

PREMIO TESI “S.I.P.I. 2007”**Prove di trattamento dell’infestazione da *Polydora ciliata*
in *Crassostrea gigas****Treatment trials in Crassostrea gigas against
Polydora ciliata infection***Barbara Spiga¹, Giovanni Fenzi², Fulvio Salati^{1,2}**

¹ Corso di laurea in Scienze dell’Ambiente e delle Produzioni marine, Facoltà di SSMMFF, Università di Sassari, Sede di Alghero; ² Centro per l’Ittiopatologia e l’Acquacoltura, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, sede di Oristano.

SUMMARY – *Crassostrea gigas* is one of the most important cultured oyster species; it is cultivated in natural environment and doesn’t need an artificial feeding. Nevertheless, eutrophic waters, with an elevated organic enrichment cause a higher risk of parasite infections. *Polydora ciliata* is a polychaete belonging to Spionids; it is an opportunistic parasite and may parasitize many reared mussels and clams. *P. ciliata* may parasitize 70% of the cultivated oysters and causes the production of a nacreous layer and the atrophy or, in many cases, the disjunction of the abductor muscle. These events cause the decrease of the oysters’ value. The goal of this study was to find a treatment that could be used in the field and that could reduce the presence of *P. ciliata* in *C. gigas*. For this purpose, three different products, commonly used in aquaculture against parasites, have been studied: the first one was hydrogen peroxide and peracetic acid based (HPPA), the second one was formalin (FO) and the third one was sodium chloride (NaCl). Fifty oysters were used in triplicate for each trial; the length of application ranged from 6 to 24 h for HPPA and FO and was of 30 min. for NaCl; whereas, concentrations of the three products were: HPPA 15 and 30 ml/m³, FO 10 and 100 ml/m³ and NaCl 360 g/l. The results obtained with the treatment trials are the following: HPPA product induced a *P. ciliata* mortality ranging from 25 to 67%, but with an oysters mortality, of 0 to 9%, respectively; FO induced a mortality of the parasite ranging from 8 to 52% and that of the oysters from 7 to 87%, respectively. Finally, the NaCl treatment showed a parasite mortality of 95% without mortality of the host. In conclusion, it was possible to observe a clear efficacy of NaCl treatment with high *P. ciliata* mortality and a complete oysters’ survival. This could be explained by an osmotic shock induced by the salt inside the blister-mud containing the parasite, and the following salt crystallization on the surface of the shell. On the other hand, the treatment with FO showed a strong action on the oysters without good results on the parasite. Furthermore, the HPPA product caused few injuries to the host, without efficacy on the parasite, showing a weak capacity of this product to kill *P. ciliata*.

Key words: *Crassostrea gigas*, *Polydora ciliata*, Oyster culture, Parasite, Treatment.

INTRODUZIONE

I molluschi bivalvi vengono allevati su larga scala e in ambienti naturali, non necessitando di un’alimentazione artificiale. La pesca e l’allevamento delle circa cinquanta specie che compongono la famiglia Ostreidae viene praticata in tutti i mari del mondo. L’ostrica concava (*Crassostrea gigas*, Thumb), in particolare è il mollusco più allevato su scala globale, con una produzione annua di 4,6 milioni di tonnellate (FAO, ISMEA, I semestre 2006). La produzione europea ammonta a circa 180.000 tonnellate/anno: la quasi totalità, 150.000 t., vengono prodotte in Francia, meno di 5.000 t. in Spagna, insignificanti, seppure

in crescita, le produzioni di Olanda e Portogallo. In Italia la pratica dell'ostricoltura è marginale, quasi sperimentale e in genere associata ad altre produzioni principali quale la mitilicoltura (*Mytilus galloprovincialis*) e la venericoltura (*Tapes philippinarum* e *T. decussatus*). I principali allevamenti di ostricoltura sono localizzati in Puglia, nel Mar Piccolo di Taranto ed in Romagna nella Sacca di Goro in alto Adriatico, i quali possono contare su una produzione di circa 500 t/anno (Turolla, 2006).

