



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA  
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA  
ASSESSORADU DE SA DEFENSA DE S'AMBIENTE  
ASSESSORATO DELLA DIFESA DELL'AMBIENTE

Allegato alla Delib.G.R. n. 61/39 del 18.12.2018

# Piano di Azione Regionale per la conservazione della *Pinna nobilis*.





## Sommario

Introduzione .....	2
Il fenomeno di moria di massa .....	3
Scopo del progetto .....	3
Aree di indagine.....	4
Programma attività.....	6
Cronoprogramma .....	8
Soggetti attuatori.....	8
Archiviazione e gestione dei dati.....	9
Risultati attesi.....	9
Stima dei costi: .....	9

## Introduzione

Endemica del Mediterraneo, *Pinna nobilis* (Linneo, 1758) è tipica del Piano Infralitorale, dove è comune tra le praterie di fanerogame, in particolare di *Posidonia oceanica*, ma anche su fondali ghiaiosi, sabbiosi e fangosi, fino a circa 60 m di profondità, spingendosi anche nella parte più superficiale del Piano Circalitorale.

*Pinna nobilis* è il più grande mollusco bivalve del Mediterraneo che può raggiungere e/o superare gli 80 cm di altezza, fino ad un massimo di 100 cm. Possiede un bisso robusto con cui aderisce al substrato. La conchiglia cuneiforme è molto sottile e fragile (soprattutto negli esemplari giovani) e la curvatura dell'apice delle valve presenta una forma ad arco. La superficie delle valve si presenta ornata da lamelle squamose, meno pronunciate negli individui adulti. La colorazione è bruna esternamente e madreperlacea all'interno (a livello dell'impronta muscolare). La presenza della specie è segnalata lungo tutte le coste italiane (Bava, 2009).

È stata inserita nell'elenco delle specie minacciate di estinzione e protette dalla Direttiva 92/43/CE del Consiglio europeo (CE, 1992) e sottoposta a regime di tutela nell'allegato IV, pertanto è sotto stretta protezione e nell'allegato II della convenzione di Barcellona (protocollo SPA/BIO, 1995).

La numerosità delle popolazioni, in seguito alle attività di tutela, appariva fino allo scorso anno elevata e distribuita in modo omogeneo in tutte le aree analizzate. Tuttavia, in seguito ai monitoraggi del 2017/18 inerenti la Strategia Marina di specie di interesse comunitario, è emersa un'allarmante moria di individui in tutte le popolazioni sarde e italiane finora censite (con picchi di mortalità del 70-90%). Tale fenomeno è probabilmente associato ad un'infezione patogena ad opera del Protista endoparassita *Haplosporidium pinnae*, già responsabile della moria e totale scomparsa di un gran numero di popolazioni spagnole (Catanese *et al.*, 2018).

In tale contesto, si colloca questo Piano di azione regionale su *Pinna nobilis*, il cui obiettivo principale è quello dell'acquisizione di informazioni sullo stato attuale della risorsa e sull'andamento, dell'evento di mortalità di massa della Pinna lungo le coste sarde. In particolare, attraverso la condivisione di un



protocollo comune a tutte le parti interessate si mira ad acquisire un archivio di dati comparabili a livello regionale finalizzato anche all'individuazione di eventuali misure gestionali degli esemplari sopravvissuti.

## Il fenomeno di moria di massa

L'attuale moria di massa di *Pinna nobilis* è sostenuta da un protozoo, probabilmente riconducibile ad *Haplosporidium pinnae* (Ascetosporea: Haplosporidiidae), che ha iniziato a manifestarsi nel 2016 lungo le coste spagnole ed è stato isolato da individui malati in Spagna. Attualmente è oggetto di indagini da parte del Dr.ssa Amalia Grau (Laboratori d'Investigacions Marines i Aqüicultura, Illes Balears, Spain). Nel complesso i censimenti visivi eseguiti in Spagna nel 2016 e 2017 hanno evidenziato che alcuni fattori come la profondità, il tipo di habitat e la densità degli individui non influenzano la probabilità di contagio. Gli individui affetti ma ancora vivi sono chiaramente differenziabili dal momento che presentano una retrazione del mantello (che non raggiunge il bordo della valva) e una chiusura molto lenta delle valve in relazione a stimoli. Analoghe osservazioni sono state effettuate nelle aree investigate della Sardegna.

È possibile tuttavia che esistano altri agenti patogeni che potrebbero aver causato le morie di *Pinna nobilis* in differenti aree del Mediterraneo.

