutien technique à l'administration publique.

En particulier, dans le cadre du projet suivant, le Département de Sassari et Gallura a effectué une caractérisation préliminaire de la matrice eau en effectuant des échantillonnages trimestriels pour la recherche de métaux, nutriments et marqueurs bactériologiques tels que Escherichia coli et Salmonella spp.

Les données recueillies ont ensuite été complétées par les résultats de la campagne d'été annuelle pour le Plan de gestion des effluents traités de la station d'épuration municipale d'Alghero "S. Marco".

Le tableau ci-dessous montre le détail des échantillonnages effectués.

Tableau 1 - Profil analytique

Data	AMBITO	TRIMESTRE	Stazione	Acqua					
				E. coli	Salmonella	Nutrienti	Metalli	Sonda	
Dicembre 2018	RETRALAGS	I	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Marzo 2019	RETRALAGS	II	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Maggio 2019	RETRALAGS	III	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 2	X	X	X	X	X	
Giugno 2019	Pdg S. Marco		Punto 1	X	X	X		X	
Luglio 2019			Punto 1	X	X	X		X	
Settembre 2019	RETRALAGS	IV	Punto 1	X	X	X	X	X	
			Punto 1 new	X	X	X	X	X	

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au cœur de la Méditerranée

## 2. Résultats

### 2.1. Paramètres physicochimiques de terrain

Au cours de chaque prélèvement, les profils de colonne ont été exécutés à l'aide d'une sonde multiparamétrique - modèle EXO2 - YSI

Cet instrument permet d'acquérir en continu, le long de la verticale du profil bathymétrique, les valeurs des principaux paramètres physicochimiques qui caractérisent la matrice eau. En particulier, les grandeurs physico-chimiques suivantes ont été prises en compte dans le traitement suivant:

- Température

En général, les variations de température affectent la vie de chaque espèce, car elle exerce ses activités vitales dans la plage thermique à laquelle elle s'est adaptée. De cette façon, en influençant la quantité et la diversité de la vie aquatique, la température contribue de manière significative aux changements saisonniers qui se produisent dans la masse d'eau. Dans un environnement tel que le milieu aquatique, dans des conditions favorables à la prolifération d'organismes d'algues (par ex. disponibilité de nutriments), la réalisation de l'optimum thermique peut correspondre à une augmentation du développement du phytoplancton et des macroalgues, et, dans les cas les plus dramatiques, l'apparition de crises dystrophiques entraînant la mort d'organismes aquatiques. Le détail des relevés thermiques réalisés au cours du projet est représenté dans l'histogramme de la figure 1.

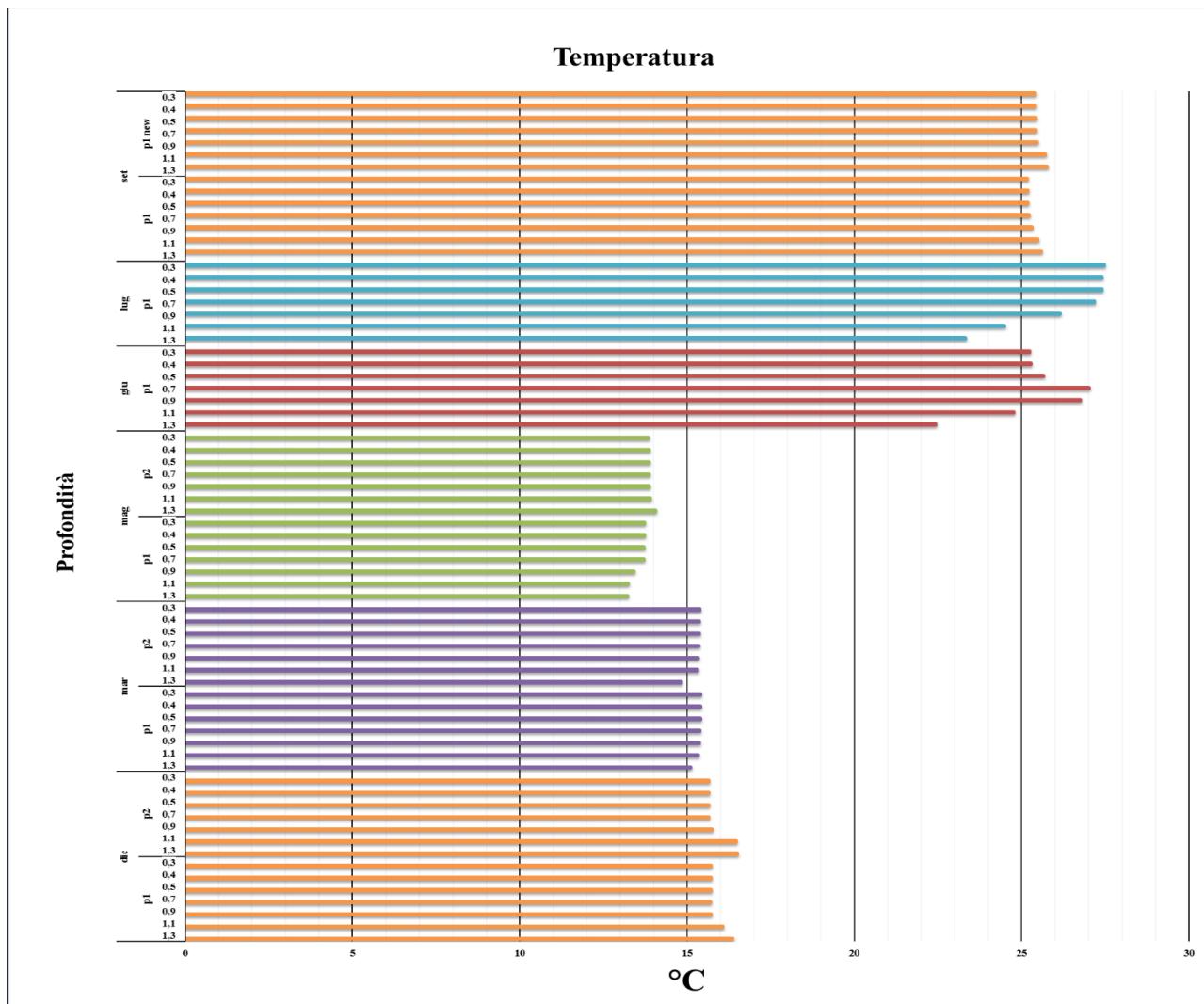


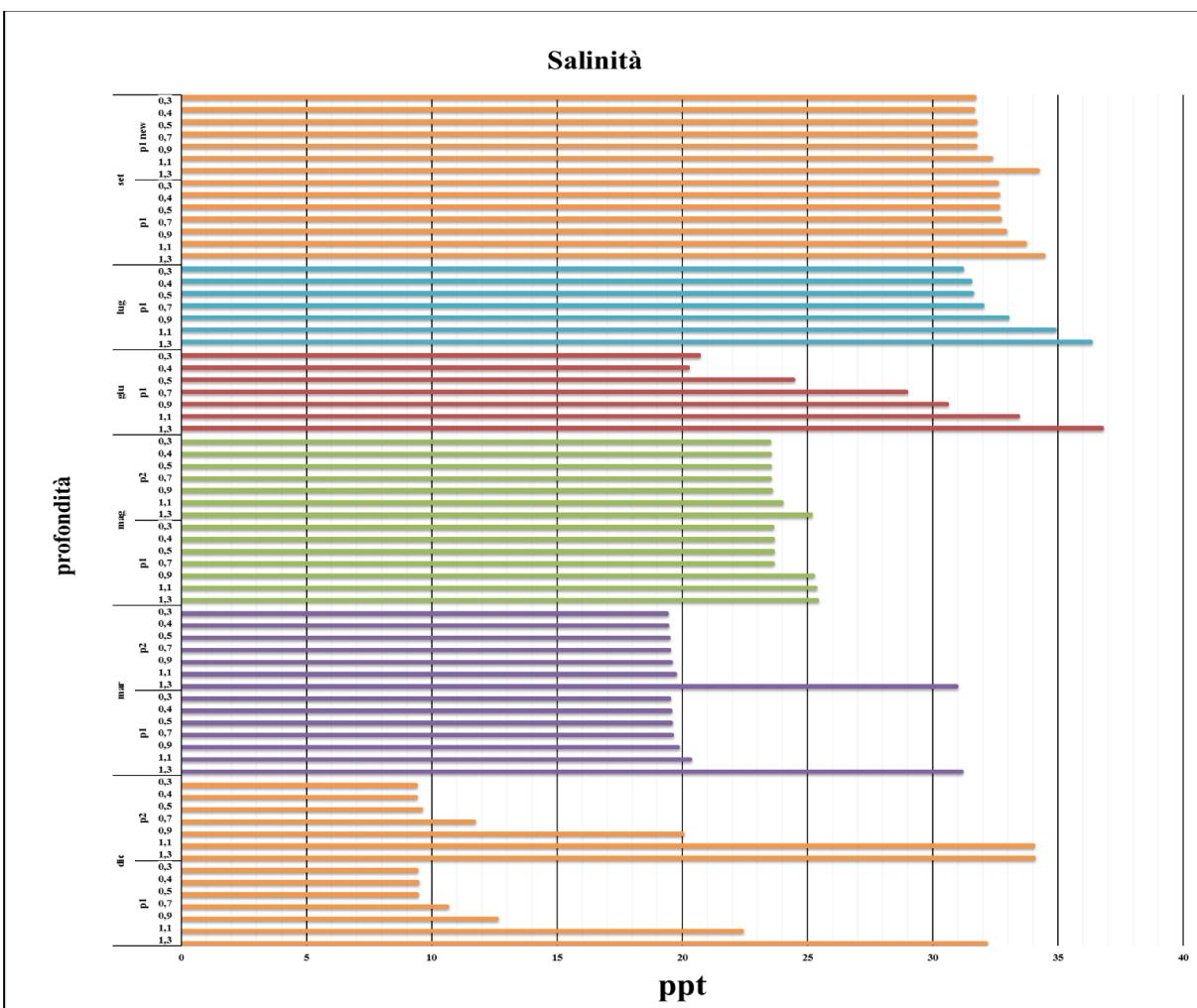
figure 1.

