

ALMA MATER STUDIORUM

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Scuola di Scienze – Campus di Ravenna

Corso di Laurea in Scienze Ambientali

TESI DI LAUREA

in

Climatologia

**VARIAZIONE DI LUNGO PERIODO DELLA TEMPERATURA
MARINA E SVILUPPO POTENZIALE DI FITOPLANCTON
TOSSICO**

Relatore:

Dott. Marco Zavatarelli

Candidata:

Beatrice Cucchi

Marzo 2018

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno aiutato nella realizzazione della tesi.

Ringrazio innanzitutto il Professor Marco Zavatarelli, per la sua disponibilità e per il tempo che mi ha concesso per la realizzazione di questa tesi.

Grazie anche al gruppo di lavoro dei laboratori SINCEM per la loro disponibilità. In particolare, vorrei ringraziare il Dott. Luca Giacomelli, per la sua pazienza e per il suo indispensabile supporto tecnico.

Desidero ringraziare la mia famiglia che mi ha sostenuto fino alla fine e mi ha permesso di affrontare questa esperienza.

Grazie anche a mia sorella, per avermi aiutato, sostenuto e incoraggiato in questi anni.

Desidero ringraziare anche i miei amici per il loro supporto in questi mesi.

Indice

Abstract.....	iii
Abbreviazioni.....	iv
1. Introduzione.....	1
2. Alexandrium catenella.....	3
2.1. Morfologia e biogeografia.....	3
2.2. Ciclo di vita e fioriture	7
2.3. Saxitossina.....	11
3. Determinazione dei valori di significatività	14
3.1. Dati della temperatura superficiale del mare (SST).....	14
3.2. Determinazione del periodo di fioritura dell'Alexandrium. catenella.....	15
3.3. Determinazione del tasso di crescita dell'Alexandrium catenella.....	19
3.4. Determinazione delle variazioni di temperatura	22
4. Conclusioni.....	26
5. Bibliografia.....	28

Abstract

Il seguente studio ha lo scopo di descrivere l'influenza di temperatura sulla crescita e sul periodo di fioritura delle fioriture algali dannose (HABs). In particolare lo studio si focalizza sullo sviluppo dell'*Alexandrium catenella*, nel Mar Mediterraneo nel periodo compreso tra il 1982 e il 2016. Nell'elaborato è stata posta l'attenzione su questa microalga in quanto essa è in grado di produrre la neurotossina saxitossina, la quale influenza negativamente gli ecosistemi marini e causa perfino intossicazioni umane.

Al fine di valutare l'incidenza della temperatura sullo sviluppo dell'*Alexandrium catenella*, sono stati calcolati i valori di significatività del periodo di fioritura, del tasso di crescita e dell'incremento della temperatura. Per calcolare questi valori si sono utilizzati i dati di temperatura superficiale del mare (SST) prelevati dal programma di osservazione della terra e dell'ambiente marino dell'Unione Europea, chiamato "Copernicus". Attraverso l'utilizzo del programma di elaborazione dati Matlab, è stata possibile la costruzione di grafici che forniscono una visione più completa dell'andamento dei tre aspetti studiati. Dall'analisi e dal confronto dei dati è emerso che la temperatura, nel periodo dal 1982 al 2016, è aumentata in tutto il bacino mediterraneo influenzando così il tasso di crescita dell'*A. catenella*. Quest'ultimo, in particolare, si è espanso in gran parte del bacino mediterraneo raggiungendo tre differenti picchi coincidenti con l'aumento del periodo di fioritura. Ciò si è verificato lungo le coste spagnoli, francesi e turche.

Abbreviazioni

La seguente lista riassume le abbreviazioni usate nella tesi.

AVHRR	Radiometro avanzato ad altissima risoluzione
CMEMS	Servizio di monitoraggio dell'ambiente marino di Copernicus
HABs	Harmful algal blooms
PSP	Paralytic shellfish poisoning
SST	Sea surface temperature
STXs	Saxitossina

1. Introduzione

Le fioriture algali nocive (HABs) sono causate da microalghe presenti nel fitoplancton marino che hanno effetti dannosi per la salute umana e per l'ambiente, influenzando negativamente gli ecosistemi acquatici, la pesca e il turismo [12]. Il genere *Alexandrium*, che comprende al suo interno diverse specie che si distinguono per la differente morfologia, richiama su di esso una particolare attenzione. La caratteristica che accomuna queste microalghe, infatti, è la capacità di produrre tossine. I membri appartenenti a questo genere sono diffusi a livello globale, sia nelle acque tropicali sia in quelle subartiche [1].

Tra il fitoplancton è presente una microalga appartenete al genere *Alexandrium*, chiamata *Alexandrium* catenella. Questa microalga appartiene alla classe dei dinoflagellati e venne osservata per la prima volta nel Mar Mediterraneo nel 1998, nella laguna di Thau, in Francia [12]. La sua crescita è influenzata da diversi fattori quali la temperatura, la salinità, la presenza di nutrienti e ossigeno e la radiazione solare [1]. A causa del riscaldamento del Mar Mediterraneo si prevede che la sua distribuzione si diffonda in tutto il bacino, in particolare lungo le linee costiere. La crescita di questa specie di microalga, infatti, predilige temperature incluse tra 21°C e 24°C [12]. La sua diffusione potrebbe quindi avere conseguenze negative in quanto essa produce una tossina chiamata saxitossina. Questa è una neurotossina idrosolubile responsabile delle epidemie da avvelenamento paralitico dei molluschi (PSP) che causano intossicazioni umane, contaminano i molluschi e i pesci portando ad una perdita delle risorse ittiche [1].

L'obiettivo di questa tesi è quello di osservare l'andamento della crescita dell'*Alexandrium* catenella in funzione dell'andamento della temperatura superficiale (SST) del Mar Mediterraneo, in quanto questa microalga è in grado di produrre delle tossine, le quali possono provocare intossicazioni umane ed effetti negativi sugli ecosistemi marini. Al fine di raggiungere l'obiettivo proposto, lo sviluppo della crescita dell'*Alexandrium* catenella (periodo di fioritura e tasso di crescita dell'alga) è

stato correlato con l'aumento della SST, nel periodo dal 1982 al 2016, per osservare l'incidenza della temperatura sulla crescita dell'alga.

Nel secondo capitolo l'*Alexandrium* catenella è stata descritta indicandone le caratteristiche morfologiche e la diffusione a livello globale. È stato presentato, inoltre, il ciclo di vita della microalga e come avviene la sua riproduzione. Poiché l'A. catenella può produrre la saxitossina, di questa tossina è stata spiegata la composizione chimica e gli effetti sull'uomo, essendo la principale responsabile dell'avvelenamento paralitico da molluschi (PSP).

Nel terzo capitolo sono stati indicati i dati di partenza utilizzati per l'analisi, ovvero i valori superficiali di temperatura (SST). Successivamente è stato esposto il procedimento svolto per la valutazione dei valori di significatività del periodo di fioritura, del tasso di crescita e dell'incremento della temperatura. In particolare sono stati spiegati i diversi passaggi effettuati tramite il software Matlab per raggiungere i risultati attesi.

Infine, nel capitolo quattro, è stata realizzata l'analisi dei grafici ottenuti. Tali grafici, relativi al periodo di fioritura, al tasso di crescita e all'incremento della temperatura, rappresentano i valori di significatività, ossia la probabilità che si verifichi l'aumento o la diminuzione di un evento nel tempo. I modelli ricavati con il programma di elaborazione dati Matlab sono stati analizzati mettendo in luce l'andamento delle caratteristiche considerate nel bacino mediterraneo, nel periodo dal 1982 al 2016. Queste caratteristiche sono state anche messe a confronto tra loro per osservare l'influenza che generano una sull'altra.

2. *Alexandrium catenella*

Il genere *Alexandrium* appartiene alla classe dei dinoflagellati, alghe microscopiche per la maggior parte unicellulari e flagellate che costituiscono una parte del fitoplancton marino. Nel 1960, il genere *Alexandrium* venne ufficialmente istituito attraverso la descrizione di una sua specie: *Alexandrium minimutum* Halim, un'alga della classe delle dinoflagellate che produceva, nel porto di Alessandria in Egitto, una cosiddetta “marea rossa”, ossia un cambiamento della colorazione dell'acqua in un tono rossastro. Questo genere, che include 31 specie diverse, è quello che richiama maggiori attenzioni in quanto è considerato responsabile per le dannose fioriture algali (harmful algal blooms, HABs) e, inoltre, circa la metà delle sue specie producono tossine dannose. Queste tossine appartengono a tre diverse famiglie: saxitossina, spirolidi e goniDOMINS, tra le quali, è la saxitossina quella che genera un maggiore impatto ambientale. Essa è responsabile, infatti, dell'epidemie dell'avvelenamento paralitico dei molluschi (paralytic shellfish poisoning, PSP) che può causare la morte della fauna marina ma anche l'intossicazione dell'essere umano e perfino la sua morte a causa dell'ingestione di pesci e molluschi contaminati[1].