## Scopo del progetto

Il presente piano si pone come obiettivi principali sia l'acquisizione di informazioni sullo stato di salute della specie in Sardegna che lo studio dell'andamento dell'evento di mortalità di massa a livello di popolazione lungo le coste sarde. In particolare, si lavorerà su due aspetti, da un lato il monitoraggio ecologico sul campo e dall'altro un'approfondita indagine molecolare che interessi sia la specie in oggetto, sia il patogeno che ne causa la morte.

Gli obiettivi specifici sono:

- a) Valutare lo stato ecologico della popolazione di *P. nobilis* in Sardegna;
- b) Identificare possibili aree di resilienza, e se presenti monitorarne l'andamento ai fini di nuove strategie di conservazione della specie;
- c) confronto diretto tra la variabilità genetica delle popolazioni sarde ottenute nel periodo pre-epidemia e variabilità genetica attuale. Tale confronto darà la possibilità di verificare la percentuale di variabilità genetica persa in seguito alla moria e fornire previsioni sulle potenzialità di sopravvivenza delle popolazioni che avranno origine dagli individui superstiti;
- d) genotipizzazione di individui sopravvissuti, volta ad individuare eventuali lignaggi resistenti al patogeno;
- e) diagnosi differenziale. Tutti i campioni prelevati saranno saggiati con i marcatori molecolari specifici per diagnosticare le infezioni da *Haplosporidium pinnae* e, successivamente, da altri parassiti potenzialmente patogeni nei bivalvi. Tali analisi avranno l'obiettivo di verificare se la moria sia da attribuirsi ad un unico patogeno o piuttosto ad una patologia multifattoriale come accade in altri bivalvi;
- f) filodinamica del patogeno/i, volta a risalire al luogo e all'origine temporale dell'epidemia. Tale informazione sarà utile anche per verificare l'eventuale tempo di latenza del patogeno/i e per capire se ci siano stati fattori esterni che abbiano influito sulla virulenza;



g) Sensibilizzare i fruitori del mare dell'importanza della tutela di *Pinna nobilis*.

## Aree di indagine

### Aree di indagine Strategia Marina 2018 (in corso)

Attualmente in Sardegna è in corso il "Programma di monitoraggio POA 2018 – ARPAS" ai sensi del D.LGS. 190/2010, nell'ambito della Strategia Marina. Nella figura 1 sono riportate in azzurro le aree scelte per il monitoraggio di *Pinna nobilis* indagate da ARPAS e in rosso le Aree Marine Protette, all'interno delle quali sono in corso azioni di monitoraggio della *Pinna nobilis* anch'esse nell'ambito della Strategia Marina 2018.