Il est évident une homogénéité substantielle dans la colonne jusqu'au mois de mai, avec des températures jamais au-dessus de 17 ° C. Au contraire, au cours des mois d'été, tout en se produisant une élévation générale et prévisible de la température, On remarque dans la colonne d'eau une diminution de la température en procédant de la surface vers le fond, due soit à la stratification thermique, donnée par le chauffage des couches superficielles en contact avec l'air, soit à l'entrée d'eaux plus fraîches et salées de la mer. Les pics maximaux enregistrés ont été aux alentours des 28 dB C en juin et juillet, en ligne avec ce relevé de ARPAS dans les ans passés.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## Salinité

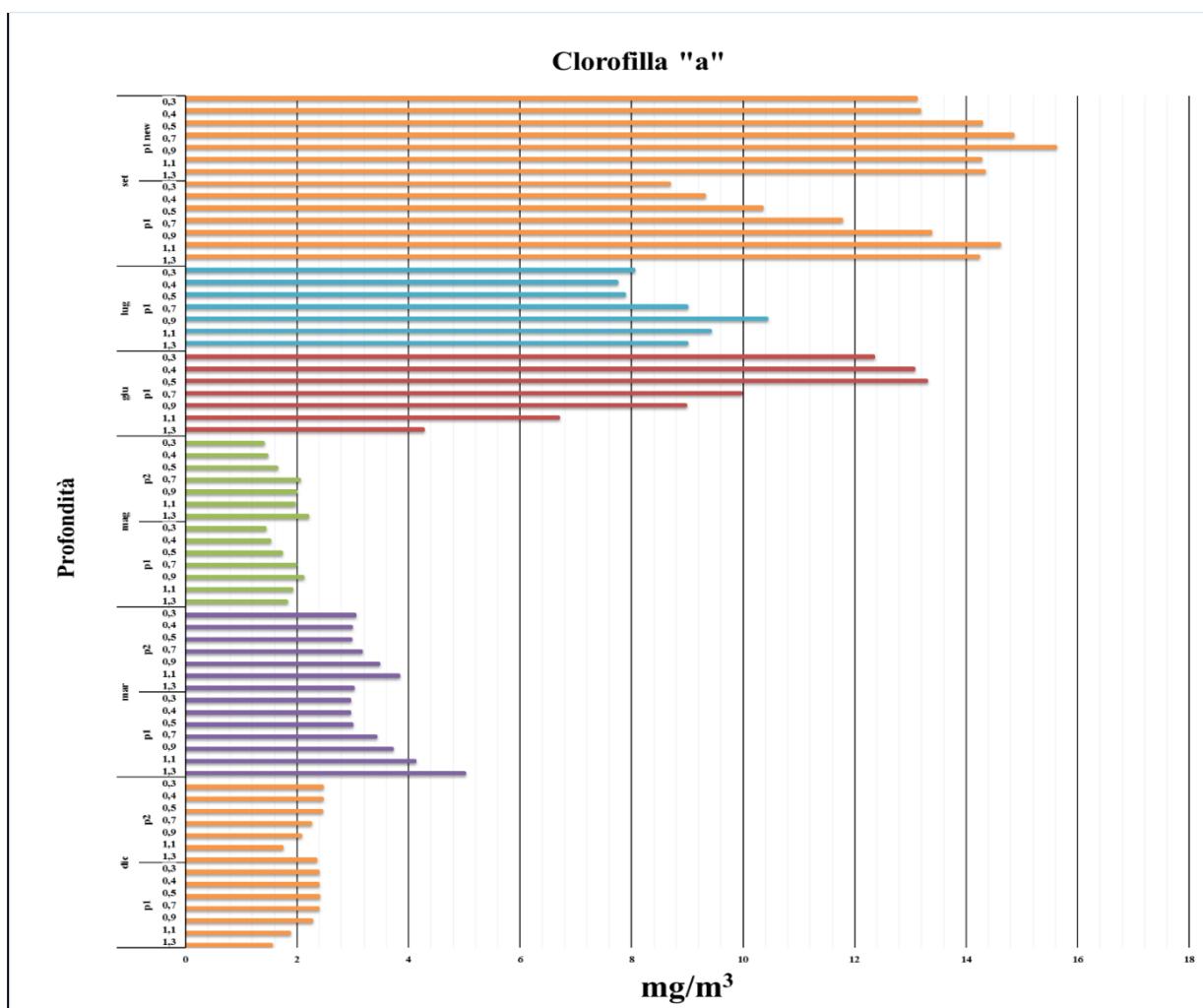
La salinité est l'un des paramètres les plus représentatifs d'un environnement comme celui du Calich, appelé "transition". Cela inclut les masses d'eau saumâtre résultant du mélange des eaux côtières et des eaux douces des fleuves, telles que les lagunes, les étangs côtiers, les lacs saumâtres et les zones du delta et de l'estuaire. Les eaux de transition sont définies dans D.Lgs. 152/2006 comme des "masses d'eau de surface à proximité d'une embouchure de rivière, qui sont partiellement salines en raison de leur proximité avec les eaux côtières, mais qui sont essentiellement influencées par les flux d'eau douce". Cette particularité fait des étangs lagunes côtiers, des écosystèmes à haute productivité dans lesquels on sélectionne des espèces adaptées à de grandes variations de salinité qui, comme la température, en variant de manière significative tout au long de l'année, influence également fortement les changements saisonniers au sein de la masse d'eau. Généralement, les nutriments pénètrent dans le système au cours des mois pluvieux et sont utilisés par les organismes végétaux lorsqu'ils augmentent la température et le rayonnement solaire. Voici le graphique des mesures de salinité effectuées dans l'installation pilote.



Les variations de salinité les plus importantes en colonne se manifestent en hiver et en juin, à la suite des pluies abondantes. En particulier, en décembre, on enregistre les plus grands apports d'eau douce du bassin versant, avec une stratification des eaux à basse salinité en surface et des eaux salées sur le fond, avec des variations de près de 25 ppt. A l'exception du prélèvement de mai, la présence constante d'eau à haute salinité dans les couches profondes est due à l'apport des eaux salines à l'arrivée de l'embouchure à la mer qui se stratifient sur le fond, en raison de leur plus grande densité que les eaux douces. En général, des augmentations de la salinité ont également été mises en évidence en surface à la fin de la période pluvieuse et avec l'augmentation concomitante de la température (couches superficielles autour de 32 ppt contre une salinité moyenne de l'eau de mer d'environ 37-38 ppt).

### • Chlorophylle "a"

La chlorophylle "a", pigment photosynthétique commun à tous les organismes autotrophes, est un paramètre fondamental pour l'évaluation de la productivité d'un écosystème aquatique. Elle augmente au milieu avec la prolifération du phytoplancton, c'est-à-dire le plancton végétal capable de réaliser la photosynthèse. Comme indiqué ci-dessus, chaque espèce présente des optimums en fonction des différents facteurs environnementaux; par conséquent, les différentes espèces de phytoplancton à l'intérieur d'une masse d'eau de transition seront également sélectionnées par la température, la salinité, le rayonnement solaire, disponibilité de nutriments, etc. Cela implique que lorsque l'une de ces variables est en dehors de la plage de tolérance d'une espèce, elle exerce un effet limitant sur sa prolifération. Dans le graphique ci-dessous les relevés de chlorophylle effectués.



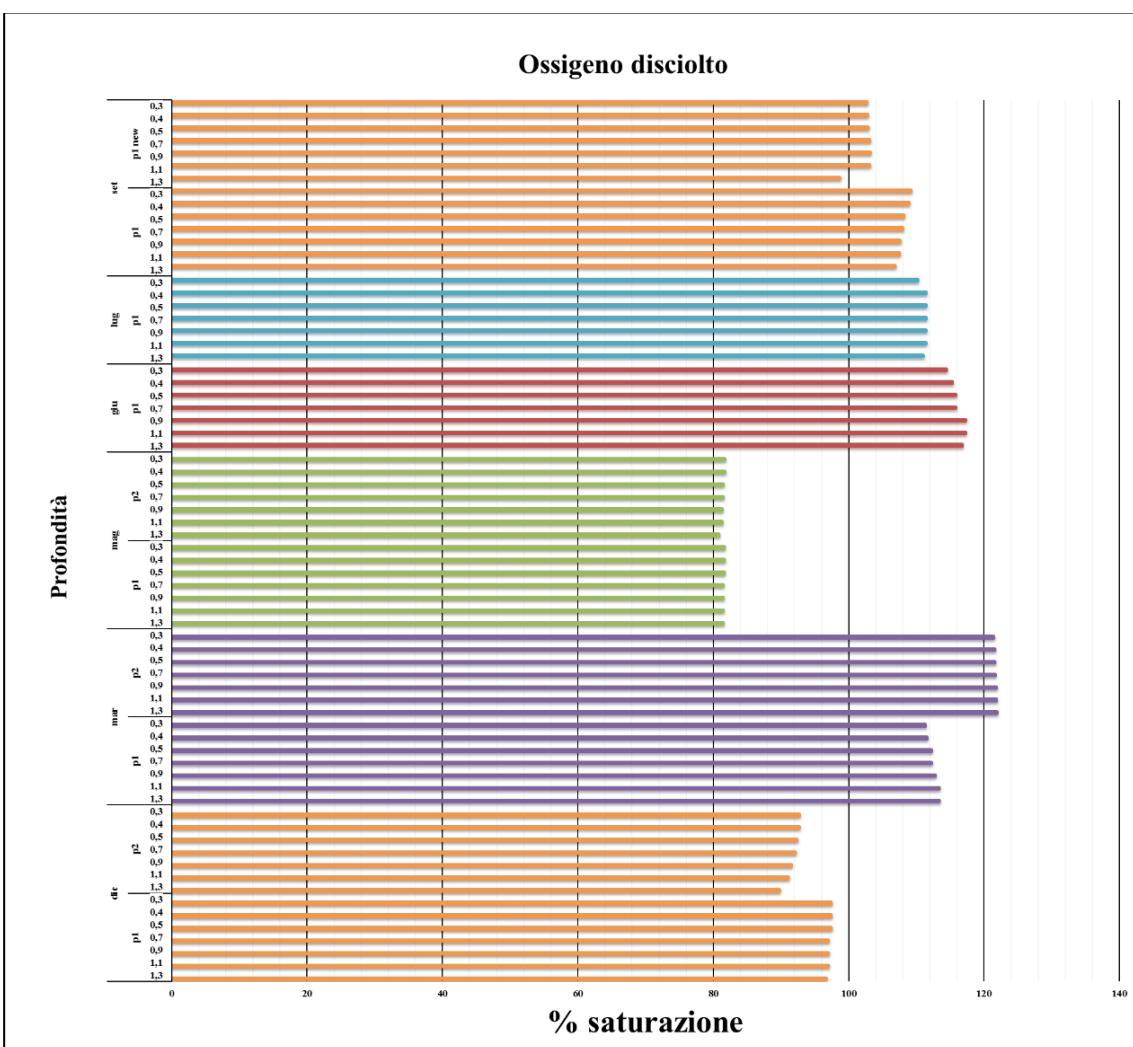
La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Bien que les valeurs de chlorophylle n'aient jamais été inférieures à des niveaux négligeables, il est évident que le développement de la communauté phytoplanctonique n'a eu lieu qu'à la suite de l'augmentation des températures survenue au mois de juin. Toutefois, par rapport aux constatations effectuées par l'ARPAS au cours des années précédentes, les concentrations mesurées n'ont jamais dépassé des valeurs particulièrement élevées. Comme nous le verrons plus tard, bien que les nutriments aient été détectés en décembre à des concentrations significatives, les différentes espèces de microalgues n'ont pas été en mesure de les utiliser efficacement en raison de leur faible température.