2.1. *Morfologia e biogeografia*

Ogni specie attribuita al genere *Alexandrium* viene descritta con nomi differenti, come ad esempio *Gonyaulax*, *Protogonyaulax*, *Gessnerium*, *Goniodoma* e *Pyrodinium*. La presenza di queste innumerevoli denominazioni sottolinea la complessità nella descrizione delle caratteristiche morfologiche di questo genere di alghe. La determinazione delle specie, infatti, prende in considerazione diversi caratteri morfologici quali la dimensioni, la forma delle cellule e la formazione di catene, per citarne solo alcuni. Specie appartenente a questo genere è *Alexandrium catenella* [1].

Questo tipo di fitoplancton è distribuito nelle acque di tutto il pianeta: dalle regioni subartiche a quelle temperate e tropicali, sia nell'emisfero settentrionale che in quello

meridionale. In particolare è localizzato nella frazione della colonna d'acqua che riceve maggior luce solare lungo le zone costiere [1,3].

A. catenella non è solo un'alga autotrofa, cioè capace di nutrirsi di sole sostanze inorganiche, ma è anche eterotrofa, ossia si nutre di sostanze organiche prodotte da altri organismi. Questa microalga viene considerata un mixotropico, vale a dire che è capace di nutrirsi sia tramite fotosintesi sia con la materia organica disciolta in acqua [3].

Questa microalga si riproduce per via asessuale tramite la fissione binaria, in cui vengono prodotte due cellule identiche tra loro e alla cellula-madre. L'*A. catenella* si riproduce anche per via sessuale, dove avviene la fusione dei gameti e la formazione di un planozigote, cioè uno zigote derivante dall'unione di due gameti flagellati attraverso un tubo di coniugazione, facendo assumere alla cellula la forma caratteristica di una cisti [3].

Generalmente le microalghe appartenenti a questa classe si possono presentare singole, a coccali, ameboidi o sotto forma di colonie. Le cellule di questo genere possiedono un periplasto, ovvero uno strato esterno che riveste il citoplasma e prende il nome di anfiesma. Sotto a questa patina si può formare uno strato di cellulosa contenente una sostanza, la dinosporina [5]. L'anfiesma è composto da vescicole piatte che possono essere vuote o includere piastre di materiale rigido fibroso, in tale modo il periplasto diventa una teca, ovvero un involucro. Le piastre possono avere pori in cui si trovano degli organuli eiettili, chiamati tricocistici che sono delle strutture cellulari esterne, simili ad un ago, e hanno lo scopo di attaccare i predatori e aiutare la cellula ad ancorarsi al sub-strato [5].

Alexandrium catenella può presentarsi singolarmente oppure in catene corte costituite da 2, 4 o 8 cellule, avente dimensioni pari a 20-25 µm di lunghezza e 25-32 µm di larghezza (Figura 1) [2].

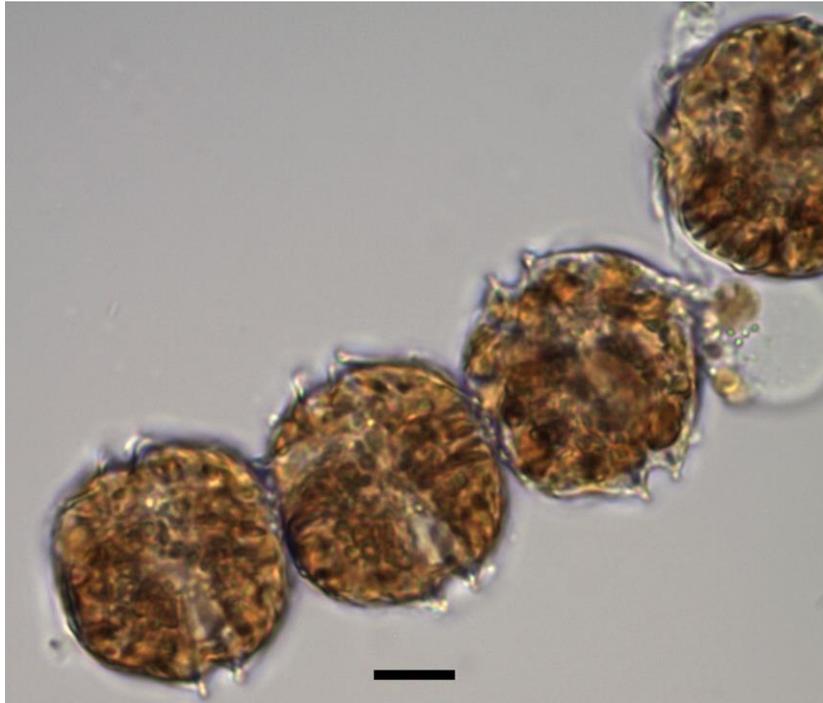


Figura 1: Catena di quattro cellule di *Alexandrium catenella*.

Questa cellula presenta una morfologia irregolare con un aspetto più ampio che alto poiché è appiattita anteriormente, mentre le placche hanno una forma regolare [3].

Possiede due flagelli diversi, dette cellule eteroconte [5], che gli permettono di spostarsi in acqua. Il primo, posizionato in zona equatoriale, è nastriforme, ondulato e provvisto di peli sottili, permettendo alla cellula di ruotare e di spostarsi in avanti; mentre l'altro, posto al polo posteriore, è anematico e controlla la direzione [4].

Nelle cellule dei dinoflagellati vi possono essere presenti da due a più cloroplasti diversi tra loro, delimitati da tre o quattro membrane e contenenti un pirenoide, cioè un organello che svolge una funzione di riserva contenendo al suo interno amido e vitamine [5].

A. catenella è una specie fotosintetica con numerosi cloroplasti giallo, verde, arancio e marrone dovute alla presenza di pigmenti di clorofille a , β -carotene e xantofille [6] che permette loro di colorare le acque durante le fioriture producendo così le “maree rosse” [5].

Biogeografia

Le fioriture di *Alexandrium catenella* sono aumentate di frequenza e di importanza in molte aree costiere marine in tutto il mondo, caratterizzate da diversa temperatura, salinità e condizioni di luce [7].

Nonostante sia un microrganismo d'acqua fredda, osservato nell'Oceano Pacifico occidentale del Nord America, lungo le coste del Cile, nel sud dell'Argentina e nell'Africa Occidentale e infine in Nuova Zelanda, è stato osservato anche nelle acque temperate del Giappone, dell'Australia sud-orientale, in Cina e nel Mar Mediterraneo occidentale [7].

In particolare, in quest'ultimo luogo, l'espansione di questa specie tossica ha avuto molte segnalazioni lungo diverse aree costiere [7] ospitando anche un gran numero di specie tossiche e non tossiche invasive [1].

Nel 1983, è stata segnalata per la prima volta la presenza di spore nelle isole Baleari e in Catalogna, dopo di che, questa microalga ha cominciato a diffondersi lungo le coste francesi, spagnole, italiane, greche e maghrebine [1].

Nel 1994, una fioritura di *Alexandrium catenella* è stata avvistata nel porto di Valencia, in Spagna e quattro anni dopo si è verificato il primo evento tossico di PSP diffuso.

A partire dall'estate del 1997 si è diffusa nelle acque della Tunisia fino ad arrivare nel porto di Olbia, nel Mar Tirreno, tra il 1999 e il 2002 [8].

Dal 1998 diverse fioriture di *A. catenella* sono state osservate in primavera e in autunno nella laguna di Thau, in Francia, un bacino poco profondo aperto sul mare [9], dove sono state raggiunte alte concentrazioni di cellule con contaminazione da tossina nei bivalvi [7].

2.2. Ciclo di vita e fioriture

Il ciclo di vita del genere *Alexandrium* differisce per ogni specie in morfologia, fisiologia e funzione e può essere suddiviso in 5 diversi stadi:

- stadi mobili aploidi;
- cisti asessuate;
- gameti aploidi;
- zigote diploide;
- cisti diploide non mobile.

All'interno di queste fasi, differenti aspetti possono variare da specie a specie e perfino tra ceppi geneticamente distinti della stessa specie come ad esempio la modalità di divisione delle cellule, la formazione delle catene e la durata del periodo di dormienza.

Nel primo stadio le cellule, che sono in una fase vegetativa, sono aploidi. Gli stadi diploidi vengono raggiunti successivamente con la formazione del planozigote, in seguito alla coniugazione dei gameti, e della cisti sessuale. La divisione cellulare, in questa prima fase vegetativa, avviene tramite desmoschisi: riproduzione asessuale in cui la cellula madre si divide per produrre due cellule figlie flagellate, ciascuna delle quali conserva temporaneamente metà della teca della madre, dopo di che le cellule figlie si depositano sui sedimenti (Figura 2).

