

RELAZIONE INTERMEDIA



Regione del Veneto POR FESR 2014 2020

**Bando per il sostegno a progetti di Ricerca e Sviluppo sviluppati da
Distretti Industriali e dalle Reti Innovative Regionali**

ASSE 1 "RICERCA, SVILUPPO TECNOLOGICO E INNOVAZIONE"

**AZIONE 1.1.4 "Sostegno alle attività collaborative di R&S per lo sviluppo di nuove
tecnologie sostenibili, di nuovi prodotti e servizi"**

DGR n. 1139 del 19 luglio 2017

INFORMAZIONI SUL PROGETTO

TITOLO DEL PROGETTO: Sostenibile, sicuro, di alta qualità: un progetto integrato di ricerca industriale per l'innovazione della filiera molluschi del Veneto

SPESA AMMESSA (indicare spesa ammessa) Euro 847.094,10

CONTRIBUTO CONCESSO (indicare contributo concesso) euro 591.535,89

IMPRESSE PARTECIPANTI (elencare le imprese partecipanti al progetto)

- Blupesca Srl (Distretto Ittico di Chioggia e Rovigo)
- C.L.A.M. Soc.Coop. (Distretto Ittico di Chioggia e Rovigo)
- C.R.A.M.E. Chioggia (Distretto Ittico di Chioggia e Rovigo)
- Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine Organizzazione di Produttori Soc. Coop. (Distretto Ittico di Chioggia e Rovigo)
- Finpesca Srl (Distretto Ittico di Chioggia e Rovigo)
- BMR Genomics (RIR RIBES)
- EXPERTTEAM (RIR RIBES)

ORGANISMO DI RICERCA PARTECIPANTE

- Università di Padova (Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

DURATA DEL PROGETTO PREVISTA IN MESI:

Inizio del progetto (giorno/mese/anno): 3/11/2017

Fine del progetto (giorno/mese/anno): 31/10/2020

PERIODO DI ATTIVITA' PROGETTUALE OGGETTO DELLA PRESENTE RELAZIONE

Primo periodo: da (data inizio) a (data fine): 3/11/2017- 31/07/2018

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA' REALIZZATE

Le attività previste nel progetto presentato sono state svolte puntualmente, rendicontando in questa prima fase euro 205.044,43, importo quindi superiore sia al 20% (importo minimo richiesto dal bando) sia a quanto definito dall'Accordo di Ricerca (202.146,12).

Per quanto riguarda il **WP1 Sviluppo/ottimizzazione di sistemi di depurazione per l'eliminazione di virus enterici** ed in particolare attività **1.1. Campionamento** prevista dal 1/11/17 al 31/5/18, fin dall'inizio il Dipartimento di Biomedicina comparata dell'Università di Padova e l'Istituto Zooprofilattico delle Venezie (ISZV) hanno proceduto ad una ricerca bibliografica specifica sulle metodiche analitiche più innovative per la ricerca di virus enterici, nonché sui sistemi più efficaci di depurazione dei molluschi bivalvi. In questa fase sono state svolte riunioni di coordinamento e programmazione dell'attività.

In collaborazione con il Dott. Luciano Boffo e le aziende C.R.A.M.E. Chioggia, Blupesca Srl, C.L.A.M., Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine O.P sono stati predisposti i verbali di campionamento per la ricerca di norovirus e il registro di carico e scarico dell'impianto di depurazione sperimentale. Si è quindi proceduto al campionamento di vongole veraci (*R. philippinarum*) in aree lagunari notoriamente oggetto di contaminazione fecale al fine di intercettare campioni con presenza

di Norovirus. Il campionamento si è protratto oltre la data del 31 maggio per mancanza di prodotto contaminato.

Relativamente all'attività **1.2 Depurazione e analisi** sono state eseguite le fasi di installazione e taratura dell'impianto di depurazione sperimentale presso l'azienda C.L.A.M.. Questo permetterà di effettuare i **test di depurazione** del prodotto previsti dal progetto per l'eliminazione dei virus enterici. L'impianto sperimentale in particolare permetterà di **testare l'efficacia dell'ozono**. Questo agisce sui batteri con azione combinata di ossidazione delle proteine, alterazione delle membrane strutture molecolari e blocco enzimatico. I virus sono soggetti allo stesso processo di eliminazione dei batteri con la differenza che l'ossidazione delle loro proteine avviene più facilmente in quanto privi di membrana cellulare. IL nuovo impianto permetterà inoltre di testare la radiazione ultravioletta (UV). Un meccanismo già utilizzato nei processi di depurazione per la purificazione dell'acqua. I raggi UV eliminano microorganismi enterici (batteri e virus) e le spore di protozoi e batteri senza la produzione di prodotti tossici o residui chimici. Verranno quindi a breve effettuati **diversi test** su mitili, ostriche e vongole, per testare questi sistemi e individuare le condizioni più efficaci di utilizzo e di depurazione del prodotto.