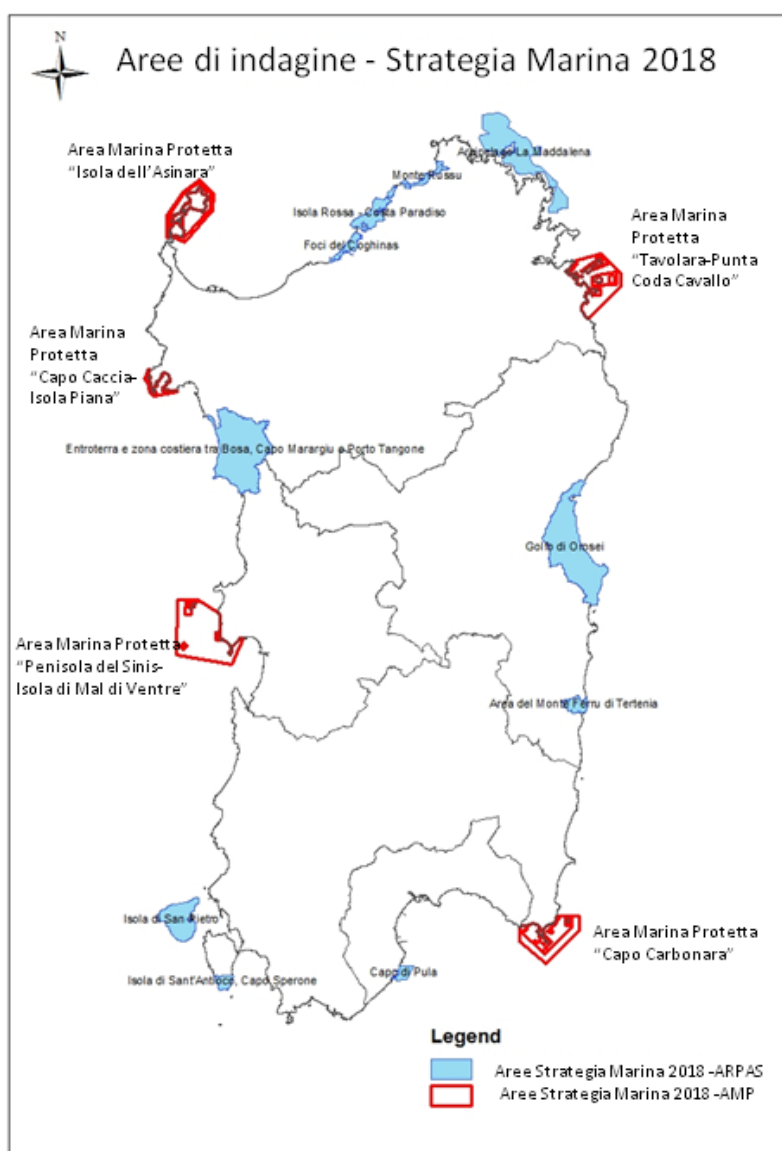


Figura 1 Aree indagate nell'ambito della Strategia Marina



### Aree d'indagine Piano di azione regionale per la conservazione della *Pinna nobilis* (da realizzare)

In figura 2 sono rappresentate le aree che saranno indagate nell'ambito del presente Piano Regionale: si è ritenuto opportuno integrare alcune aree esterne alle Aree Marine Protette, in particolare si tratta di banchi di Pinna di particolare interesse in quanto popolati da individui di *Pinna nobilis* ancora vivi. Le aree di indagine all'interno delle Aree marine protette saranno indagate dalle medesime AMP. L'area aggiuntiva individuata nell'isola di Sant'Antioco (area ABISSO) sarà monitorata dall'Area Marina Protetta di Capo Carbonara in sinergia con il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (DiSVA) dell'Università degli Studi di Cagliari. Le aree individuate esternamente in prossimità dell'Area Marina Protetta di Tavolara Punta Coda Cavallo saranno indagate dalla stessa Area Marina Protetta, che indagherà anche eventuali banchi presenti nell'Area Marina Protetta "Capo Testa-Punta Falcone", attualmente non indicati in cartografia in quanto non ancora individuati.