Tra le fasi diploidi, troviamo la formazione del planozigote, dovuto alla fusione dei gameti, che può avvenire seguendo percorsi differenti. Un percorso possibile è la formazione di cisti ipnozigoti a riposo che si creano quando è presente una sospensione temporanea della germinazione dovuta a fattori sia esogeni che endogeni.

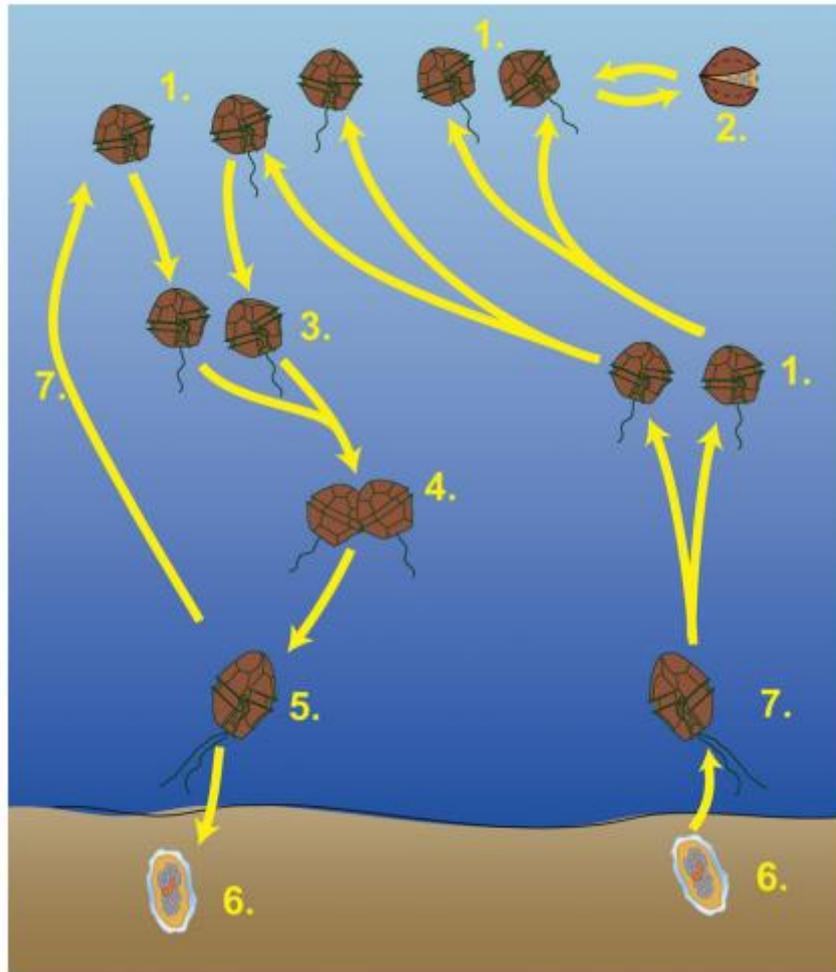


Figura 2: Rappresentazione del ciclo di vita di *Alexandrium catenella*. Questa specie ha una fase aploide, in cui le cellule vegetative (1) sono aploidi. In presenza di condizioni sfavorevoli, queste cellule si trasformano in cisti (2). La fase sessuale inizia con la formazione dei gameti (3), che unendosi (4), formano il planozigote (5). Se le condizioni sono sfavorevoli lo zigote si trasforma in una ciste (6), altrimenti inizia la fase di germinazione ricominciando il ciclo(7).

All'interno della cellula, nella fase vegetativa, per alcune specie, come ad esempio l'*A. catenella*, si verifica una fase transitiva rappresentata dalla formazione a catena. Questa specie presenta, infatti, la capacità di formare lunghe catene la cui composizione può rappresentare un sistema di adattamento ai fattori esterni, come per esempio alla turbolenza delle acque costiere. Un'altra transizione di fase che può avvenire è rappresentata dalla formazione di cisti. Il loro sviluppo è dovuto a condizioni di stress ambientale, quali la turbolenza, la presenza di parassiti o terreni

poveri di nutrienti, in particolare di fosforo e azoto. La loro maturazione, ossia il passaggio dallo stadio vegetativo, avviene in assenza di condizioni di stress, e può ritornare alla forma di cisti, forma di difesa, o viceversa, nel caso in cui si manifestino ancora condizioni sfavorevoli. La loro produzione e maturazione può variare con la temperatura, questo significa che una volta maturate, le cisti sono completate e possono germogliare durante la stagione estiva, se le condizioni ambientali lo permettono. Le cisti sono molto diffuse: possono essere localizzate sia nei sistemi estuari sia nelle acque costiere più profonde, anche se in questi luoghi sono meno diffuse in quanto le basse temperature non permettono la loro germinazione anche se mature. Un fattore che regola la germinazione delle cisti è la presenza di ossigeno. Dopo che si depositano nei sedimenti di fondo, infatti, il processo di fioritura è minore rispetto a quello delle cisti presenti nello strato superiore del fondale poiché sepolte sotto la superficie hanno a disposizione meno ossigeno.

Per quanto riguarda il sistema di accoppiamento, esistono tre possibilità in cui può avvenire: omotallico, eterotallico e complesso. *A. catenella* si accoppia tramite il processo eterotallico in cui sono presenti due differenti corpi, uno maschile e l'altro femminile. Le cellule che compongono la catena, prodotte dalla germinazione di una cisti sessuale, sono state prodotte da due diversi tipi di accoppiamento, ovvero le cellule presenti nella metà anteriore della catena si sono originate in maniera diversa da quelle poste nella parte posteriore.

A seguito della germinazione delle cisti, una volta entrate nella colonna d'acqua, la crescita delle cellule è influenzata dalla circolazione, dai nutrienti, dalla stratificazione e da altri fattori chimici e fisici. Un esempio dell'importanza delle forzature fisiche nella dinamica della fioritura di *Alexandrium* è visibile nel Golfo del Maine, dove le persistenti epidemie di PSP sono state collegate ad un sistema di correnti costiere su larga scala che attraversa il Golfo. Un altro fattore che incide sulle fioriture costiere è la composizione chimica dei pennacchi d'acqua dolce. Le cellule appartenenti a questa specie, infatti, tendono a trovarsi al loro interno, dove la salinità è più bassa. Sempre nel Golfo del Maine, si è osservato che il deflusso d'acqua dolce, dallo spartiacque boschivo, contiene livelli significativi di sostanze organiche disciolte, compresi metalli e micronutrienti. Queste sostanze organiche

sono prodotte dalla fioritura di diatomee e particolato organico da picocyanobacteria e favoriscono una rapida crescita delle cellule. Inoltre le cellule di *Alexandrium catenella* rispondono anche agli input di nutrienti antropici, ma non vi è certezza sul fatto che la frequenza di riproduzione di questa microalga sia un risultato diretto all'inquinamento visto che questa specie si è sviluppata anche in acque remote e incontaminate come quelle dell'Alaska.

La dinamica delle popolazioni di questa specie è molto influenzata dalle condizioni idrografiche locali e ciò agisce sul comportamento delle cellule, come sulla germinazione delle cisti. Queste situazioni limitano la possibilità di colonizzare le acque costiere e di accumularsi per manifestare effetti di tossicità nei molluschi. Il loro sviluppo, invece, dipende solamente dalla temperatura e dalla salinità che incidono sui tassi di divisione cellulare. La maggior parte delle fioriture di *Alexandrium* si sviluppa a temperature dell'acqua non ottimali per una rapida crescita delle cellule vegetative. Ciò implica che l'induzione della sessualità preclude la persistenza a lungo termine delle cellule vegetative nel plancton. Studi di laboratorio hanno suggerito che l'induzione della sessualità in *Alexandrium* si verifica a causa della limitazione dei nutrienti. Potrebbe essere che, mentre la temperatura ambiente aumenta durante le fioriture, anche i tassi di assorbimento e il metabolismo delle sostanze nutritive aumentano. Di conseguenza, le concentrazioni di nutrienti sufficienti per una crescita equilibrata a temperature più fredde e precoci potrebbero non essere sufficienti per mantenere una crescita equilibrata durante il riscaldamento delle acque.

Per le fioriture di *A. catenella* la temperatura dell'acqua deve essere intorno ai 20 °C, quindi le fioriture si verificano sia in primavera che in autunno. È necessario, inoltre, un periodo di tempo calmo con assenze di turbolenze perché altrimenti i principali fenomeni ventosi le sopprimono, in quanto esse sono molto sensibili all'agitazione. *A. catenella*, infatti, non fiorisce in seguito a un evento piovoso, ma fiorisce dopo tre settimane di clima secco.

