



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE VETERINARIE

PIANO DI ATTIVITA' DELL'ASSEGNO DI RICERCA

TITOLO DEL PROGETTO: Valutazione microscopica dell'apparato digerente e riproduttore nel novellame di vongola verace (*Ruditapes philippinarum*) allevato con diverse modalità nella fase del pre-ingrasso.

Docente tutor: **Maurizio Mazzoni**

Durata: **24 mesi**

DESCRIZIONE DEL PROGETTO

Lo scopo del presente progetto è quello di valutare, attraverso l'utilizzo di metodiche istologiche classiche e l'immunoistochimica, le caratteristiche dell'apparato digerente e riproduttore della vongola verace (*Ruditapes philippinarum*) nel periodo del pre-ingrasso. La ricerca si inquadra nel Settore Scientifico Disciplinare VET/01 integrandosi ad un progetto europeo già in essere denominato Bivalvi.

Introduzione - La venericoltura (allevamento di molluschi appartenenti alla famiglia dei veneridi) rappresenta uno degli elementi trainanti, soprattutto sotto il profilo economico, del comparto della molluschicoltura italiana concentrata soprattutto nelle lagune dell'Alto Adriatico. I bivalvi forniscono ai consumatori alti livelli di nutrienti essenziali. Lo sviluppo tecnologico del settore di organismi acquatici a lento sviluppo come i bivalvi risulta fortemente in ritardo rispetto ad altri settori avanzati dell'acquacoltura. Negli ultimi anni, condizioni ambientali instabili hanno fortemente compromesso lo sviluppo della produzione di bivalvi in Italia ed in Europa. Particolarmente colpite dal fenomeno risultano le cosiddette "aree nursery" ovvero zone lagunari che, per tipologia di fondale ed essenzialmente per gioco di correnti, consentono l'insediamento di grandi quantità di novellame. In questo contesto, la produzione della vongola verace (*Ruditapes philippinarum*) è stata altresì ostacolata da problematiche quali predazione, malattie, disponibilità di cibo e tassi di crescita eterogenei. Il progetto europeo Bivalvi (in linea con la c.d. UE Green Deal Strategy, Europe and Maritime Fisheries Fund ed Horizon 2020) si pone come obiettivo quello di promuovere l'importanza di alcune specie di bivalvi (inclusa la vongola verace) per una produzione acquicola sostenibile in Europa. Lo scopo del progetto Bivalvi, all'interno del quale il Prof. Alessio Bonaldo (DIMEVET - UNIBO) è parte integrante di un gruppo di collaborazione con partners irlandesi e norvegesi, sarà quello di testare tecnologie di allevamento per



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE VETERINARIE

il novellame/larve di vongola verace durante il periodo di pre-ingrasso e di crescita e, sulla base dei risultati acquisiti, definire sistemi di gestione standard della produzione di larve/novellame di vongola verace adattati alle attuali condizioni ambientali.

Obiettivi - L'oggetto principale di questa ricerca sarà l'indagine microscopica dell'apparato riproduttore e digerente nel novellame di vongola verace (*Ruditapes philippinarum*). Come noto, il metodo più utilizzato per la visione e l'analisi dei tessuti anatomici è rappresentato dall'istologia e dall'immunoistochimica (IHC); queste metodiche hanno come scopo lo studio della morfologia dei tessuti, e delle cellule che li compongono, sia da un punto di vista morfologico che funzionale. In generale, come nella maggior parte dei bivalvi, l'apparato riproduttore è costituito da un reticolo di canali di diametro irregolare che dà origine ad un canale dorsale più ridotto. Questi canali convergono nel foro genitale che forma esternamente una papilla sporgente, al centro della quale si trova l'orifizio genitale. La papilla genitale si trova nella cavità sopra-branchiale sul pericardio. L'apparato digerente è formato da una bocca (nei veneridi generalmente in posizione opposta rispetto ai sifoni) dotata di palpi, un breve esofago ciliato al quale fa seguito lo stomaco: quest'ultimo è circondato da una massa ghiandolare con funzioni digerenti (epato-pancreas). Allo stomaco fa seguito un intestino relativamente lungo che, all'esordio, forma diverse anse per poi prolungarsi nella parte terminale, attraversando il pericardio, ed infine sboccare nel sifone esalante posto in corrispondenza del muscolo adduttore posteriore.

Materiali e Metodi – Il progetto europeo Bivalvi, già avviato, prevede una prima fase dove vengono testati quattro sistemi di modalità di allevamento all'ingrasso: 1) sistema a corsie (un sistema a flusso continuo in un canale artificiale), 2) lanterne in rete sospese in mare, 3) cassoni di legno e rete, 4) vongole posizionate sul sedimento e protette dai predatori attraverso un particolare telaio. In una seconda fase, le prove sul campo sono accompagnate da prove sperimentali indoor. Negli acquari del laboratorio sperimentale con sede a Cesenatico (DIMEVET - UNIBO), il novellame di vongola viene allevato in batterie di acquari. Da un campione di 100 esemplari di novellame di vongole veraci 50 esemplari saranno sacrificati per valutare le prestazioni e i parametri biometrici di crescita e 50 saranno sottoposti ad analisi del microbiota per determinare quale sistema di allevamento ha garantito migliori condizioni di salute.

Lo scopo specifico del SSD VET/01 sarà quello di prelevare da 50 esemplari (gli stessi utilizzati per le valutazioni biometriche) la massa viscerale contenuta all'interno delle valve e di fissarla in formalina tamponata per almeno 48 ore. Per



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE VETERINARIE

ogni animale, sarà eseguito un taglio sul piano sagittale della massa viscerale al fine di avere nella sezione finale un quadro, il più possibile completo, dell'anatomia del mollusco. Dopo la processazione dei campioni fino all'inclusione in paraffina, attraverso microtomia, saranno realizzate sezioni istologiche (spessore di 4-6 μm). Le sezioni saranno sottoposte a colorazione istologica con ematossilina-eosina la quale fornirà informazioni generali sulla morfologia del campione in esame, mentre altre metodiche quali tricromica di Masson e PAS potrebbero fornire informazioni più dettagliate riguardo il tessuto connettivo ed il contenuto di glicogeno (es. epato-pancreas). In aggiunta, mediante IHC, verrà valutata nel tratto digerente la presenza e distribuzione di cellule che esprimono marcatori quali grelina, colecistochinina, neuropeptide Y e somatostatina, mentre, nell'apparato riproduttore, verrà valutata, sempre attraverso IHC, l'immunoreattività della *heat shock protein 70* (HSP70): recenti studi riportano come, nel vasto range delle *heat shock protein*, HSP70 risulta espressa nella vongola verace (Hu et al., 2022).

Risultati attesi – I risultati di questa ricerca, integrati con i dati emersi delle altre discipline, potrebbero fornire interessanti indicazioni sulla morfologia dell'apparato digerente e genitale e, in senso generale, sullo stato di salute di questa specie ittica di notevole interesse commerciale nella fase del periodo dell'ingrasso in diverse condizioni di allevamento.

Hu Z., Song H., Feng J., Zhou C., Yang M.J., Shi p., Yu Z.L., Li Y.R., Guo Y.J., Li H.Z., Zhang T. **2020**. *Massive heat shock protein 70 genes expansion and transcriptional signatures uncover hard clam adaptations to heat and hypoxia*. *Frontiers in Marine Science* 9: 898669.