## • Oxygène dissous

L'oxygène dissous est un paramètre étroitement lié à la chlorophylle en tant que produit par le processus de photosynthèse. Les valeurs optimales sont d'environ 100% de saturation. Une biomasse phytoplanctonique élevée entraînera un écart par rapport à l'équilibre de la saturation en oxygène, ce qui entraînera des conditions de sursaturation. En revanche, une consommation d'oxygène telle qu'elle entraîne une hyposaturation, voire une anoxie, résulte de l'utilisation de l'oxygène par les populations bactériennes qui prolifèrent en présence de matières organiques élevées à dégrader, comme dans le cas de fleurs macroalgales ou phytoplanctoniques. Dans ce cas également, l'évolution des relevés effectués est schématisée dans le graphique suivant.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée



20

Figure 4

Aucune critique particulière n'a été relevée pour ce paramètre, si ce n'est une légère augmentation au-dessus du niveau de 120% en mars et une baisse de la teneur en oxygène qui n'était pas particulièrement significative en mai. Les deux événements ne sont pas particulièrement reflétés dans les données précédemment discutées.

#### • pH

Le pH est un indice qui fournit une mesure de la concentration des ions hydrogène dans l'eau. Dans une masse d'eau générale, cette taille varie en fonction des processus naturels (par ex. interactions avec les roches environnantes) et des phénomènes liés à l'activité humaine. Si l'on part du principe qu'une eau de mer présente, dans un environnement comme celui de la mer Méditerranée, un pH généralement

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

compris entre 8,1 et 8,3, il est évident que, dans un étang côtier, les échanges avec la mer et les apports d'eau douce seront les deux éléments qui détermineront les fluctuations saisonnières de ce paramètre.

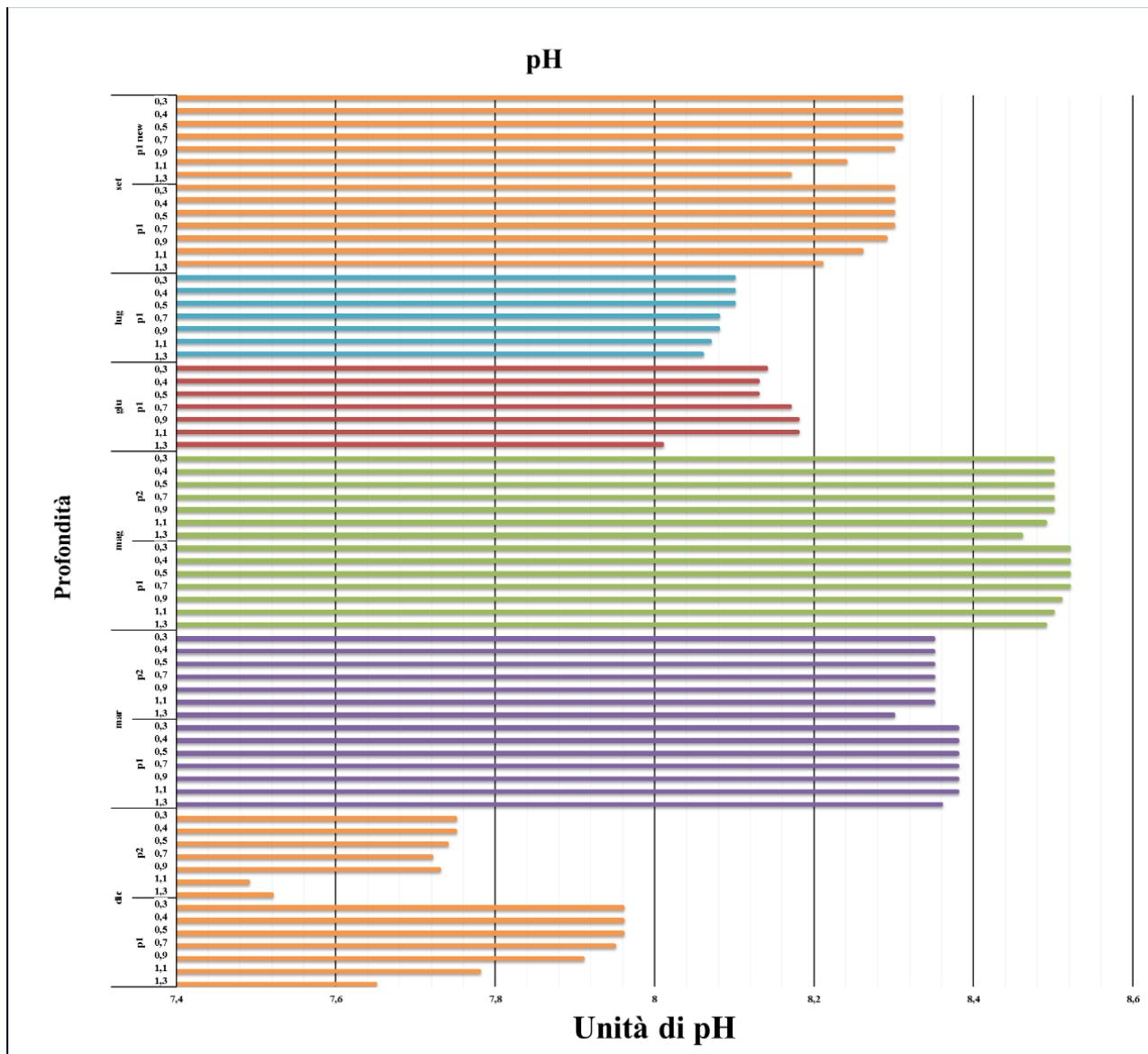


Figure 5

Là encore, les plus grandes fluctuations entre la surface et le fond ont été relevées au mois de décembre, au cours duquel l'eau douce entrant des fleuves par les pluies a stratifié au-dessus de la masse d'eau la plus salée du fond. En revanche, pendant les mois d'été, quand même la salinité a atteint les valeurs les plus élevées, on a enregistré des pH presque identiques à l'eau de mer.

## La cooperazione al cuore del Mediterraneo La coopération au coeur de la Méditerranée

## 2.2. Nutriments

En général, l'évaluation de l'état de qualité des masses d'eau est régie par le texte unique sur l'environnement, le D.lgs 152/06. Pour les eaux de transition telles que le Calich, il est prévu de déterminer une série d'indicateurs, dont le DIN, c'est-à-dire l'azote inorganique dissous donné par la somme de l'azote provenant des nitrites, des nitrates et de l'ammoniac. Dans la procédure de classification de l'état écologique, les valeurs moyennes annuelles de DIN doivent être inférieures au seuil de 420 µg/l établi par le DM 260/2010, actuariel du TUA, pour les eaux avec salinité moyenne inférieure à 30 ppt comme le Calich.

Le tableau 2 indique les valeurs de chaque analyte utilisé dans le calcul du DIN et les valeurs d'azote total dans la dernière colonne. Lorsque les concentrations sont inférieures à la limite de détection correspondante, on leur attribue par défaut une concentration égale à la moitié de cette valeur (en bleu).