In Sardegna, l'allevamento di ostriche è ancor oggi marginale: a partire dal 1984 nella Laguna di San Giovanni (CA) l'attività, nonostante non abbia portato a risultati produttivi di particolare rilievo, continua mettendo in evidenza come la coltura di questi organismi possa favorire la valorizzazione di ambienti salmastri. Nel Golfo di Olbia nel 2000 fu portata avanti una sperimentazione consistente in un progetto pilota di ostricoltura in associazione con la mitilicoltura: circa 100.000 ostriche (*C. gigas*) sono state coltivate in strutture utilizzate per i mitili, ottenendo risultati positivi ed incoraggianti, ma tutto si limitò a questo esperimento (Viale & Salati, 2003). E' invece produttivo l'allevamento di *Ostrea edulis* di Tortoli (NU) effettuato in ceste fino al raggiungimento di 3-4 cm di lunghezza e successivo posizionamento col cemento su assi verticali in numero di 30 soggetti per fila (Innamorati, 2002).

Oggetto del presente studio è l'allevamento di *C. gigas* situato nella laguna di S. Teodoro (OT), Sardegna nord-orientale. Le ostriche vengono allevate in poche collocate a tre differenti altezze nella colonna d'acqua (30, 60 e 90 cm dal fondo). Sono necessari all'incirca due anni affinché un'ostrica raggiunga la taglia commerciale.

L'allevamento delle ostriche, interessante dal punto di vista produttivo, può essere ostacolato e/o compromesso, in acque eutrofiche e ad elevato arricchimento organico, da un maggiore rischio di infezioni parassitarie. Infatti, le conchiglie dei molluschi bivalvi e in particolare delle ostriche fungono da substrato ad innumerevoli specie di organismi bentonici che vivono o sulla superficie di queste o la perforano andando a colonizzarla internamente.

Polydora ciliata (Phylum Anellida, famiglia Spionidi) è un polichete ed uno dei principali parassiti opportunisti capaci di insediarsi in diversi molluschi di allevamento, tra cui *C. gigas* (Handley, 2000). In particolare *P. ciliata*, perfora la conchiglia dell'ostrica sia chimicamente che meccanicamente, andando a creare dei tubi ad U che allarga proporzionalmente alla sua crescita (Figura 1). All'interno dei tubi viene convogliato tutto il particellato che serve alla *Polydora* come nutrimento portando anche alla formazione di idrogeno solforato (Handley, 2000; Boscolo & Giovanardi, 2002). L'attività di insediamento del parassita porta alla produzione di bolle di madreperla da parte dell'ospite (Figura 2) provocando atrofia e, nei casi più gravi, il distacco del muscolo adduttore; inoltre, questa parassitosi porta ad un deprezzamento del prodotto, in quanto le ostriche appaiono magre con caratteristiche organolettiche negative (es. consistenza alterata, gusto poco gradevole, ecc.).

Lo scopo del presente studio è stato quello di trovare un trattamento da applicarsi anche su campo ed in grado di ridurre la presenza di *P. ciliata* in *C. gigas*, in quanto può parassitare anche il 70% delle ostriche di un allevamento.

MATERIALI E METODI

Le ostriche sono state studiate sia dal punto di vista delle eventuali lesioni anatomopatologiche, che dal punto di vista parassitologico (la diagnosi è stata effettuata mediante il riconoscimento a fresco, o previa colorazione del parassita al microscopio ottico); mentre i trattamenti contro *P. ciliata* sono stati effettuati utilizzando tre prodotti differenti.

Per ciascuna prova sono stati utilizzati 50 individui di *C. gigas*. Ciascun trattamento è stato effettuato con tre prodotti differenti, comunemente usati in acquacoltura per combattere le parassitosi: un prodotto a base di acqua ossigenata e acido peracetico (HPPA), la formalina al 24% (FO) ed il cloruro di sodio, ma in soluzione sovrasatura alla concentrazione di 360 g/l (NaCl).



Figura 1 - Caratteristici tubuli causati da *Polydora ciliata* in *Crassostrea gigas*.
Figure 1 - Characteristic shell blisters caused by *Polydora ciliata* in *Crassostrea gigas*.



Figura 2 - *Crassostrea gigas* parassitate da *Polydora ciliata*.
Figure 2 - *Crassostrea gigas* parasitized by *Polydora ciliata*.