2.3. Saxitossina

Il genere *Alexandrium* produce tre differenti famiglie di tossine: saxitossina, spirolidi e goniandomins. In particolare la microalga *Alexandrium catenella* genera solo la STXs.

La saxitossina (STXs) è stata isolata per la prima volta dal bivalve *Saxidomus giganteus* ed è responsabile di un tipo di intossicazione detta PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) [11]. Il primo episodio documentato di PSP risale al 1798, quando alcuni marinai di un battello che stava esplorando le coste della British Columbia, in Canada, si avvelenarono a causa del consumo di molluschi bivalvi. A quell'epoca, però, questo tipo di intossicazione non era ancora conosciuta come PSP, ossia non si sapeva che la causa dell'intossicazione derivava dall'alga [10]. Nel 1937, avvenne la dimostrazione sperimentale dell'origine di questa intossicazione alimentare: alcuni ricercatori della California riuscirono a rendere tossici dei molluschi, precedentemente sani, dopo che, in laboratorio, questi erano stati alimentati con *A. catenella* [10].

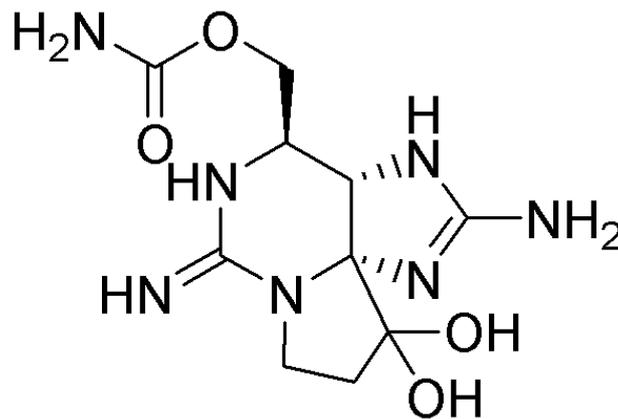


Figura 3: Struttura molecolare della saxitossina.

La composizione elementare della saxitossina ($C_{10}H_{19}N_7O_4$), Figura 3, venne determinata nel 1962 [11]. Questa tossina ha l'aspetto di una polvere bianca igroscopica [10] la cui struttura molecolare è quella di una tetraidropurina con due gruppi guanidinici nella forma protonata [10] ed è tale da garantire una elevata

stabilità in soluzioni fisiologiche. La sua tossicità, inoltre, è notevole e dipende naturalmente dalla via di somministrazione [11]. Nei molluschi filtratori, ad esempio, la concentrazione può essere tale da causare seri problemi anche all'uomo, soprattutto se il pescato proviene da una zona soggetta ad una marea rossa. Un caso di avvelenamento, risalente al 1976, venne generato tramite il consumo di bivalvi contaminati raccolti nell'oceano Atlantico ed esportati in Europa, Italia compresa, il quale generò una vera e propria epidemia. La pericolosità di questa tossina deriva dal fatto che può rimanere nei bivalvi anche per giorni. Essa inoltre è termostabile, ossia resiste bene a vari metodi di conservazione degli alimenti e si degrada solo dopo ore di bollitura a pH 3 [11]. La saxitossina è presente in un gran numero di organismi, sia marini sia di acqua dolce, ma per l'uomo solo i molluschi rappresentano un rischio vero e proprio [11].

La tossicità della saxitossina è di tipo esclusivamente acuto. Come per altre biotossine [10], questa neurotossina agisce sui canali ionici, del sodio, del calcio e del potassio [11], localizzati nella membrana delle cellule dei tessuti eccitabili elettricamente, come ad esempio nelle fibre nervose, nei muscoli scheletrici dei vertebrati e nel muscolo cardiaco [10]. La tossina impedisce la trasmissione di informazioni fra le cellule nervose e interagisce anche con il funzionamento di alcuni sistemi enzimatici [11].

I casi di avvelenamento da STXs nell'uomo, per consumo di molluschi bivalvi, evidenziano una sintomatologia che può essere classificata in tre categorie: lieve, moderatamente grave ed estremamente grave [10]. L'intossicazione, generalmente, compare dopo circa 2 ore dall'ingestione della saxitossina. Essa causa collasso cardiovascolare e insufficienza respiratoria in quanto, agendo sui canali del sodio, blocca la trasmissione degli impulsi nervosi. Dopo circa un periodo di tempo compreso tra 5 e 30 minuti dall'ingestione, si manifestano i sintomi di ipotermia e formicolio diffuso che comincia dalla bocca, labbra e lingua, per poi diffondersi al volto, al collo e al cuoio capelluto. In meno di un'ora, il formicolio si estende a tutto il corpo, soprattutto alle estremità delle dita delle mani e dei piedi. Questo viene identificato come sintomo lieve [11]. In seguito i sintomi che si possono avvertire sono: perdita della capacità di sostenere conversazioni sensate, ossia si incominciano a fare discorsi sconnessi; si incomincia ad avvertire una sensazione di punture di

spilli lungo le braccia e le gambe; si ha una perdita del controllo posturale e rigidità alle articolazioni superiori e inferiori. In questo caso si parla di sintomi moderatamente gravi. Infine, nello stadio finale si raggiunge una paralisi muscolare con difficoltà respiratoria e sensazione di soffocamento [10].

Il tasso di mortalità, dovuto dall'avvelenamento di STXs, varia dal' 1% al 22% e dipende dalla dose ingerita. In un caso mortale di un pescatore che aveva consumato cozze bollite, furono trovati a livello gastrico 370µg/100g di tossina. La dose di sicurezza non deve superare, nei prodotti contaminati, 80µg/100g. A causa della sua pericolosità, la sindrome PSP deve essere immediatamente trattata nel corso dei primi sintomi con opportuni lavaggi gastrici. Possono essere utilizzate anche soluzioni alcaline che impediscono l'attivazione della tossina, la quale viene poi eliminata attraverso le urine. Al momento attuale non esiste nessun antidoto [11].

3. Determinazione dei valori di significatività

La temperatura globale degli oceani sta aumentando come quella del Mar Mediterraneo, favorendo così la crescita dell'*A. catenella*. La fioritura di questa alga infatti presenta maggiori probabilità di sviluppo quando la temperatura dell'acqua raggiunge un valore compreso tra 21°C e 24°C [12]. Nei capitoli seguenti viene analizzato il metodo con cui sono state determinate le variazioni temporali del periodo di fioritura, e del tasso di crescita di *A. catenella* e dell'incremento della temperatura relativi al bacino del Mar Mediterraneo, per il periodo tra il 1982 e il 2016.

La seguente elaborazione dei dati, però, valuta solamente un aspetto parziale dell'analisi della crescita dell'*A. catenella*, in quanto lo studio è stato eseguito tenendo in considerazione solo l'influenza della temperatura, tralasciando quindi gli altri fattori incidenti quali: i nutrienti, la salinità dell'acqua e la radiazione solare.

L'elaborazione dei dati è stata eseguita utilizzando il software Matlab, un programma di calcolo numerico e analisi statistica, basato sul calcolo matriciale che permette la manipolazione dei dati con la possibilità di rappresentare graficamente i risultati.

3.1. Dati della temperatura superficiale del mare (SST)

I dati relativi alla temperatura superficiale del mare (SST), utilizzati per la valutazione del periodo di fioritura, del tasso di crescita dell'*A. catenella* e dell'incremento della temperatura, sono stati estratti dal programma di osservazione della terra dell'Unione Europea, chiamato “Copernicus”. Questo servizio offre informazioni riguardanti l'ambiente globale. I dati ambientali vengono raccolti attraverso osservazioni remote (satellitari) e in situ. I dati vengono forniti in tempo reale. In particolare, i dati utilizzati nella presente analisi provengono dal servizio di monitoraggio dell'ambiente marino di Copernicus (CMEMS), il quale fornisce informazioni riguardanti lo stato fisico, la variabilità e la dinamica degli ecosistemi oceanici e marini per l'oceano globale e i mari europei [12]. La temperatura

superficiale del mare (Sea surface temperature, SST) viene rilevata dal radiometro avanzato ad altissima risoluzione (AVHRR), un sensore spaziale che determina il valore di SST attraverso la misura della riflettanza della superficie marina. Essa rappresenta la capacità di riflettere parte della luce incidente su una data superficie o materiale, come può essere la superficie terrestre, la copertura nuvolosa o in questo caso la superficie marina, in diverse bande di lunghezze d'onda della radiazione [13].