Tableau 2

Anno	mese	punto	N-NH4 (µg/l)	N-NO2 (µg/l)	N-NO3 (µg/l)	DIN (µg/l)	Ntot (µg/l)
2018	dicembre	1	161,0	13,8	545,0	719,8	910,0
		2	163,0	13,8	550,0	726,8	872,0
2019	marzo	1	23,0	18,0	430,0	471,0	517,0
		2	< LR	18,0	499,0	524,5	541,0
2019	maggio	1	30,0	< LR	144,0	175,0	175,0
		2	35,0	< LR	125,0	163,0	163,0
	giugno	1	202,0	16,0	276,0	494,0	495,0
	luglio	1	35,0	< LR	< LR	42,0	179,0
	settembre	1	25,0	< LR	< LR	30,0	30,0
		1 new	16,0	< LR	< LR	20,0	20,0

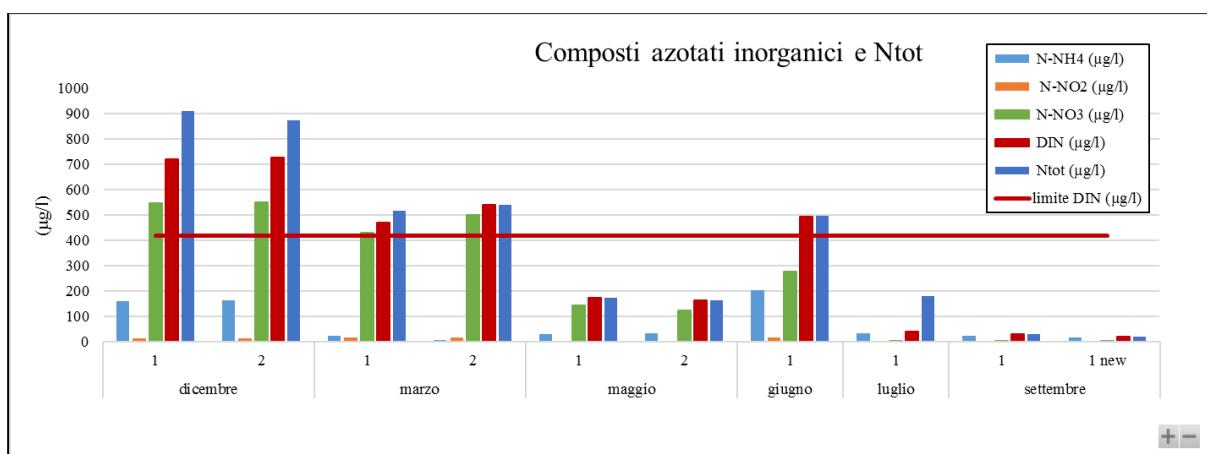


Figure 6

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Le graphique 6 montre clairement l'évolution dans le temps des paramètres examinés. Pendant les périodes où les eaux de pluie sont les plus puissantes, on peut remarquer que la part prédominante du DIN est liée au pourcentage de nitrates, la forme d'azote inorganique immédiatement disponible pour l'assimilation par les organismes végétaux. L'évolution annuelle globale de l'azote total, de l'azote organique et des DIN a montré que l'apport en nutriments était principalement lié à la période des pluies (la valeur du DIN augmente à la baisse de la salinité) et leur utilisation lors de l'augmentation de la température et du rayonnement solaire (diminution du DIN et augmentation concomitante de l'azote organique). Les valeurs élevées d'ammoniac observées en décembre et en juin font par contre supposer des criticités liées à l'apport de déchets non épurés.

Même dans le cas des orthophosphates, eux aussi nutriments essentiels pour le développement des organismes végétaux, on remarque un pic en juin qui apparaît assez isolé par rapport à la tendance générale.

Tableau 3

anno	mese	punto	P-PO4 ( $\mu\text{g/l}$ )	Ptot ( $\mu\text{g/l}$ )
<b>2018</b>	dicembre	1	192	195
		2	192	195
<b>2019</b>	marzo	1	22	51
		2	20	44
	maggio	1	201	237
		2	102	117
	giugno	1	761	770
		luglio	62	129
	settembre	1	3,5	3,5
		1 new	3,5	3,5

### 2.3. Études bactériologiques

À l'instar des exigences de la législation de référence pour les eaux d'élevage de mollusques bivalves, l'ARPA a réalisé des analyses pour *E. coli* et *Salmonella* spp., les deux indicateurs de pollution organique typique des eaux usées.

Des concentrations significatives d'*E. coli* n'ont été détectées que lors des pics d'ammoniaque de décembre et juin, confirmant l'hypothèse de criticités liées à l'apport de déchets d'égout. La présence de *Salmonella* spp. lors de l'échantillonnage de décembre au seul point 1, pour indiquer une criticité à la limite de la détectabilité.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Tableau 4

Anno	mese	punto	<i>E. coli</i> (ufc/100ml)	<i>Salmonella spp.</i> (pres-ass/l)
2018	dicembre	1	660	presente
		2	350	assente
2019	marzo	1	0	assente
		2	0	assente
	maggio	1	0	assente
		2	6	assente
	giugno	1	130	ND
	luglio	1	4	ND
	settembre	1	0	assente
		1 new	0	assente

## 2.4. Métaux

Toujours en référence aux dispositions de la législation de référence pour la caractérisation des eaux conchyliques, une caractérisation préliminaire de la présence de métaux dissous a été effectuée, en particulier ceux indiqués par D.Lgs 172/15 pour l'état de qualité environnementale des masses d'eau. Les résultats n'ont montré aucune criticité, les concentrations des différents analytes étant presque toujours inférieures aux limites de détection respectives, à l'exception de l'arsenic, mais toujours en dessous des normes de qualité annuelles moyennes établies par la norme.

**Tabella 6**

Anno	mese	punto	Cd ( $\mu\text{g/l}$ )	Pb ( $\mu\text{g/l}$ )	Cr tot ( $\mu\text{g/l}$ )	Hg ( $\mu\text{g/l}$ )	Ni ( $\mu\text{g/l}$ )	As ( $\mu\text{g/l}$ )	
2018	dicembre	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	< 1	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.00	< 2.5	< 1	
2019	marzo	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,06	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,80	
	maggio	1	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,84	
		2	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,11	
	settembre	1	< 0.2	0,95	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,67	
		1 new	< 0.2	< 0.4	< 1.2	< 0.01	< 2.5	1,63	
<b>Standard di qualità ambientale_Media Annuia</b>			0,2	1,3	4	/	8,6	5	
<b>Standard di qualità ambientale_Concentrazione Massima Ammissibile</b>			0,45	14	/	0,07	34	/	

## Relazione a cura del dipartimento di medicina veterinaria dell'università degli studi di Sassari

La conoscenza e la comprensione dei processi ecologici sono uno strumento indispensabile per favorire l'uso sostenibile dell'ambiente lagunare, oltre che per valutare eventuali cambiamenti in atto, per conservare la biodiversità e per mitigare gli effetti di alterazioni negative indotte dalle attività antropiche. Attualmente, la Laguna del Calich non è una zona classificata per la produzione dei molluschi bivalvi e per quelli presenti in banchi naturali, per motivi di carattere igienico-sanitario, attualmente vige il divieto di raccolta e commercializzazione. La classificazione delle zone di produzione è di competenza del Servizio Pesca e Acquacultura dell'Assessorato all'Agricoltura della Regione Sardegna: l'avvio dell'iter di richiesta di classificazione di una zona di produzione di molluschi necessita di una preliminare verifica della qualità delle acque e di un approccio polifasico al bio-monitoraggio basato sull'analisi del rischio. Il biomonitoraggio, rispetto alle valutazioni dirette sulle varie matrici organiche e inorganiche, risponde meglio all'esigenza di effettuare un controllo basato su un'alta densità di punti di campionamento, avvalendosi di organismi "sensibili" in grado di fungere da "indicatori" della qualità ambientale e di fornire utili informazioni sulle ripercussioni biologiche della contaminazione batterica, virale, da metalli pesanti e biotossine algali sulla salute dell'uomo.

Il biomonitoraggio mediante molluschi bivalvi è oggi considerato uno degli approcci più completi per valutare l'inquinamento dell'ambiente lagunare ed i suoi potenziali effetti biologici. La determinazione dei contaminanti biotici ed abiotici nei molluschi rappresenta un valido strumento di valutazione indiretta delle acque e dell'impatto esercitato dall'ambiente sulle caratteristiche igienico sanitarie dei bivalvi.

In questo contesto, ai sensi del protocollo d'intesa sottoscritto tra gli Enti partecipanti all'azione pilota T2.1.2 - "REALIZZAZIONE DI UNA STAZIONE SPERIMENTALE DI ALLEVAMENTO BIVALVI", ed approvato dal Consiglio di Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Sassari (di seguito UNISS\_DMV) nella seduta del 21 gennaio 2019, UNISS\_DMV ha eseguito la determinazione dei contaminanti abiotici e biotici negli animali allevati, cozze (*Mytilus galloprovincialis*) e ostriche (*Crassostrea gigas*)

Nello specifico, il piano operativo prevedeva:

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

- a) campionamenti trimestrali di cozze e ostriche per analisi bio-tossicologiche (tossine idrosolubili e liposolubili), virologiche (*Norovirus* ed Epatite A) e microbiologiche (*E. coli*, *Salmonella* spp, *Vibrio parahaemolyticus*)
- b) campionamenti trimestrali di cozze e ostriche per analisi chimiche per metalli: Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sn, Se, V, Zn;
- c) campionamento mensile di acqua su 2 punti con identificazione e conteggio popolazione fitoplanctonica

2

## 1. Materiali e metodi

Nella tabella 1 è riassunta la programmazione dei campionamenti eseguiti:

CAMPIONAMENTO	DATA	MATRICE	PARAMETRI
T0	03.12.2018	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T1	07.01.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T2	04.02.2019	acqua/molluschi (mitili)	conteggio fitoplancton tossico/virus-batteri-biotossine-metalli pesanti
T3	04.03.2019	acqua/molluschi (ostriche)	conteggio fitoplancton tossico/virus-batteri-biotossine-metalli pesanti
T4	01.04.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T5	06.05.2019	acqua/molluschi	conteggio fitoplancton tossico/virus-batteri-biotossine-metalli pesanti
T6	03.06.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T7	01.07.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T8	29.07.2019 05.08.2019	acqua molluschi*	conteggio fitoplancton tossico/virus-batteri-biotossine-metalli pesanti
T9	02.09.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T10	11.10.2019	acqua	conteggio fitoplancton tossico
T11	02.12.2019	acqua/molluschi*	conteggio fitoplancton tossico/virus-batteri-biotossine-metalli pesanti

\*solo ostriche a seguito della moria di tutti i mitili allevati

Nel dettaglio:

- a) **Analisi biotossicologiche (tossine idrosolubili e liposolubili), virologiche (*Norovirus* ed Epatite A) e microbiologiche (*E. coli*, *Salmonella* spp, *Vibrio parahaemolyticus*).** La presenza delle biotossine PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) e DSP (Diarrheic Shellfish Poisoning) è stata determinata

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

secondo quanto previsto dalla metodica AOAC International 959.08 e dal Reg. EC. 15/2011. Per la determinazione del Virus dell'Epatite A (HAV) e dei *Norovirus* (NoV GI e NoV GII), è stata applicata la metodica ISO/TS 15216-2:2013. La quantificazione di *E. coli* è stata eseguita mediante il metodo MPN (Most Probable Number) riportato nella metodica di riferimento dell'Unione Europea ISO 16649-3:2015. La presenza di *Salmonella* spp. è stata determinata secondo quanto riportato nella metodica ISO 6579-1:2017. *V. parahaemolyticus* è stato determinato seguendo la metodica ISO/TS 21872-1:2017. Tutti i ceppi identificati come *V. parahaemolyticus* con metodiche tradizionali, sono stati sottoposti a test di conferma biomolecolare mediante PCR per il gene *toxR*. La determinazione dei geni associati con l'enteropatogenicità di *V. parahaemolyticus* (*tdh* e *trh*) è stata eseguita secondo quanto riportato da Bej et al. (1999).