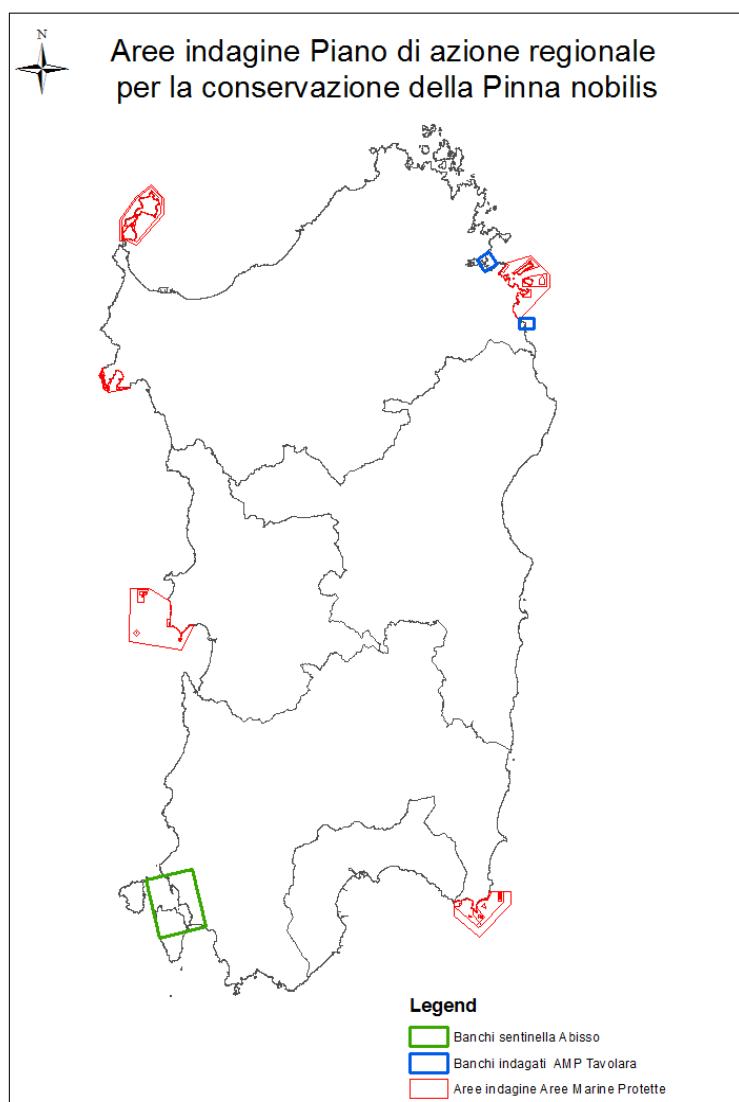


Figura 2 Aree indagate nell'ambito del Piano Regionale di conservazione di *Pinna nobilis*



## Programma attività

**Azione 1.** Si tratta di un'azione propedeutica per l'organizzazione del monitoraggio della specie, che ha lo scopo di raccogliere e catalogare i dati precedenti alla moria di massa, derivanti da indagini tecniche, letteratura scientifica, cartografia.

I soggetti attuatori del Piano procederanno a:

- Catalogazione di eventuali aree indagate prima dell'evento di moria di massa, se possibile spaziando anche oltre i confini delle aree indagate nell'ambito della Strategia Marina.
- Ricognizione dei Protocolli utilizzati per i monitoraggi prima dell'evento di moria di massa, acquisizione della cartografia dei banchi indagati, indici di densità di *Pinna nobilis* (ind.m<sup>2</sup> vivi / morti).
- Georeferenziazione dei dati disponibili (stazioni, unità di campionamento utilizzate) e classificazione degli impatti nelle aree indagate precedentemente all'evento.

## Azione 2.

### Monitoraggio in campo:

Per ogni area di indagine verranno individuati dei siti di monitoraggio. Laddove possibile si prevede di proseguire lo studio condotto nelle Aree marine protette e nei tratti al di fuori, indagati nell'ambito dei Programmi di Monitoraggio per la Strategia Marina Art. 11, D.lgs. 190/2010.

All'interno delle singole unità di studio precedentemente georeferenziate, ovvero celle di 100m x 100m, dovrà essere riportato il dato di densità e lo stato di salute degli esemplari.

Affinché il presente programma sia funzionale all'emergenza in corso si propone un'integrazione rispetto al protocollo di campionamento previsto nella Strategia Marina, in particolare si prospetta di individuare delle sub aree di indagine dette "banchi sentinella", una o due per area di indagine (comprese quindi all'interno delle aree di studio della Strategia Marina).

In particolare per ogni area di indagine di ciascuna AMP e nell'Isola di Sant'Antico si individueranno delle celle di studio o "banchi sentinella", nell'ordine di almeno due unità per area di indagine (comprese quindi all'interno delle aree di studio della Strategia Marina). Lo scopo primario del monitoraggio sarà: a) studiare l'andamento della mortalità ecologica nei banchi sentinella, cioè la perdita di individui nell'unità di tempo; b) studiare la correlazione della mortalità con il patogeno o con altri stressor ambientali; c) verificare la resilienza e resistenza ecologica di *P. nobilis* nell'arco di 24 mesi.

I singoli banchi sentinella saranno circoscritti e delimitati fisicamente con segnali sommersi o in superficie, da valutare in autonomia per ciascun banco.

Ogni singolo banco dovrà essere georeferenziato ed un numero rappresentativo di esemplari marcati con dei picchetti per consentire il monitoraggio sistematico nel tempo.

Il timing delle attività di campionamento si svilupperà a carattere mensile e adattabile comunque allo stato di salute dei banchi.

I campionamenti verranno condotti tramite immersione ARA da operatori subacquei con l'ausilio di un assistente di superficie.





Gli indici nelle unità campione saranno:

- A. Conteggio numerico degli esemplari vivi (V) e morti (M);
- B. Valutazione della reattività degli esemplari vivi:  $V_0$  (malati/vivi non reattivi); V (vivi reattivi)
- C. Posizione esemplari: morto verticale ( $M_v$ ) e morto orizzontale ( $M_o$ );
- D. Biometrie degli individui vivi: altezza (in cm) delle valve a livello del substrato ( $H_s$ ) (parte emersa), larghezza massima (in cm) delle valve ( $L_m$ ); spessore massimo (in cm) delle valve ( $S$ );
- E. Documentazione fotografica del banco e dei singoli esemplari o un numero rappresentativo di esemplari qualora le abbondanze fossero elevate;
- F. Rilevamento della profondità (m), tipologia di fondale (Posidonia, detrito, sabbia, fango);

Riguardo alla valutazione della reattività (indice B), si classificheranno come individui malati ( $V_0$ ) quelli con valve sempre aperte o spalancate, chiusura lenta (8/10 secondi o più), perdita di forza del serraggio e recessione del mantello.