Le ostriche di ciascuna prova sono state poste in acquario contenente 30 litri di acqua di mare filtrata e refrigerata alla temperatura costante di $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. Alla fine di ogni ciclo di trattamenti è stato eseguito il sorting: ciascuna ostrica è stata aperta e sono state verificate presenza e vitalità di *P. ciliata*. Contemporaneamente ai trattamenti sono stati effettuati controlli biometrici su ostriche appartenenti allo stesso lotto di allevamento, consistenti in: lunghezza e larghezza del guscio, peso del guscio, peso umido e peso secco del mollusco per confermare l'omogeneità del lotto.

In breve, i cicli di trattamento sia per il prodotto HPPA che per FO sono stati i seguenti: HPPA alla concentrazione di 15 e 30 ml/m^3 ed FO a 10 e 100 ml/m^3 ; ogni ciclo di trattamento consisteva in un trattamento della durata di 24 ore ripetuto tre volte; tra un trattamento e l'altro, l'acqua veniva sostituita completamente con nuova acqua di mare alla temperatura costante di $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. Ogni prova è stata ripetuta tre volte utilizzando ostriche dello stesso lotto sia di produzione dallo schiuditoio che dall'allevamento. Inoltre, ulteriori cicli di trattamento, di lunghezza inferiore al fine di limitare la mortalità registrata nelle ostriche, sono stati effettuati utilizzando il prodotto HPPA alla concentrazione di 30 ml/m^3 ed il prodotto FO alla concentrazione di 100 ml/m^3 per una durata di 6 ore. Per quanto riguarda il trattamento con il prodotto NaCl, questo è stato invece effettuato immergendo le ostriche nella soluzione per 30 minuti e quindi tenendole all'aria per circa 15 ore, prima di reimmetterle in acqua di mare pulita ed alla temperatura costante di $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. Anche questa prova è stata effettuata in triplice, utilizzando ogni volta dei soggetti differenti, ma appartenenti allo stesso lotto di ostriche. In Tabella 1 sono riassunti i trattamenti effettuati.

	HPPA			FO			NaCl		
Trattamento*	I	II	III	I	II	III	I	II	III
ml/m^3	15	30	30	10	100	100	Sat.	Sat.	Sat.
Durata	3x24 h	3x24 h	3x6 h	3x24 h	3x24 h	3x6 h	0,5 h	0,5 h	0,5 h

*) Ciascun trattamento è stato ripetuto in triplice; *) Each treatment was performed in triplicate.

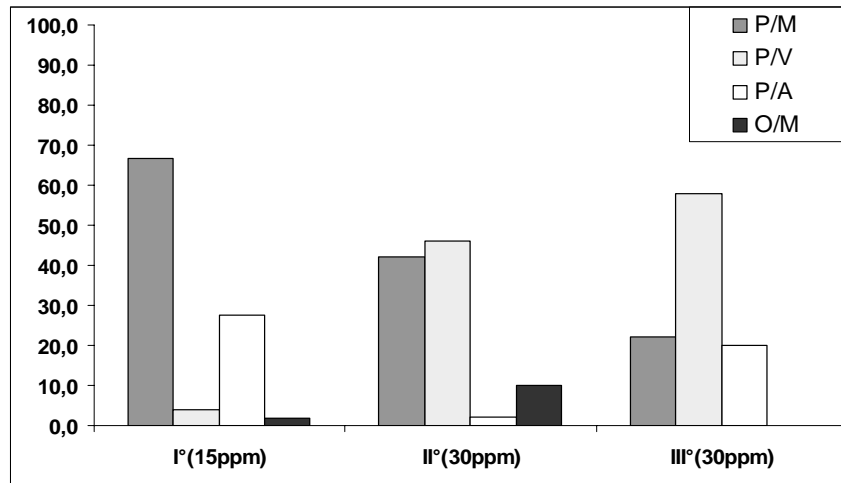
Tabella 1 - Schema riassuntivo dei trattamenti effettuati.
Table 1 - Scheme of treatments performed.

RISULTATI

I risultati dei trattamenti effettuati per limitare o eliminare *P. ciliata* da *C. gigas*, dati dall'unione delle tre prove ripetute effettuate per ogni dosaggio, sono riportati nelle Figure 3, 4 e 5.