- b) **Analisi chimiche per metalli: Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sn, Se, V, Zn.** La quantificazione degli elementi in traccia essenziali per la vita (cobalto, cromo, rame, ferro, manganese, molibdeno, nichel, rubino, selenio, vanadio e zinco) e di quelli tossici per gli organismi viventi anche a basse concentrazioni (alluminio, arsenico, cadmio, piombo, e stagno) è stata eseguita mediante Spettrometro di Massa a Plasma ad Accoppiamento Induttivo (ICP-MS) secondo la metodica descritta da Squadrone et al. (2016).
- c) **Identificazione e conteggio popolazione fitoplanctonica.** E' stato utilizzato il metodo di Utermöhl (1958) riportato nella metodica di riferimento dell'Unione Europea UNI EN 15204:2006.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## 2. Risultati

- a) **Analisi biotossicologiche (tossine idrosolubili e liposolubili), virologiche (Norovirus ed Epatite A) e microbiologiche (*E. coli*, *Salmonella* spp, *Vibrio parahaemolyticus*).**

Tabella 2: *E. coli*, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus*, HAV, NoV, PSP, DSP in mitili allevati nella Laguna del Calich

DATA	MATRICE	E.coli	Salmonella spp.	V. parahaemolyticus	HAV	NoV	PSP	DSP
04.02.2019	Mitili	9750 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	assente	assente	assente
04.03.2019	Ostriche	490 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	assente	assente	assente
06.05.2019	Mitili	1300 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	assente	assente	assente
06.05.2019	Ostriche	790 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	assente	assente	assente
05.08.2019	Ostriche	1700 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	assente	assente	assente
02.12.2019	Ostriche	1300 MPN/100 g	assente in 25 g	assente	assente	NoV G1 e GII	assente	assente

- b) **Analisi chimiche per metalli: Al, Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Sn, Ta, Zn.**

Tabella 3: Concentrazione degli elementi in traccia non essenziali in mitili allevati nella Laguna del Calich (mg/kg)

DATA	Al	As	Cd	Pb	Sn
04.02.2019	341,342	1,397	0,075	0,138	0,134
06.05.2019	96,008	1,094	0,037	0,046	0,059

Tabella 4: Concentrazione degli elementi in traccia non essenziali in ostriche allevate nella Laguna del Calich (mg/kg)

DATA	Al	As	Cd	Pb	Sn
04.03.2019	27,666	1,166	0,143	0,024	0,029
06.05.2019	31,565	1,547	0,187	0,026	0,015
05.08.2019	44,603	1,263	0,042	0,044	0,021
02.12.2019	112,356	1,335	0,024	0,059	0,066

Tabella 5: Concentrazione degli elementi in traccia essenziali in mitili allevati nella Laguna del Calich (mg/kg)

DATA	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Rb	Se	V	Zn
04.02.2019	0,084	0,249	0,967	167,163	3,634	0,274	0,346	0,785	0,860	0,553	29,698
06.05.2019	0,037	0,088	0,661	57,280	2,975	0,072	0,120	0,987	0,545	0,078	25,856

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

Tabella 6: Concentrazione degli elementi in traccia essenziali in ostriche allevate nella Laguna del Calich (mg/kg)

DATA	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Rb	Se	V	Zn
<b>04.02.2019</b>	0,017	0,032	5,633	53	1,966	0,238	0,034	0,55	0,393	0,026	112,666
<b>06.05.2019</b>	0,021	0,036	7,226	57,040	2,308	0,078	0,039	0,597	0,425	0,0301	117,846
<b>05.08.2019</b>	0,033	0,048	1,860	36,684	12,459	0,180	0,046	1,409	0,469	0,035	39,578
<b>02.12.2019</b>	0,028	0,074	5,424	66,433	5,199	0,097	0,076	0,928	0,356	0,099	92,707

### c) Identificazione e conteggio popolazione fitoplanctonica

Grafico 1: Densità totale mensile della popolazione fitoplanctonica nella Laguna del Calich ( $10^3$  cellule/L)

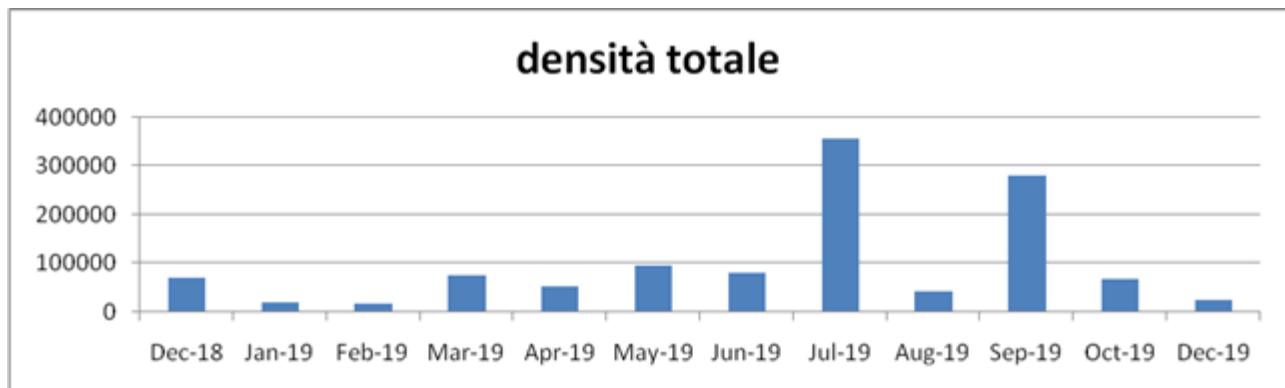
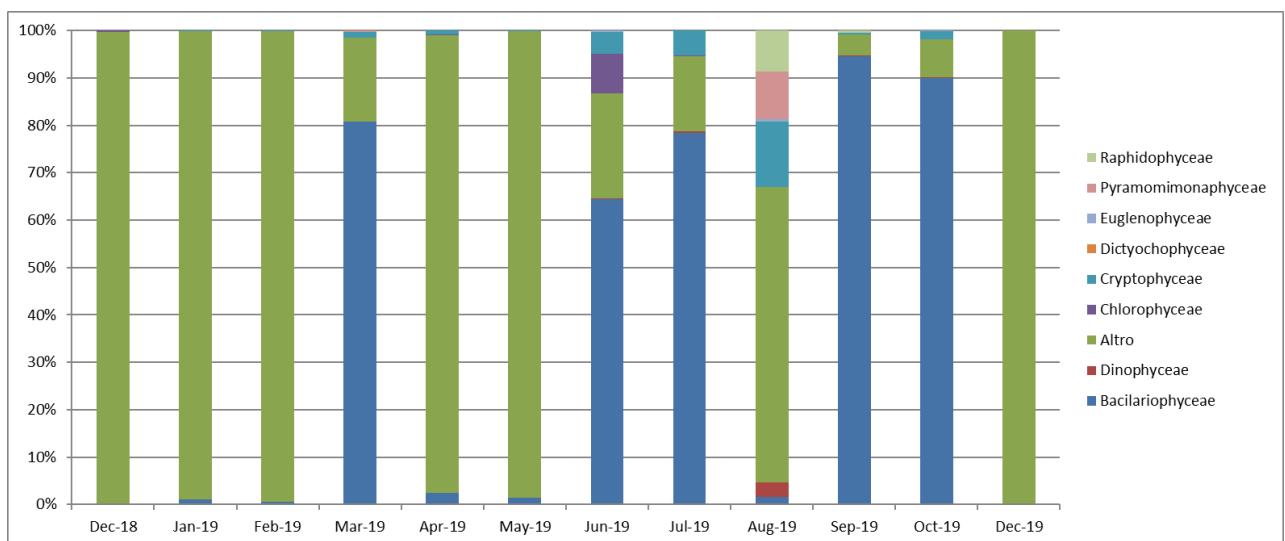


Grafico 2: Distribuzione mensile delle classi algali nella Laguna del Calich



La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

#### 4. Considerazioni conclusive

Negli ultimi anni, diversi studi condotti nella Laguna di Calich hanno indagato le sue potenzialità come possibile sito di allevamento di molluschi bivalvi (Chessa et al., 2005; Pais et al., 2006; Pais et al., 2007; Cannas et al., 2011), la caratterizzazione della sua fauna ittica (Chessa et al., 2007), l'ecotossicologia della laguna (Ielmini et al., 2014), l'ecologia dei componenti planctonici (Rossi et al., 2006; Pulina et al., 2017) e più recentemente la determinazione dei contaminanti biotici ed abiotici nei molluschi bivalvi presenti nei banchi naturali della laguna (Esposito et al., 2018; Meloni et al., 2018; Bazzoni et al., 2019).