I dati di SST presi in esame riguardano il bacino del Mar Mediterraneo, nel periodo dal 1982 al 2016. Si tratta di dati giornalieri con un'alta risoluzione spaziale di $0.04^\circ \times 0.04^\circ$. Questo significa che il Mar Mediterraneo viene suddiviso in una griglia con risoluzione $3\text{km} \times 3\text{km}$ e per ciascun punto di griglia viene stimata la SST.

*3.2. Determinazione del periodo di fioritura dell'*Alexandrium. catenella**

Per la determinazione del periodo di fioritura di *A. catenella* nel bacino mediterraneo, è stato inizialmente necessario definire per ciascun punto di griglia i periodi di tempo in cui la SST risultava essere compresa fra 21°C e 24°C (temperature che favoriscono la fioritura dell'alga). Questa valutazione è stata effettuata per ogni anno preso in considerazione (1982-2016). È stato poi valutato il trend di variazione annuale con una regressione parametrica lineare e con un metodo non parametrico. Il risultato della stima parametrica è riportato in Figura 4 che indica il trend di variazione annuale (giorni/anno) del periodo di fioritura.

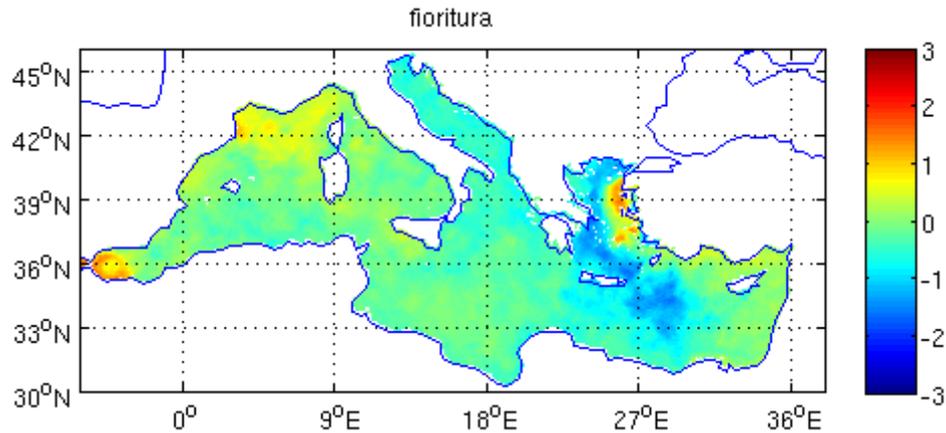


Figura 4: Trend di variazione annuale (giorni/anno) del periodo di fioritura di *A. catenella* nel bacino mediterraneo per gli anni dal 1982 al 2016 ottenuta tramite regressione lineare.

La figura mostra un progressivo aumento del periodo di fioritura ben distinto in tre aree del bacino mediterraneo, rappresentate da una colorazione giallo-arancio: lo Stretto di Gibilterra, le coste francesi e turche. Nel Mar Egeo e nel bacino di Levante si osservano invece valori stabili o negativi. Nella restante parte, dove prevale il colore verde, il periodo della fioritura è rimasto invariato, avente valori intorno a 0 g/a, cioè non si è verificato un aumento del numero di giorni durante gli ultimi 35 anni.

Lo stesso test di regressione è stato condotto anche con un test non parametrico (Theil-Sen test). In Figura 5 è mostrato il risultato ottenuto che risulta essere praticamente identico a quello descritto relativamente al test parametrico.

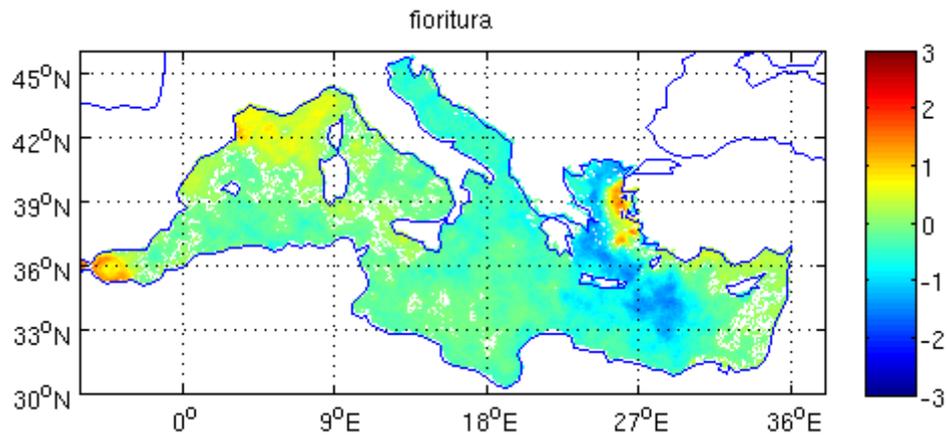


Figura 5: Trend di variazione annuale (giorni/anno) della fioritura di *A. catenella* nel bacino mediterraneo per gli anni dal 1982 al 2016 ottenuta tramite una regressione non parametrica.

La significatività dei trend ottenuti è stata valutata con il test di Mann_Kendall. Il livello di significatività è una soglia di probabilità, un valore costante, concordata prima che il test venga eseguito. In questo caso è assunto pari al 5% e rappresenta l'affidabilità del valore di significatività, questo significa che i trend della serie temporale sono affidabili al 95%. La funzione Mann_Kendall confronta il valore p , che rappresenta i valori delle matrici ottenute precedentemente, con α . Quando $p > \alpha$, la funzione attribuisce, al valore della matrice corrispondente, il numero 1 che rappresenta i valori significativi, ossia la probabilità che si verifichi un aumento della fioritura. Quando $p < \alpha$, al valore della matrice viene attribuito il numero 0 che rappresenta i valori non significativi, ossia la mancanza di probabilità che la fioritura possa avvenire. In questo modo si ricava la probabilità di ottenere un risultato uguale o maggiore a quello osservato (matrici precedenti) della crescita della fioritura dell'alga.

L'ultimo passaggio, dell'elaborazione dei dati, prevede la moltiplicazione delle matrici ottenute mediante le funzioni Theil-Sen e Mann_Kendall. Si ottiene così la matrice finale che rappresenta i valori significativi della crescita della fioritura. La matrice quindi rappresenta i valori significativi delle variazioni del periodo di fioritura rappresentata in Figura 6.

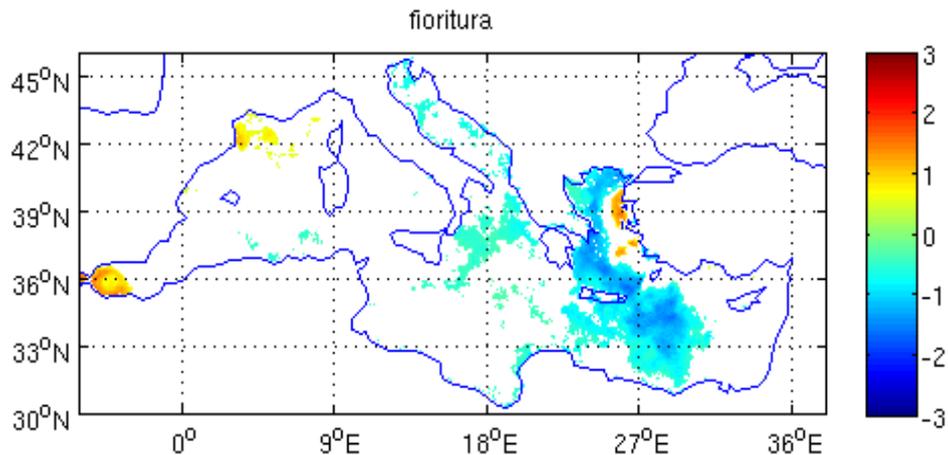


Figura 6: Modello del trend del periodo di fioritura in g/a dal 1982 al 2016 dell'*Alexandrium catenella* nel Mar Mediterraneo.

Dal modello presentato si può osservare che a partire dal 1982, si è verificato un aumento del periodo di fioritura. Questo significa che il numero di giorni in cui avviene la fioritura dell'alga è aumentato. In particolare, l'incremento si è verificato in tre aree distinte del bacino mediterraneo. Queste zone, rappresentate in figura con un colore giallo-arancio, si trovano nel Mare di Alboran, in corrispondenza dello Stretto di Gibilterra, nel Golfo del Leone in Francia e nel Mar Egeo, lungo le coste della Turchia. Tutte e tre le aree, che presentano un aumento del trend del periodo di fioritura, si trovano in prossimità delle coste, come ci si poteva aspettare, in quanto l'*A. catenella* predilige le acque basse con maggior luminosità e meno correnti. Il modello realizzato evidenzia anche di quanto il periodo di fioritura dell'*A. catenella* è incrementato dal 1982 al 2016. In particolare, in queste tre aree indicate da una colorazione che va dal giallo al rosso, si è verificato un incremento del periodo di fioritura di circa 1.5g/a nel Mare di Alboran, 1g/a nel Golfo del Leone e nel Mar Egeo, in cui si sono registrati i valori più alti, sono stati raggiunti perfino picchi di 3g/a. Nelle zone di mare aperto, invece, è stata registrata una diminuzione del periodo di fioritura poiché questo tipo di fitoplancton predilige le acque basse con un maggior quantitativo di luce e con poche turbolenze dovute alle correnti marine. Questa riduzione della fioritura, indicata dalla colorazione blu-azzurra, circonda l'arcipelago delle Isole Cicladi, in Grecia, fino a raggiungere le coste dell'Egitto. Qui è stato registrato un valore di diminuzione compreso tra 1g/a e 2g/a. Ciò significa che

in queste aree il periodo di fioritura è diminuito fino a 2 giorni per ogni anno a partire dal 1982. Una riduzione del periodo di fioritura è stata registrata anche nel Mar Adriatico e nel Mar Ionio ma in questo caso il periodo di fioritura è ritardato di un periodo di tempo compreso tra 0g/a e 1g/a.