L'omogeneità del lotto di ostriche utilizzato per la sperimentazione è stata confermata dai rilievi biometrici (dati non riportati). E' inoltre da rilevare che la terza prova effettuata con la formalina somministrata per un periodo più breve (6 ore) ha fatto registrare una più alta mortalità delle ostriche, prelevate dall'allevamento in un momento di sofferenza ambientale

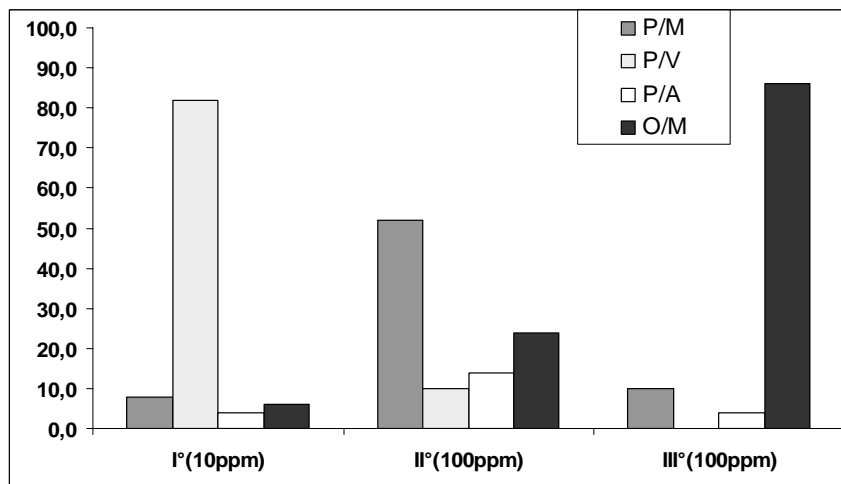
e lasciate in acquario in acqua pulita e alla temperatura costante di 25°C ± 1 per alcuni giorni prima dell'inizio della sperimentazione. Tutto ciò fa supporre che in condizioni di non completo benessere del mollusco, il trattamento con formalina possa causare elevate mortalità.



Legenda: P/M: parassita morto
 P/V: parassita vivo
 P/A: parassita assente
 O/M: ospite morto

P/M: 25-67%
 O/M: 0-9%

Figura 3 - Trattamento con il prodotto a base di acqua ossigenata e acido per acetico.
 Figure 3 - Treatment with hydrogen peroxide and peracetic acid based product.



Legenda: P/M: parassita morto
 P/V: parassita vivo
 P/A: parassita assente
 O/M: ospite morto

P/M: 8-52%
 O/M: 7-87%

Figura 4 - Trattamento con la formalina.
 Figure 4 - Treatment with formalin.