Molti di questi studi hanno evidenziato che la Laguna del Calich è un sistema altamente produttivo ed utilizzato principalmente per attività di pesca "tradizionale". Lo sfruttamento produttivo della laguna potrebbe essere notevolmente migliorato implementando diverse forme di acquacoltura ed in particolare di molluschicoltura.

In questo contesto, l'attività di UNISS\_DMV nell'ambito dell'azione pilota T2.1.2, è stata caratterizzata da un approccio integrato che ha considerato l'influenza di fattori biotici (virali, batterici e fitoplanctonici) ed abiotici (metalli pesanti) sulla sicurezza alimentare dei molluschi bivalvi allevati.

Nel complesso, i risultati relativi al livello di contaminazione di *E. coli* nelle ostriche si sono sempre mantenuti al di sotto del limite stabilito per i molluschi bivalvi di classe B (< 4600 MPN/100 g). Tale limite è stato superato una sola volta in campioni di mitili (febbraio 2019). Tuttavia, considerando che per via di alcune problematiche legate alla vitalità di questi molluschi, non è stato possibile eseguire un monitoraggio di queste specie su base annuale, tale dato deve essere considerato come episodico e non significativo.

I valori relativi alle ostriche confermano quanto riportato da Bazzoni et al. (2019) in un recente studio su base annuale eseguito nei mitili raccolti dai banchi naturali della laguna.

*Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* e HAV non sono mai stati riscontrati. Solamente in un campione di ostriche relativo a dicembre 2019 è stata riscontrata la presenza di *NoV* GI e GII.

Tutti i campioni di molluschi sono risultati negativi per la presenza di PSP e DSP. Per quanto riguarda la componente fitoplanctonica, le *Bacillariophyceae* (o Diatomee) sono risultate la classe con il numero più alto di specie, insieme alle *Dinophyceae*. Le densità più elevate sono state raggiunte da cellule di piccole dimensioni: *Cyclotella* sp. (quasi  $300 \times 10^6$  cell/L in luglio 19), Ultraplancton (organismi più piccoli di 5 µm non identificati) e *Cryptophyceae* indeterminate. L'unica specie potenzialmente pericolosa riscontrata è stata *Dinophysis acuminata*, produttrice di tossine DSP, in agosto 2019. A differenza di quanto

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

recentemente riportato da Bazzoni et al. (2019), non è stata riscontrata la presenza di *Pseudo-nitzschia* spp. Da segnalare che in agosto 2019 sono state riscontrate due specie di *Raphydophyceae*, la cui presenza è associata a mortalità di pesci; i due taxa, insieme, hanno raggiunto una densità algale di quasi  $3 \times 10^6$  cell/L.

Per quanto riguarda gli elementi in traccia tossici per gli organismi viventi anche a basse concentrazioni, il Reg. 1881/2006 definisce i limiti massimi per Cadmio e Piombo nei molluschi bivalvi, mentre non ci sono ancora limiti stabiliti dall'UE per gli altri metalli negli alimenti. I livelli riscontrati per Cadmio e Piombo erano ben al di sotto dei limiti legali. I *livelli più elevati* sono stati riscontrati per l'*Alluminio*. La quantificazione degli elementi in traccia essenziali non ha evidenziato la presenza di valori potenzialmente dannosi per gli esseri umani. I livelli più elevati sono stati riscontrati per Ferro e Zinco. I risultati relativi alla concentrazione dei metalli pesanti in ostriche e mitili allevati confermano sostanzialmente quanto recentemente riportato da Esposito et al. (2018) e Meloni et al. (2018) in vongole veraci e mitili raccolti dai banchi naturali della laguna del Calich.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## 5. Bibliografia

1. Bazzoni, Mudadu, Esposito, Urru, Ortu, Uda, Arras, Lorenzoni, Sanna, Bazzardi, Marongiu, Virgilio, Meloni (2019) "Bacteriological and viral investigation combined wi determination of phytoplankton and algal biotoxins in mussels and water from a Mediterranean coastal lagoon" Journal of Food Protection, 82, 9, 1501-1511
2. Bej, A.K., D. P. Patterson, C. W. Brasher, M. C. Vickery, D. D. Jones, and C. A. Kaysner. 1999. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tl, tdh and trh. J. Microbiol. Methods 36:215-225.
3. Cannas, A., S. Manca, M. Trentadue, and N. Fois. 2011. Population structure of carpet shell clam (*Ruditapes decussatus* L.) in two coastal lagoons of Sardinia (Italy). Biol. Mar. Medit. 18:298-299.
4. Chessa, L. A., F. Paesanti, A. Pais, M. Scardi, S. Serra, and L. Vitale. 2005. Perspectives for development of low impact aquaculture in a Western Mediterranean lagoon: the case of the carpet clam *Tapes decussatus*. Aquac. Int. 13:147-155.
5. Chessa, L. A., E. Casola, P. Lanera, A. Pais, N. Plastina, S. Serra, M. Scardi, L. M. Valiante, and D. Vinci. 2007. Is there a correspondence between dominant trophic group in benthic and fish fauna of the Calich lagoon? Biol. Mar. Medit. 14:290-291.
6. Esposito, Meloni, Abete, Colombero, Mantia, Pastorino, Prearo, Pais, Antuofermo, Squadrone (2018) "The bivalve *Ruditapes decussatus*: a biomonitor of trace elements pollution in Sardinian coastal lagoons (Italy)" Environmental Pollution, 242, 1720-1728Ielmini, S. E., G. Piredda, S. Mura, and G. F. Greppi. 2014. Protein biomarkers as indicator for water pollution in some lagoons of Sardinia (Italy). Transit. Waters Bull. 8:32-52.
7. Laore Sardegna-IZS Sardegna (2014) <http://www.sardegnaagricoltura.it/index.php?xsl=443&s=257341&v=2&c=3535>
8. Laore Sardegna-IZS Sardegna (2016) Acquacoltura in Sardegna tradizioni, innovazione, sapori e ambiente, <http://www.sardegnaagricoltura.it/index.php?xsl=443&s=311243&v=2&c=3535>
9. Meloni, Esposito, Abete, Colombero, Mantia, Mudadu, Bazzoni, Ortu, Prearo, Squadrone (2018) "Preliminary assessment of trace elements in *Mytilus galloprovincialis* from a coastal lagoon in Sardinia (Italy)". Book of abstracts of Fish Forum FAO 2018, 223-224.
10. Pais, A., L. A. Chessa, S. Serra, and A. Ruiu. 2006. An alternative suspended culture method for the Mediterranean carpet clam, *Tapes decussatus* (L.), in the Calich lagoon (north western Sardinia). Biol. Mar. Medit. 13:134-135.
11. Pais, A., L. A. Chessa, S. Serra, A. Ruiu, and G. Meloni. 2007. Suspended culture of *Ostrea edulis* in the Calich lagoon (north western Sardinia, Italy): preliminary results. Ital. J. Anim. Sci. 6:810-810.
12. Pulina, S., C. T. Satta, B. M. Padredda, A. M. Bazzoni, N. Sechi, and A. Lugliè. 2017. Picophytoplankton seasonal dynamics and interactions with environmental variables in three Mediterranean coastal lagoons. Estuar. Coast. 40:469-478.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

13. Rossi, F., A. Castelli, and C. Lardicci. 2006. Distribution of macrobenthic assemblages along a marine gradient in Mediterranean eutrophic coastal lagoons. *Mar. Ecol.* 27:66–75.
14. Squadrone, S., Brizio, P., Stella, C., Prearo, M., Pastorino, P., Serracca, L., Ercolini, C., Abete, M.C. (2016). Presence of trace metals in aquaculture marine ecosystems of the northwestern Mediterranean Sea (Italy). *Environmental Pollution* 215, 77-83
15. Utermöhl, H. 1958. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton- methodik. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 9:1–39.

## Rapport établi par le département de médecine vétérinaire de l'université de Sassari

La connaissance et la compréhension des processus écologiques sont un outil indispensable pour favoriser l'utilisation durable de l'environnement lagunaire, ainsi que pour évaluer d'éventuels changements en cours, afin de préserver la biodiversité et d'atténuer les effets des nuisances causées par les activités humaines.

Actuellement, la lagune du Calich n'est pas une zone classée pour la production de mollusques bivalves et pour ceux qui sont présents dans des bancs naturels, pour des raisons d'hygiène et de santé, actuellement il y a interdiction de récolte et de commercialisation. La classification des zones de production relève du Service Pêche et Aquaculture de l'Assessorat à l'Agriculture de la Région Sardaigne : le lancement de la procédure de demande de classement d'une zone de production de mollusques nécessite une vérification préalable de la qualité des eaux et une approche polyphasique de la bio-surveillance fondée sur l'analyse des risques.

La biosurveillance, par rapport aux évaluations directes sur les différentes matrices organiques et inorganiques, répond mieux à la nécessité d'effectuer un contrôle basé sur une densité élevée de points d'échantillonnage, en utilisant des organismes "sensibles" capables de faire fonction d'"indicateurs" de la qualité de l'environnement et de fournir des informations utiles sur les répercussions biologiques de la contamination bactérienne, virale, par les métaux lourds et les biotoxines d'algues sur la santé humaine.

La biosurveillance au moyen de mollusques bivalves est aujourd'hui considérée comme l'une des approches les plus complètes pour évaluer la pollution de l'environnement lagunaire et ses effets biologiques potentiels. La détermination des contaminants biotiques et abiotiques dans les mollusques constitue un instrument valable d'évaluation indirecte de l'eau et de l'impact de l'environnement sur les caractéristiques hygiéniques et sanitaires des bivalves.