*3.3.Determinazione del tasso di crescita dell'*Alexandrium catenella**

Il procedimento, per determinare il tasso di crescita dell'*A. catenella* nel bacino mediterraneo, segue gli stessi passi presentati nel capitolo precedente.

Innanzitutto viene calcolato il tasso di crescita dell'alga giornaliero per ogni anno (μ) tramite la formula [16].

$$\mu = A + BT + CT^2 + DT^3 + ET^4 \quad (1)$$

dove

T è la temperatura superficiale del mare (SST) in °C e A, B, C, D, E sono valori costanti pari a

$$A = -1.19e^{-2} \quad (2)$$

$$B = 7.36e^{-3} \quad (3)$$

$$C = 1.87e^{-3} \quad (4)$$

$$D = 2.00e^{-5} \quad (5)$$

$$E = -2.21e^{-5} \quad (6)$$

I valori medi annuali del tasso di crescita (espresso in giorni⁻¹/anno) sono stati poi utilizzati per il calcolo del trend di variazione (sia parametrico che non parametrico).

Il risultato ottenuto, per il test parametrico è mostrato in Figura 7.

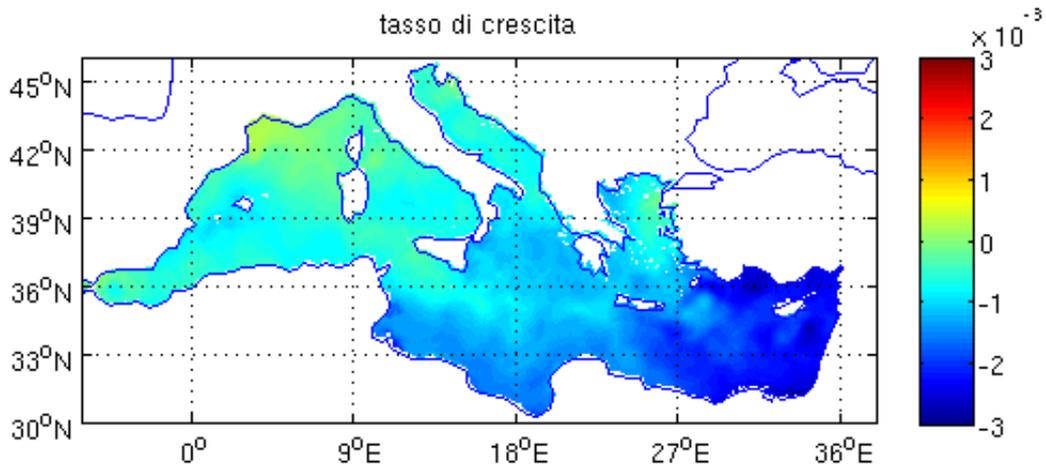


Figura 7: Variazione annuale del tasso di crescita $\text{giorni}^{-1}/\text{anno}$ di *A.* ottenuta tramite regressione lineare parametrica.

La Figura 7 mostra un aumento del tasso di crescita dell'*Alexandrium catenella* nella maggior parte del Mar Mediterraneo, dallo Stretto di Gibilterra fino alle coste della Turchia. L'aumento nell'ordine di $0.001\text{g}^{-1}/\text{a}$ raggiunge picchi fino a $0.003\text{g}^{-1}/\text{a}$ nello Stretto di Gibilterra, nel Golfo del Leone e in Turchia. Fanno eccezione le coste dell'Egitto e della Siria, dove è presente una diminuzione di questa crescita di $-0,003$ giorni per ogni anno del periodo dal 1982 al 2016.

La regressione non parametrica (Theil-Sen test) di Matlab ha fornito il risultato mostrato in ed è sostanzialmente identico al risultato ottenuto con il test parametrico. Si ripete la medesima operazione spiegata precedentemente. Gli input e output di questa funzione sono gli stessi che per la funzione Robustfit. Anche in questo caso quindi inserendo la media annuale del tasso di crescita dell'alga si ottiene la matrice, mostrata in Figura 8, che rappresenta appunto il tasso di crescita dell'*A. catenella* in g^{-1}/a .

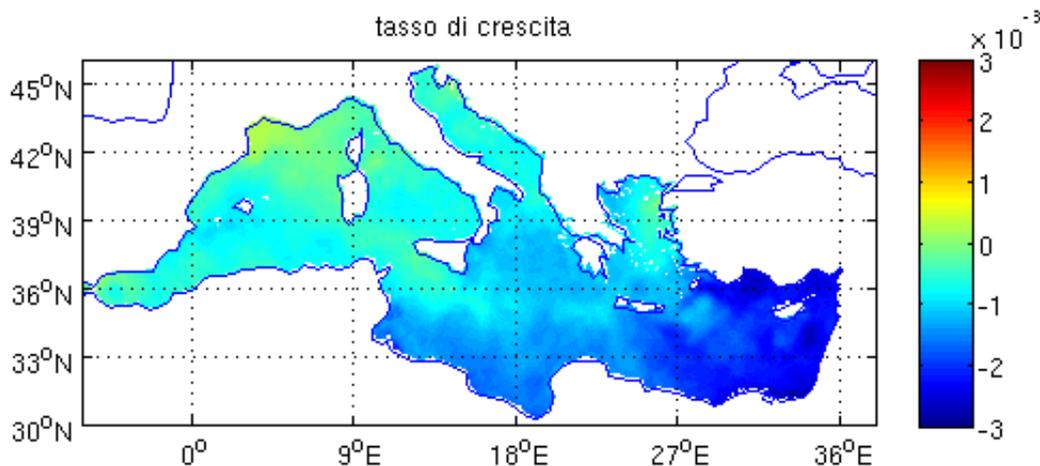


Figura 8: Variazione annuale del tasso di crescita $\text{giorni}^{-1}/\text{anno}$ di *A. catenella* nel bacino mediterraneo per gli anni dal 1982 al 2016 ottenuta tramite la regressione non parametrica.

Anche la significatività delle variazioni annuali del tasso di crescita è stata valutata con il test di Mann_Kendall sopra descritto.

In Figura 9 è mostrato il tasso di crescita dell'*A. catenella* nel bacino mediterraneo nel periodo compreso tra il 1982 e il 2016. In generale si può osservare che in quasi tutto il Mar Mediterraneo è stato registrato un aumento del tasso di crescita dell'alga. In particolare, il modello mostra un aumento progressivo negli ultimi 35 anni a partire dallo Stretto di Gibilterra fino ad arrivare alla costa turca, e un trend negativo in Egitto e al largo dell'isola di Cipro. Questo significa che negli anni analizzati, dal 1982 al 2016, si è verificato uno spostamento positivo del tasso di crescita dell'*Alexandrium catenella* da ovest verso est. Anche in questo caso, sono presenti tre picchi principali, che coincidono con quelli del periodo della fioritura: nel Mar di Alora, nel Golfo del Leone, dove sono stati registrati i valori più alti intorno ai $0.003\text{g}^{-1}/\text{a}$, e in Turchia. Questa coincidenza, indica che avendo un maggior tasso di crescita, si hanno condizioni ottimali per la proliferazione e di conseguenza il periodo di fioritura è aumentato.

Anche lungo le coste adriatiche, siciliane e nel Mar Tirreno, è stato riportato un aumento. In queste aree, dalla colorazione tendente al giallo-arancio, si ha un tasso di crescita a partire da $0,002\text{g}^{-1}/\text{a}$ per tutto il periodo preso in esame. Lungo le coste

orientali, invece, dal lato meridionale della Turchia fino all'Egitto, sono presenti valori negativi pari a $-0,002^{-1}\text{g/a}$, nelle regioni in mare aperto, e di $-0,003^{-1}\text{g/a}$ lungo le coste. Ciò indica una diminuzione del tasso di crescita, colorazione blu-azzurra.