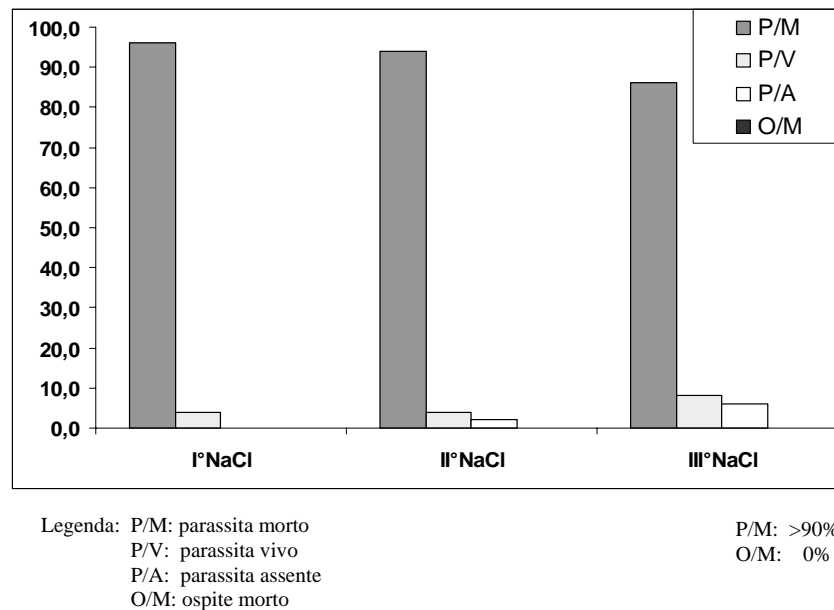


Figura 5 - Trattamento con la soluzione satura di cloruro di sodio.
Figure 5 - Treatment with saturated salt solution.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Lo scopo del presente studio è stato quello di trovare un trattamento di facile applicazione in impianto e in grado di ridurre la presenza di *P. ciliata* in *C. gigas*, in quanto può essere causa di gravi perdite in allevamento. A tale scopo sono stati utilizzati tre distinti prodotti: uno a base di acqua ossigenata ed acido peracetico, uno da formalina ed un ultimo da cloruro di sodio. I primi due prodotti sono stati testati in quanto comunemente utilizzati in acquacoltura per profilassi e/o terapia di molte parassitosi ittiche (Francis-Floyd, 1996). Anche il sale viene utilizzato in acquacoltura contro alcune parassitosi ittiche (Francis-Floyd, 1995) ed è inoltre già stato utilizzato in Normandia da Ruellet (2004) nelle ostriche, con buoni risultati sperimentali. Nella presente sperimentazione, il trattamento con la formalina ha fatto registrare risultati mediocri su *P. ciliata* e danni consistenti all'ostrica precludendone la commercializzazione; mentre, utilizzando il prodotto a base di acqua ossigenata e acido peracetico, l'ostrica non subisce danni importanti, ma l'effetto su *P. ciliata* rimane limitato non risolvendo così il problema della parassitosi in allevamento. I risultati ottenuti hanno inoltre evidenziato una grande sensibilità di questi molluschi se i trattamenti vengono effettuati in momenti di sofferenza dovuti a situazioni ambientali stressanti, quali possono sempre verificarsi durante l'allevamento. Sia la formalina che il prodotto a base di acqua ossigenata e acido peracetico sono pertanto due sostanze incapaci di agire in maniera selettiva sul parassita, al contrario del cloruro di sodio, che è risultato essere il più efficace. Con questo trattamento è stato infatti possibile osservare un ottimo stato di salute dell'ostrica ed un'elevata mortalità di *P. ciliata*. Presumibilmente l'alta concentrazione di sale ha indotto uno shock osmotico all'interno delle sacche create dal parassita nell'ostrica inducendone la

morte, ma non danneggiando l'ospite in quanto, per brevi periodi di tempo, questo mollusco ha una notevole tolleranza alle forti concentrazioni saline.

BIBLIOGRAFIA

- Boscolo R. & Giovanardi O. (2002). Infestazione da parte di *Polydora ciliata* di vongole filippine mantenute in sospensione in mare adriatico. In: "Polydora ciliata shell infestation in Tapes philippinarum Manila clam held out of the substrate in the Adriatic sea, Italy", *J. Invertebrate Pathol.*, 79: 197-198.
- Francis-Floyd R. (1995). The use of salt in aquaculture. *University of Florida – Cooperative Extension Service: Fact Sheet VM-86.*
- Francis-Floyd R. (1996). Use of formalin to control fish parasites. *University of Florida – Cooperative Extension Service: Fact Sheet VM-77.*
- Handley S.J. (2000). Spionid polychaetes in Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg) from Admiralty Bay, Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand J. Marine Freshwater Res.*, 29: 305-309.
- Innamorati B. (2002). Indagine sulle parassitosi in mitili (*Mytilus galloprovincialis*) ed ostriche (*Crassostrea gigas* ed *Ostrea edulis*) allevati in Sardegna. *Tesi di Laurea, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Camerino.*
- Ruellet T. (2004). Infestation des coquilles d'huîtres *Crassostrea gigas* par les polydore en Basse-Normandie: recommandations et mise au point d'un traitement pour réduire cette nuisance. *Ecole Doctorale Normande Chimie-Biologie, Université de Caen / Basse-Normandie.*
- Turolla E. (2006). Allevamento in sospensione dell'ostrica concava su sistemi long-line al largo di Goro (FE). *Il Pesce*, 3: 6-12.
- Viale I. & Salati F. (2003). Allevamento di *Crassostrea gigas* in long-line di *Mytilus galloprovincialis*: risultati del progetto pilota. In: "Acquacoltura: i progetti pilota del Consorzio Ventuno ed altre esperienze a confronto", *Report Regione Autonoma della Sardegna*: 1-25.