Nel secondo WP del progetto “**WP2 Sviluppo di metodi innovativi per garantire la tracciabilità del prodotto**” si è **realizzata l'attività 2.1 Campionamento**, effettuando preliminarmente un'accurata ricerca bibliografica su studi e metodiche per l'analisi di comunità microbiche in specie di molluschi bivalvi.

Si è quindi messo a punto un protocollo di laboratorio ideale per lo studio delle comunità microbiche nella vongola filippina *Ruditapes philippinarum*. A questo fine, come prima cosa si è testata la resa di diversi kit commerciali per l'estrazione di DNA da ghiandola digestiva e branchie. Dopo aver testato diversi kit (es. Invitek, DNeasy PowerSoil Kit) si è misurata la concentrazione del DNA estratto e verificata la qualità in gel di agarosio. Il kit con prestazioni migliori è risultato essere il kit DNeasy PowerSoil Kit che verrà pertanto utilizzato nel corso del progetto.

Si sono successivamente testati diversi primer per la costruzione delle librerie 16S, in grado di amplificare regioni diverse dei geni ribosomiali (Nadkarni et al .2002; Takahashi et al. 2014). Il confronto tra le librerie ottenute ha evidenziato una migliore efficienza con l'utilizzo di primer-Nadkarni che verranno pertanto utilizzati nelle analisi previste dal progetto. Al fine di verificare e mettere a punto l'intero processo di analisi delle comunità microbiche, parte delle librerie selezionate sono state diluite, purificate e inviolate al BMR Genomics per il sequenziamento degli ampliconi con tecnologia Illumina MiSeq. Il sequenziamento ha permesso di ottenere un totale di 732,208 reads, con una media di circa 100,000 reads/campione; le reads totali sono state utilizzate per le analisi bioinformatiche attraverso il software QIIME2. Lo sviluppo della pipeline bioinformatica ha richiesto a BMR un impegno in termini di personale più elevato di quanto previsto.

Nel mese di giugno si sono svolti inoltre i primi campionamenti di vongole veraci nelle aree elencate in Tabella 1. Una parte degli animali campionati è stata depurata dalle aziende coinvolte nel progetto (C.R.A.M.E. Chioggia, Blupesca Srl, C.L.A.M., Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine O.P. Finpesca) mentre una parte è stata trasportata al Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione per il prelievo dei tessuti. In seguito al permesso ottenuto dalle autorità competenti sono stati inoltre campionati animali in due aree interdette alla raccolta (Fusina e Colmata). Per ciascun campionamento e condizione (pre- e post-depurazione) sono stati prelevati in collaborazione con l'azienda EXPERTEAM s.r.l. le ghiandole digestive e le branchie da circa 70 animali circa per

ciascuna condizione/area. Si procederà ora con l'analisi di questi campioni secondo il protocollo di analisi messo a punto nei mesi precedenti.

Area di pesca	Data Prelievo/Campionamento
Sacca di Scardovari	29/05/2018
Chioggia	30/05/2018
Goro	7/06/2018
Fusina	12/06/2018
Colmata	12/06/2018
Marano Lagunare	20/06/2018

Tabella 1. Aree e giorni di campionamento

WP3. Miglioramento genetico di vongole e cozze

Infine anche nel **WP3 Miglioramento genetico di vongole e cozze** la prima attività di progetto

3.1 Nursery si è realizzata compiutamente grazie alla *collaborazione dell'Università di Padova con l'azienda Finpesca*, che ha portato alla messa a punto di un *sistema di allevamento* delle fasi larvali, utile agli scopi della ricerca.

Dopo un breve periodo di condizionamento di riproduttori di mitilo *Mytilus galloprovincialis* si è svolta una fecondazione controllata e un test di sopravvivenza sulle larve ottenute.

E' stata svolta inoltre una prova di induzione della triploidia larvale attraverso l'utilizzo di 6-DMAP (6-dimetilamminopurina). La sostanza a contatto con gli oociti fecondati inibisce l'espulsione del corpo polare, ottenendo così nella larva un corredo cromosomico triploide.

Presso i laboratori del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione (UNIPD) è stato quindi ottimizzato un protocollo per la verifica della ploidia in *Mytilus galloprovincialis* tramite citofluorimetro. Questo ha permesso di effettuare una prima valutazione sull'andamento del trattamento di induzione.