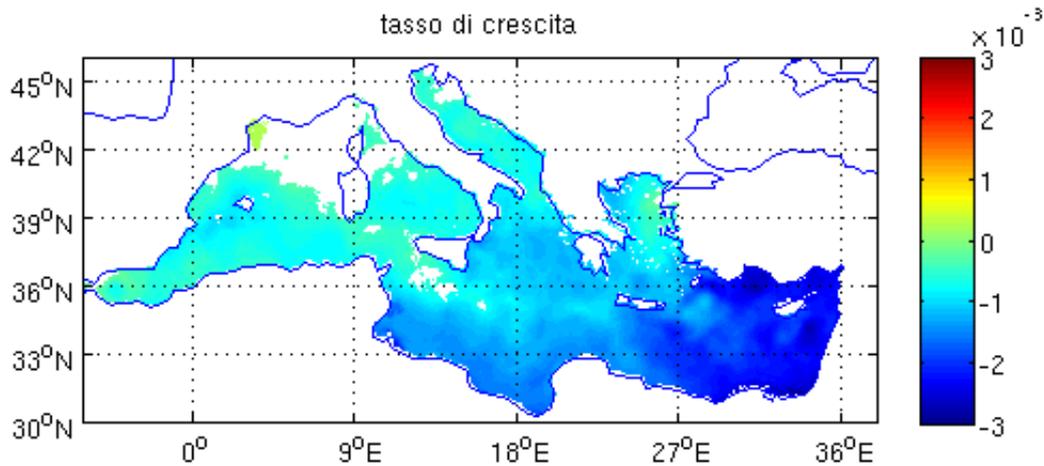


Figura 9: Modello del trend del tasso di crescita in $^{-1}\text{g/a}$ dal 1982 al 2016 dell'*Alexandrium catenella* nel Mar Mediterraneo.

3.4. Determinazione delle variazioni di temperatura

La variazione temporale della temperatura superficiale del Mar Mediterraneo per gli anni dal 1982 al 2016 segue lo stesso procedimento descritto precedentemente per la valutazione della periodo di fioritura e del tasso di crescita di *A. catenella*. Il trend di variazione è stato condotto quindi con test parametrico (Figura 10) e non parametrico (Figura 11).

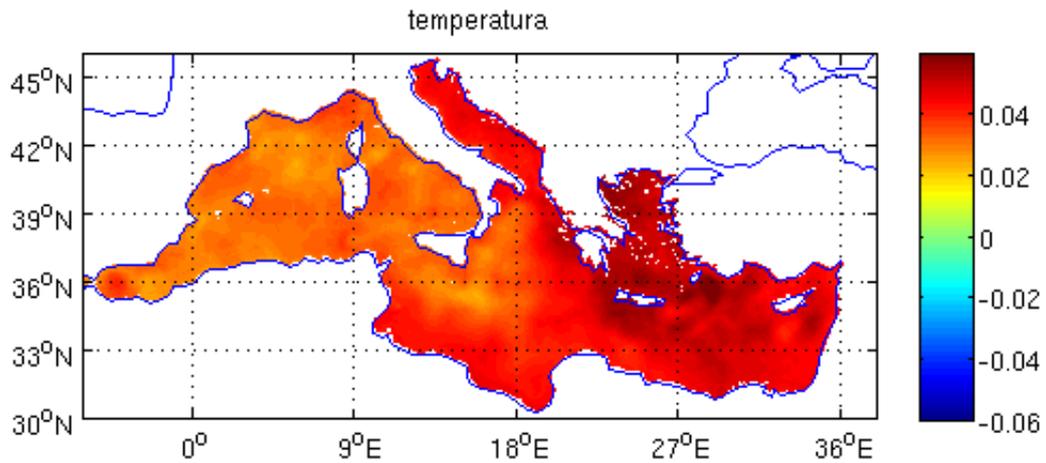


Figura 10: Variazione annuali della temperatura superficiale del Mar Mediterraneo ($^{\circ}\text{C}/\text{anno}$). Ottenuta con test parametrico.

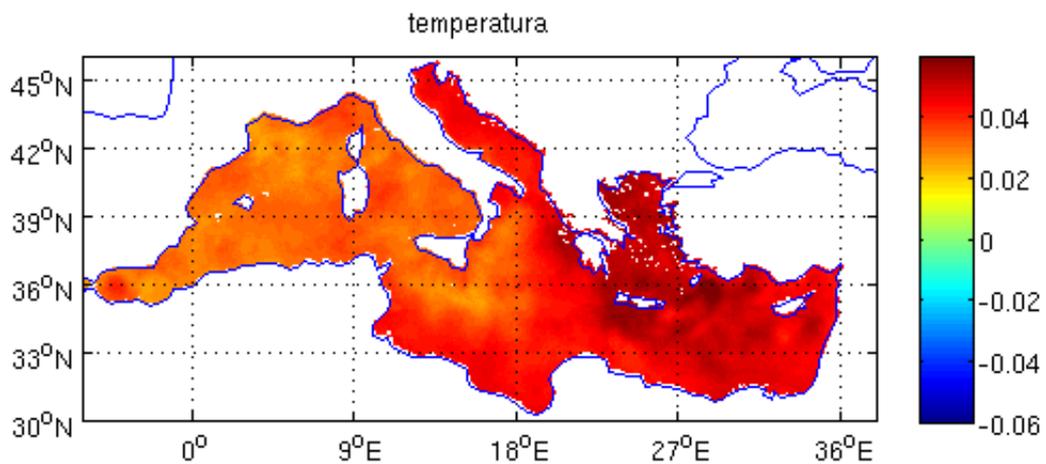


Figura 11: Variazione annuali della temperatura superficiale del Mar Mediterraneo ($^{\circ}\text{C}/\text{anno}$). Ottenuta con test non parametrico.

In entrambe si osserva un aumento della temperatura in tutto il bacino mediterraneo. Particolarmente marcato nel bacino Mediterraneo orientale dove il trend di variazione raggiunge anche valori pari a $0,06^{\circ}\text{C}/\text{anno}$, mentre nel bacino occidentale il trend è maggiormente contenuto ($0,03^{\circ}\text{C}/\text{anno}$).

In Figura 12 è mostrato l'incremento della temperatura nel bacino mediterraneo tra il 1982 e il 2016. Come è possibile osservare, nel periodo di anni considerato, la temperatura nel Mar Mediterraneo ha subito un incremento generale. In particolare,

ad occidente, dallo Stretto di Gibilterra fino al Mar Ionio, è stato registrato un aumento di temperatura più basso rispetto ad oriente, dove invece si è verificato un incremento maggiore. Ciò significa che le acque superficiali del Mar Mediterraneo occidentale sono più fredde rispetto a quelle del Mediterraneo orientale. Ad ovest, partendo dallo Stretto di Gibilterra, si nota un innalzamento generale della temperatura di 0.03°C . Fanno eccezione alcune aree nel Mare di Alborà e nel Mar Ligure, dove l'incremento della SST è leggermente più alto, raggiungendo valori di 0.04°C . Ad est, invece, è stato riportato un aumento della temperatura superficiale dell'acqua marina circa il doppio di quello ad ovest. L'area, in cui si è registrato un aumento della SST di 0.06°C , comprende completamente il Mar Egeo fino ad arrivare alle coste della Siria. Al largo della Tunisia, della Libia e nel Mar Adriatico, l'aumento della SST è lievemente inferiore rispetto al Mar Mediterraneo orientale, anche se si possono notare delle zone con una maggior intensificazione lungo le coste croate. Confrontando la Figura 12 con i grafici del periodo della fioritura e del tasso di crescita emerge che all'incremento più elevato della temperatura, nel bacino mediterraneo ad est, corrisponde un aumento sia del tasso di crescita dell'alga sia del periodo di fioritura. Ad ovest del bacino mediterraneo, invece, dove si è registrato un minore aumento della SST, corrisponde nelle altre due variabili analizzate una diminuzione.