Se in un banco sentinella, in cui sia in atto la moria massiva, vengono individuati esemplari vivi e con pronta capacità reattiva (V), questi dovranno essere indicati come non malati/"asintomatici" e verranno marcati (preferibilmente con una tecnica che non apporti ulteriore stress all'animale, es. picchetti).

Se gli esemplari marcati si presentano ancora in buona salute nel tempo, (dopo 2, 3, 4, n... mesi), potranno essere classificati come possibili resistenti all'agente infettivo ( $V_i$ , in cui  $t=60, 90, 120$  etc etc ). Su questi individui particolarmente importanti si potrà intervenire con collaudato protocollo di campionamento non invasivo, allo scopo di ottenerne la tipizzazione genetica.

Durante le operazioni di campionamento verrà condotto il monitoraggio dei parametri chimico/fisici tramite sonda multiparametrica e riprese video o fotografiche georeferenziate.

In questa azione verranno sviluppati gli obiettivi specifici a e b.

### **Azione 3.**

#### **Protocollo analisi genetiche per Genotipizzazione:**

Si prevede di campionare mediante metodo non letale (Sanna et al., 2013) tutti gli individui superstiti rinvenuti, fino ad un massimo di 25/30 individui per stazione di indagine. Inizialmente si prevede di analizzare una stazione per area, poi, sulla scorta delle informazioni provenienti dal monitoraggio speditivo condotto da ciascuna Area Marina Protetta, si potrà aumentare il numero delle stazioni.

Nello specifico, saranno analizzati individui provenienti dalle Aree Marine Protette sarde coinvolte nel progetto, e dall'area di indagine di Sant'Antioco.

Verranno analizzati anche individui campionati fuori dalle Aree Marine Protette: in questo caso il numero di questi individui varierà in base alla distanza e alla posizione rispetto all'Area Marina Protetta più vicina.

Ogni campione sarà interessato da due tipologie di analisi condotte in parallelo, una su *Pinna nobilis* e una sul patogeno/i. Al fine di eseguire una meticolosa diagnosi differenziale, si sottolinea che tutti i campioni saranno saggiati con i marcatori specifici per diagnosticare le infezioni da *Haplosporidium pinnae* e successivamente da tutti gli altri protisti potenzialmente patogeni nei bivalvi. Tali analisi avranno l'obiettivo



di verificare se la moria sia da attribuirsi ad un unico patogeno o piuttosto ad una patologia multifattoriale come accade in altri bivalvi.

I marcatori usati per *Pinna nobilis* saranno sia nucleari (nDNA) che mitocondriali (mtDNA) ed in particolare:

- nDNA: 18S, ITS;
- mtDNA: COI, NAD3.

Sul patogeno/i verrà usato il marcatore 18S-like, poiché è l'unico a garantire trasversalità su un'ampia gamma di agenti eziologici.

In questa azione verranno sviluppati gli obiettivi specifici c, d, e, f.

**Azione 4.** Sensibilizzazione dei fruitori per scoraggiare prelievi illegali della specie.

In questa azione verranno sviluppati l'obiettivo specifico g.

## Cronoprogramma

Il presente piano ha la durata biennale, da Gennaio 2019 a Dicembre 2020.

	2019											
	gen	feb	mar	apr	mag	giu	lug	ago	sett	ott	nov	dic
Azione 1												
Azione 2												
Azione 3												
Azione 4												
	2020											
	gen	feb	mar	apr	mag	giu	lug	ago	sett	ott	nov	dic
Azione 2												
Azione 3												
Azione 4												

Si sottolinea che il cronoprogramma previsto per le analisi genetiche dell'anno 2020 avrà in linea generale un andamento simile a quello del primo anno, tuttavia potrebbe essere rimodulato tenendo conto di ulteriori dettagli ed apportando eventuali opportune modifiche sul numero di individui/siti/marcatori molecolari, dopo aver preso visione dei risultati dell'intera azione regionale alla fine del primo anno.