Dans ce contexte, aux termes du protocole d'accord signé entre les organismes participant à l'action pilote T2.1.2 - "RÉALISATION D'UNE STATION EXPÉRIMENTALE D'ÉLEVAGE BIVALVE", et approuvé par le Conseil de Département de Médecine Vétérinaire de l'Université de Sassari (ci-après : UNISS\_DMV) a effectué, lors de sa séance du 21 janvier 2019, la détermination des contaminants abiotiques et biotiques chez les animaux d'élevage, les moules (*Mytilus galloprovincialis*) et les huîtres (*Crassostrea gigas*)  
Plus précisément, le plan opérationnel prévoyait:

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

- a) échantillonnages trimestriels de moules et d'huîtres pour des analyses bio-toxicologiques (toxines hydrosolubles et liposolubles), virologiques (Norovirus et hépatite A) et microbiologiques (E. coli, Salmonella spp, Vibrio parahaemolyticus)
- b) échantillonnages trimestriels de moules et d'huîtres pour l'analyse chimique des métaux : Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sn, Se, V, Zn;
- c) échantillonnage mensuel d'eau sur 2 points avec identification et comptage de la population phytoplanctonique.

## 1. Matériaux et méthodes

Le tableau 1 résume la programmation des échantillonnages effectués:

ÉCHANTILLONNAGE	DATE	MATRICE	PARAMÈTRES
T0	03.12.2018	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T1	07.01.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T2	04.02.2019	eau/mollusques (moules)	dénombrement phytoplancton toxique/virus-bactéries-biotoxines-métaux lourds
T3	04.03.2019	eau/mollusques (huîtres)	dénombrement phytoplancton toxique/virus-bactéries-biotoxines-métaux lourds
T4	01.04.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T5	06.05.2019	eau/mollusques	dénombrement phytoplancton toxique/virus-bactéries-biotoxines-métaux lourds
T6	03.06.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T7	01.07.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T8	29.07.2019 05.08.2019	eau/mollusques *	dénombrement phytoplancton toxique/virus-bactéries-biotoxines-métaux lourds
T9	02.09.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T10	11.10.2019	eau	dénombrement du phytoplancton toxique
T11	02.12.2019	eau/mollusques *	dénombrement phytoplancton toxique/virus-bactéries-biotoxines-métaux lourds

\* uniquement huîtres après la mort de toutes les moules élevées

Dans le détail:

- a) **Analyse biotoxicologique (toxines hydrosolubles et liposolubles), virologique (Norovirus et hépatite A) et microbiologique (E. coli, Salmonella spp, Vibrio parahaemolyticus).** La présence des biotoxines PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) et DSP (Diarrheic Shellfish Poisoning) a été déterminée conformément à la méthode AOAC

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

International 959.08 et au Reg. EC. 15/2011. Pour la détermination du virus de l'hépatite A (HAV) et du norovirus (Nov GI et Nov GII), la méthode ISO/TS 15216-2:2013 a été appliquée. La quantification d'E. coli a été réalisée à l'aide de la méthode MPN (Most Probable Number) décrite dans la méthode de référence de l'Union européenne ISO 16649-3:2015. La présence de *Salmonella* spp. a été déterminée conformément à la méthode ISO 6579-1:2017. *V. parahaemolyticus* a été déterminé selon la méthode ISO/TS 21872-1:2017. Toutes les souches identifiées comme *V. parahaemolyticus* selon des méthodes traditionnelles ont été soumises à des tests de confirmation biomoléculaires par PCR pour le gène *toxR*. La détermination des gènes associés à l'entéropathogénicité de *V. parahaemolyticus* (*tdh* et *trh*) a été réalisée selon Bej et al. (1999).

**b) Analyses chimiques pour métaux : Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sn, Se, V, Zn.** La quantification des oligoéléments essentiels à la vie (cobalt, chrome, cuivre, fer, manganèse, molybdène, nickel, rubis, sélénium, vanadium et zinc) et de ceux toxiques pour les organismes vivants, même à faible concentration (aluminium, arsenic, cadmium, plomb et étain) a été réalisée par spectromètre de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) selon la méthode décrite par Squadrone et al. (2016).

**c) Identification et comptage de la population phytoplanctonique.** La méthode de Utermöhl (1958) décrite dans la méthode de référence de l'Union européenne UNI EN 15204:2006 a été utilisée.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## 2. Résultats

### a) Analyse biotoxicologique (toxines hydrosolubles et liposolubles), virologique (Norovirus et hépatite A) et microbiologique (E. coli, Salmonella spp, Vibrio parahaemolyticus).

Tableau 2 :

E. coli, Salmonella spp. , V. parahaemolyticus, HAV, Nov, PSP, DSP in moules élevés dans la lagune du Calich

DATE	MATRICE	E.coli	Salmonella spp.	V. parahaemolyticus	HAV	NoV	PSP	DSP
04.02.2019	mollusques	9750 MPN/100 g	absence dans 25 g	absence	absence	absence	absence	absence
04.03.2019	huîtres	490 MPN/100 g	assente in 25 g	absence	absence	absence	absence	absence
06.05.2019	mollusques	1300 MPN/100 g	assente in 25 g	absence	absence	absence	absence	absence
06.05.2019	huîtres	790 MPN/100 g	assente in 25 g	absence	absence	absence	absence	absence
05.08.2019	huîtres	1700 MPN/100 g	assente in 25 g	absence	absence	absence	absence	absence
02.12.2019	huîtres	1300 MPN/100 g	assente in 25 g	absence	absence	NoV GI e GII	absence	absence

### b) Analyses chimiques pour métaux : Al, Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Sn, Ta, Zn.

Tableau 3 : Concentration des oligoéléments non essentiels dans les moules élevés dans la lagune du Calich (mg/kg)

DATE	Al	As	Cd	Pb	Sn
04.03.2019	27,666	1,166	0,143	0,024	0,029
06.05.2019	31,565	1,547	0,187	0,026	0,015
05.08.2019	44,603	1,263	0,042	0,044	0,021
02.12.2019	112,356	1,335	0,024	0,059	0,066

Tableau 4 : Concentration des oligoéléments non essentiels dans les huîtres élevées dans la lagune du Calich (mg/kg)

DATE	Al	As	Cd	Pb	Sn
04.03.2019	27,666	1,166	0,143	0,024	0,029
06.05.2019	31,565	1,547	0,187	0,026	0,015
05.08.2019	44,603	1,263	0,042	0,044	0,021
02.12.2019	112,356	1,335	0,024	0,059	0,066

Tableau 5 : Concentration des oligoéléments essentiels en moules élevés dans la lagune du Calich (mg/kg)

DATE	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Rb	Se	V	Zn
04.02.2019	0,084	0,249	0,967	167,163	3,634	0,274	0,346	0,785	0,860	0,553	29,698
06.05.2019	0,037	0,088	0,661	57,280	2,975	0,072	0,120	0,987	0,545	0,078	25,856

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au coeur de la Méditerranée

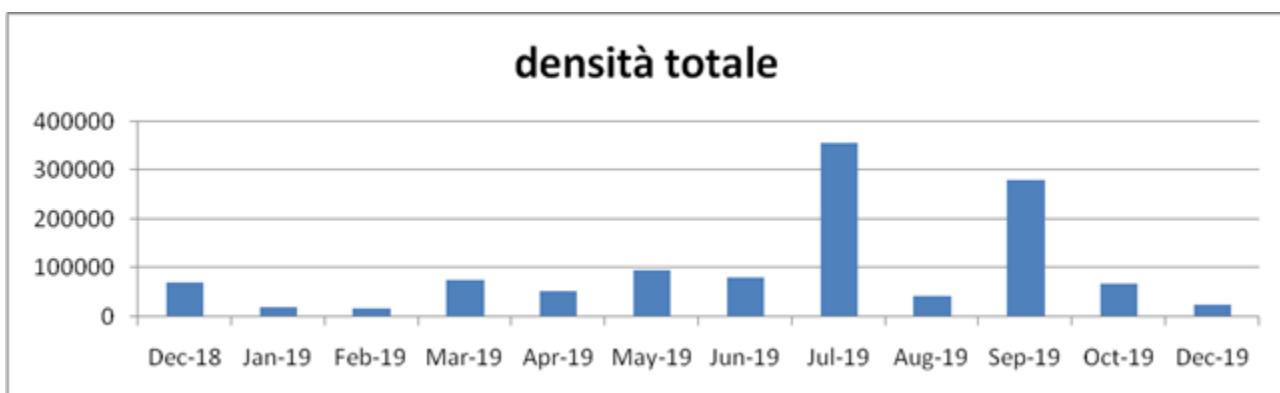
Tableau 6 : Concentration des oligoéléments essentiels dans les huîtres élevées dans la lagune du Calich (mg/kg)

DATA	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Rb	Se	V	Zn
<b>04.02.2019</b>	0,017	0,032	5,633	53	1,966	0,238	0,034	0,55	0,393	0,026	112,666
<b>06.05.2019</b>	0,021	0,036	7,226	57,040	2,308	0,078	0,039	0,597	0,425	0,0301	117,846
<b>05.08.2019</b>	0,033	0,048	1,860	36,684	12,459	0,180	0,046	1,409	0,469	0,035	39,578
<b>02.12.2019</b>	0,028	0,074	5,424	66,433	5,199	0,097	0,076	0,928	0,356	0,099	92,707