## Soggetti attuatori

I soggetti competenti e le modalità attuative possono essere così riassunte:





- Responsabile progetto: **Regione Autonoma della Sardegna. Assessorato della difesa dell'ambiente. Servizio Tutela della natura e politiche forestali.**
- Attività di verifica in situ della distribuzione e mappatura delle aree: **Aree Marine Protette della Sardegna.** Gli ambiti territoriali di competenza di ciascuna Area marina protetta potranno essere definiti in base alla ripartizione già esistente e relativa alla Rete regionale per il recupero della fauna marina, che copre l'intera fascia costiera della Sardegna;
- Attività di monitoraggio nell'Isola di Sant'Antioco (area del progetto ABISSO): **AMP Capo Carbonara in collaborazione con il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università di Cagliari**
- Genotipizzazione e analisi per patogeni: **Dipartimento Medicina Veterinaria dell'Università di Sassari.**
- Sensibilizzazione per scoraggiare prelievi illegali della specie: **Aree Marine Protette della Sardegna.**

### Archiviazione e gestione dei dati

Le modalità di strutturazione e gestione del database comune tra i suddetti soggetti verranno definite in un documento tecnico, predisposto successivamente dal Responsabile del Progetto, che verrà preliminarmente condiviso dai soggetti interessati e costituirà un allegato al presente Piano.

### Risultati attesi

Conoscenza della consistenza della popolazione locale residua e individuazione di potenziali resistenti.

Identificazione dell'agente patogeno. Caratterizzazione genetica di individui resistenti. Confronto tra patrimonio genico della popolazione infetta e popolazione resistente.

Ogni ente coinvolto attivamente nell'attuazione del presente Piano regionale, dovrà produrre due relazioni sulle attività in corso ogni anno, la prima dopo sei mesi e la seconda entro Dicembre.

Questo piano vuole inoltre porre le basi per un programma di monitoraggio prolungato nel tempo. Per la verifica della capacità di recupero della specie (utilizzando il piano di campionamento sopraindicato), ovvero la resilienza ecologica, è fondamentale il monitoraggio sistematico dei banchi di *Pinna nobilis* nel tempo. Per questo motivo si ritiene opportuno un piano di azione di durata biennale, per poter valutare la presenza /assenza di nuove reclute, esemplari o metapopolazioni resistenti che garantiscono la produzione di nuova biomassa.

### Stima dei costi:

Il presente Piano prevede una ripartizione annuale del Budget così come indicato nella tabella seguente:

	2019	2020
Budget del Piano Regionale di conservazione della <i>Pinna nobilis</i>	€ 200.000,00	€ 200.000,00
Attività di monitoraggio (analisi ecologiche)	€ 160.000,00	€ 160.000,00
Analisi genetiche (analisi diagnostiche e indagini genetiche)	€ 40.000,00	€ 40.000,00



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA  
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA  
ASSESSORADU DE SA DEFENSA DE S'AMBIENTE  
ASSESSORATO DELLA DIFESA DELL'AMBIENTE

I **160.000,00** Euro destinati alle attività di monitoraggio saranno ripartiti in egual misura tra le Aree Marine Protette attivamente impegnate nell'attuazione del Piano: Area Marina Protetta "Capo Carbonara", Area Marina Protetta "Penisola del Sinis-Isola di Mal di Ventre", Area Marina Protetta "Isola dell'Asinara", Area Marina Protetta "Tavolara Punta Coda Cavallo" e Area Marina Protetta di Capo Caccia – Isola Piana" .

Aree Marine Protette	Costo
Totale per Area di indagine (Personale – Materiale di Consumo – carburante)	32.000 €
<b>Totale per 6 aree</b>	<b>160.000 €</b>

I **40.000,00** annui destinati alle analisi genetiche saranno destinati all'Università di Sassari, Dipartimento di medicina veterinaria.

	Voci di spesa per le analisi genetiche	Costi
1	Personale coinvolto nelle attività	20.000 €
2	Acquisto di reagenti e materiale di consumo	10.000 €
3	Sequenziamento	10.000 €
	<b>Totale</b>	<b>40.000 €</b>

Il personale dell'Università di Sassari si occuperà di eseguire le analisi sia di laboratorio che di bioinformatica, mentre la raccolta dei campioni sarà a carico delle Aree Marine Protette attuatrici dell'azione 2.

Le attività previste per il 2019 saranno finanziate con fondi del bilancio regionale 2018, mentre la copertura finanziaria del Piano per il 2020 è da reperire.