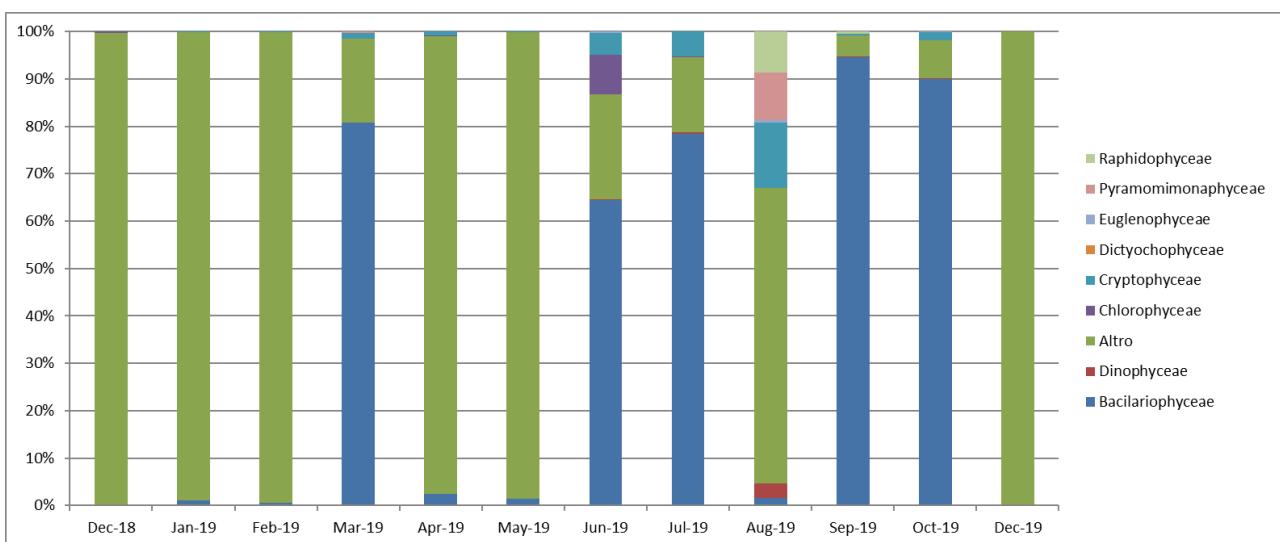
### c) Identification et comptage de la population phytoplanctonique

14

Graphique 1 : Densité mensuelle totale de la population phytoplanctonique dans la lagune du Calich (103 cellules/l)



GRAPHIQUE 2 : Répartition mensuelle des classes d'algues dans la lagune du Calich


 La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

#### 4. Conclusions

Ces dernières années, plusieurs études menées dans la lagune de Calich ont étudié ses potentialités en tant que site possible d'élevage de mollusques bivalves (Chessa et al., 2005; Pais et al., 2006; Pais et al., 2007; Cannas et al., 2011), la caractérisation de sa faune piscicole (Chessa et al., 2007), l'écotoxicologie de la lagune (Ielmini et al., 2014), l'écologie des composants planctoniques (Rossi et al., 2006; Pulina et al., 2017) et plus récemment la détermination des contaminants biotiques et abiotiques dans les mollusques bivalves présents dans les bancs naturels de la lagune (Esposito et al., 2018; Meloni et al., 2018; Bazzoni et al., 2019).

Beaucoup de ces études ont mis en évidence que la lagune du Calich est un système hautement productif et utilisé principalement pour des activités de pêche "traditionnelle". L'exploitation productive de la lagune pourrait être considérablement améliorée par la mise en œuvre de différentes formes d'aquaculture et notamment de conchyliculture.

Dans ce contexte, l'activité d'UNISS\_DMV dans le cadre de l'action pilote T2.1.2 a été caractérisée par une approche intégrée qui a considéré l'influence de facteurs biotiques (viraux, bactériens et phytoplanctoniques) et abiotiques (métaux lourds) la sécurité alimentaire des mollusques bivalves d'élevage.

Dans l'ensemble, les résultats concernant le niveau de contamination d'E. coli dans les huîtres ont toujours été inférieurs à la limite fixée pour les mollusques bivalves de classe B ( 4600 NPP/100 g). Cette limite a été dépassée une seule fois dans des échantillons de moules (février 2019). Toutefois, compte tenu de certains problèmes liés à la vitalité de ces mollusques, il n'a pas été possible de contrôler ces espèces sur une base annuelle, ce chiffre doit être considéré comme épisodique et non significatif.

Les valeurs relatives aux huîtres confirment ce que rapporte Bazzoni et al. (2019) dans une récente étude annuelle effectuée sur les moules récoltées par les bancs naturels de la lagune. *Salmonella* spp. , *V. parahaemolyticus* et HAV n'ont jamais été détectés. Seul un échantillon d'huîtres de décembre 2019 a permis de détecter la présence de Nov GI et de GII.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

Tous les échantillons de mollusques se sont révélés négatifs en raison de la présence de PSP et de DSP. En ce qui concerne la composante phytoplanctonique, les Bacillariophyceae (ou Diatomee) étaient la classe ayant le plus grand nombre d'espèces, avec les Dinophyceae. Les densités les plus élevées ont été atteintes par les cellules de petite taille : Cyclotella sp. (presque 300 x 10<sup>6</sup> cell/L en juillet 19), Ultraplancton (organismes de plus petite taille que 5 µm non identifiés) et Cryptophyceae indéterminée. La seule espèce potentiellement dangereuse a été Dinophysis acuminata, productrice de toxines DSP, en août 2019. Contrairement à ce qui a été rapporté récemment par Bazzoni et al. (2019), la présence de Pseudo-nitzschia spp. Il convient de signaler qu'en août 2019, deux espèces de Raphydophyceae ont été détectées, dont la présence est associée à une mortalité de poissons; les deux taxons, ensemble, ont atteint une densité algale de près de 3 x 10<sup>6</sup> cellules/L.

En ce qui concerne les traces toxiques pour les organismes vivants, même à faible concentration, le Règ. 1881/2006 fixe des limites maximales pour le cadmium et le plomb dans les mollusques bivalves, alors qu'il n'existe pas encore de limites fixées par l'UE pour les autres métaux dans les aliments. Les niveaux observés pour le cadmium et le plomb étaient bien en dessous des limites légales. Les niveaux les plus élevés ont été observés pour l'aluminium. La quantification des oligoéléments essentiels n'a pas mis en évidence la présence de valeurs potentiellement dangereuses pour l'homme. Les niveaux les plus élevés ont été observés pour le fer et le zinc. Les résultats relatifs à la concentration des métaux lourds dans les huîtres et les moules élevées confirment essentiellement ce qui a été récemment rapporté par Esposito et al. (2018) et Meloni et al. (2018) dans des palourdes et des moules provenant des bancs naturels de la lagune du Calich.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée

## 5. Bibliographie

1. Bazzoni, Mudadu, Esposito, Urru, Ortu, Uda, Arras, Lorenzoni, Sanna, Bazzardi, Marongiu, Virgilio, Meloni (2019) "Bacteriological and viral investigation combined wi determination of phytoplankton and algal biotoxins in mussels and water from a Mediterranean coastal lagoon" Journal of Food Protection, 82, 9, 1501-1511
2. Bej, A.K., D. P. Patterson, C. W. Brasher, M. C. Vickery, D. D. Jones, and C. A. Kaysner. 1999. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tl, tdh and trh. J. Microbiol. Methods 36:215–225.
3. Cannas, A., S. Manca, M. Trentadue, and N. Fois. 2011. Population structure of carpet shell clam (*Ruditapes decussatus* L.) in two coastal lagoons of Sardinia (Italy). Biol. Mar. Medit. 18:298–299.
4. Chessa, L. A., F. Paesanti, A. Pais, M. Scardi, S. Serra, and L. Vitale. 2005. Perspectives for development of low impact aquaculture in a Western Mediterranean lagoon: the case of the carpet clam *Tapes decussatus*. Aquac. Int. 13:147–155.
5. Chessa, L. A., E. Casola, P. Lanera, A. Pais, N. Plastina, S. Serra, M. Scardi, L. M. Valiante, and D. Vinci. 2007. Is there a correspondence between dominant trophic group in benthic and fish fauna of the Calich lagoon? Biol. Mar. Medit. 14:290–291.
6. Esposito, Meloni, Abete, Colombero, Mantia, Pastorino, Prearo, Pais, Antuofermo, Squadrone (2018) "The bivalve *Ruditapes decussatus*: a biomonitor of trace elements pollution in Sardinian coastal lagoons (Italy)" Environmental Pollution, 242, 1720-1728Ielmini, S. E., G. Piredda, S. Mura, and G. F. Greppi. 2014. Protein biomarkers as indicator for water pollution in some lagoons of Sardinia (Italy). Transit. Waters Bull. 8:32–52.
7. Laore Sardegna-IZS Sardegna (2014)  
<http://www.sardegnaagricoltura.it/index.php?xsl=443&s=257341&v=2&c=3535>
8. Laore Sardegna-IZS Sardegna (2016) Acquacoltura in Sardegna tradizioni, innovazione, sapori e ambiente,  
<http://www.sardegnaagricoltura.it/index.php?xsl=443&s=311243&v=2&c=3535>

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
 La coopération au coeur de la Méditerranée

9. Meloni, Esposito, Abete, Colombero, Mantia, Mudadu, Bazzoni, Ortu, Prearo, Squadrone (2018) "Preliminary assessment of trace elements in *Mytilus galloprovincialis* from a coastal lagoon in Sardinia (Italy)". Book of abstracts of Fish Forum FAO 2018, 223-224.
10. Pais, A., L. A. Chessa, S. Serra, and A. Ruiu. 2006. An alternative suspended culture method for the Mediterranean carpet clam, *Tapes decussatus* (L.), in the Calich lagoon (north western Sardinia). *Biol. Mar. Medit.* 13:134–135.
11. Pais, A., L. A. Chessa, S. Serra, A. Ruiu, and G. Meloni. 2007. Suspended culture of *Ostrea edulis* in the Calich lagoon (north western Sardinia, Italy): preliminary results. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:810–810.
12. Pulina, S., C. T. Satta, B. M. Padedda, A. M. Bazzoni, N. Sechi, and A. Lugliè. 2017. Picophytoplankton seasonal dynamics and interactions with environmental variables in three Mediterranean coastal lagoons. *Estuar. Coast.* 40:469–478.
13. Rossi, F., A. Castelli, and C. Lardicci. 2006. Distribution of macrobenthic assemblages along a marine gradient in Mediterranean eutrophic coastal lagoons. *Mar. Ecol.* 27:66–75.
14. Squadrone, S., Brizio, P., Stella, C., Prearo, M., Pastorino, P., Serracca, L., Ercolini, C., Abete, M.C. (2016). Presence of trace metals in aquaculture marine ecosystems of the northwestern Mediterranean Sea (Italy). *Environmental Pollution* 215, 77-83
15. Utermöhl, H. 1958. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton- methodik. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 9:1–39.

La cooperazione al cuore del Mediterraneo  
La coopération au cœur de la Méditerranée