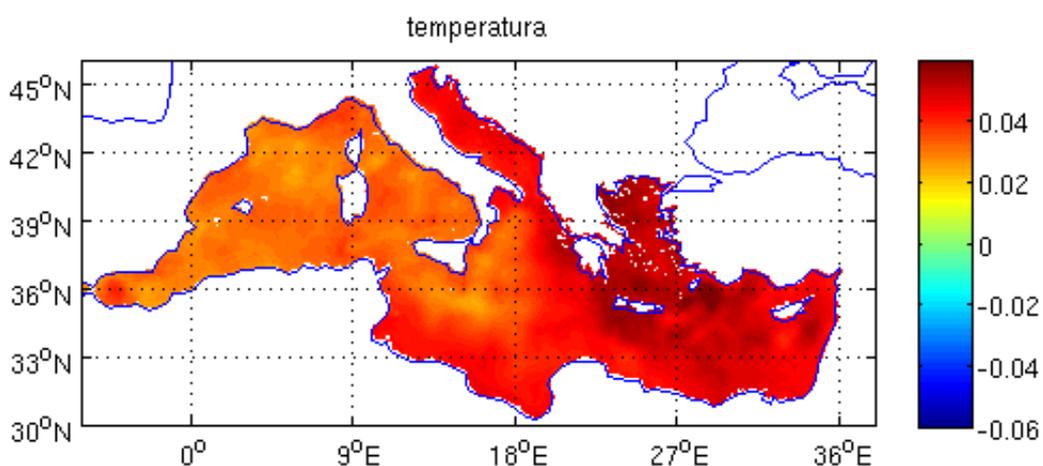


Figura 12: Modello del trend del incremento della temperatura in $^{\circ}\text{C}$ dal 1982 al 2016 dell'*Alexandrium catenella* nel Mar Mediterraneo.

L'*Alexandrium* catenella è un tipo di fitoplancton la cui crescita e riproduzione è favorita nelle acque aventi una temperatura compresa tra 21°C e 24°C [12]. Nel periodo dal 1982 al 2016, si è verificato un aumento generale della SST nel Mar Mediterraneo, nonostante siano presenti periodi di diminuzione, come mostrato in Figura 13.

A partire dal 1982 fino al 2016, la temperatura superficiale marina del bacino mediterraneo è aumentata complessivamente di 1°C, portando la temperatura da 19,3°C a 20,3°C (Figura 13).

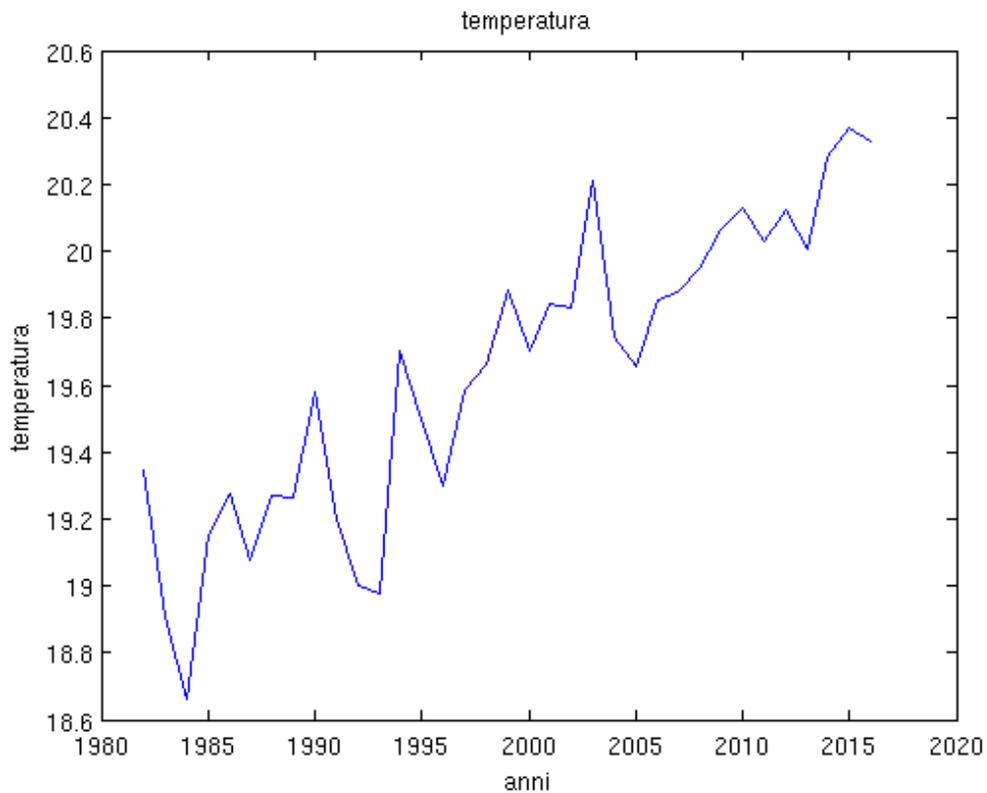


Figura 13: Modello dell'andamento della temperatura, espressa in °C, nel periodo dal 1982 al 2016.

4. Conclusioni

Alexandrium catenella è una microalga del genere *Alexandrium*, ed è in grado di produrre una neurotossina. Questa tossina (saxitossina) può provocare danni ambientali e intossicazione dell'uomo. Queste contaminazioni sono dovute principalmente all'ingerimento di molluschi infetti, come i bivalvi che per l'appunto si nutrono di questi organismi. È necessario quindi valutare il suo sviluppo per comprendere la sua diffusione nei mari al fine di evitare contaminazioni ed epidemie.

L'analisi della propagazione dell'alga è stata focalizzata sul Mar Mediterraneo nel periodo compreso tra il 1982 e il 2016. Lo studio ha valutato i valori di significatività del periodo di fioritura, del tasso di crescita dell'*A. catenella* e dell'incremento della temperatura a partire dai valori della temperatura superficiale marina (SST). Non è stata valutata l'intera colonna d'acqua in quanto quest'alga presenta una maggiore probabilità di fioritura nelle acque superficiali, vicino alle coste, dove si ha un maggior quantitativo di radiazione solare utile per la crescita.

Dall'analisi dei periodi di fioritura è emerso che il numero di giorni in cui si ha una probabilità che la fioritura dell'alga si verifichi è aumentato in tre aree del bacino mediterraneo. Precisamente questo è avvenuto nel Mare di Alborà, nel Golfo del Leone e nel Mar Egeo, lungo le coste della Turchia. In queste zone è stato registrato un incremento di circa 1-2g/a. Naturalmente ad un incremento del periodo di fioritura coincide un aumento del tasso di crescita. Nelle stesse zone, infatti, è stato registrato un aumento del tasso di crescita dell'alga, con picchi che raggiungono il valore di 0.003g/a.

Per quanto riguarda la temperatura, nel bacino mediterraneo è stato registrato un innalzamento generale. È necessario specificare, però, che la temperatura non ha subito un aumento omogeneo. Nelle acque orientali, infatti, si è registrato un incremento doppio rispetto a quello delle acque occidentali, ossia la temperatura si è alzata di un valore pari a 0.06°C in oriente a confronto del 0.003°C a occidente. Interessante è stato osservare che all'incremento maggiore della temperatura non

Conclusioni

coincide un incremento del periodo di fioritura e del tasso di crescita dell'A. catenella ma bensì una diminuzione.

5. Bibliografia

- [1] Anderson D. M., Alpermann T. J., Cembella A. D., Collos Y., Masseret E., Montresor M.. (2012). The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 14 (2012) 10-35.
- [2] www.red-tide.org. Guardato il 27/01/2018.
- [3] www.abigailperezsaez.wixsite.com. Guardato il 28/01/2018.
- [4] www.orhab.org. Guardato il 27/01/2018.
- [5] Felicini G. P., Perrone C.: Le alghe. Capitolo 18 di Botanica generale e diversità vegetale, II edizione, editore Piccin, 2011.
- [6] www.species-identification.org. Guardato il 01/03/2018.
- [7] Laabir M., Collos Y., Masseret E., Grzebyk D., Abadie E., Savar V., Sibat M., Amzil Z.. (2013). Influence of Environmental Factors on the Paralytic Shellfish Toxin Content and Profile of *Alexandriumcatenella* (Dinophyceae) Isolated from the Mediterranean Sea. *Mar. Drugs* 2013, 11, 1583-1601.
- [8] Penna A., Garcés E., Vila M., Giacobbe M. G., Fraga S., Luglié A., Bravo I., Bertozzini E., Vernesi C.. (2005). *Alexandriumcatenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. *Marine Biology* (2005) 148: 13-23.
- [9] Abi-Khalil C., Lopez-Joven C., Abadie E., Savar V., Amzil Z., Laabir M., Rolland J. L.. (2016). Exposure to the Paralytic Shellfish Toxin Producer *Alexandriumcatenella* Increases the Susceptibility of the Oyster *Crassostrea gigas* to Pathogenic Vibrios. *Toxins (Basel)*. 2016 Jan; 8(1): 24.

Bibliografia

- [10] Poletti R.: Biotossine marine. Origine, diffusione e controllo.
- [11] www.biologiamarina.eu. Guardato il 02/03/2018.
- [12] Laabir M., Jauzein C., Genovesi B., Masseret E., Grzebyk D., Cecchi P., Vaquer A., Perrin Y., Collos Y.. (2011). Influence of temperature, salinity and irradiance on the growth and cellyield of the harmful red tide dinoflagellate *Alexandrium catenella* colonizing Mediterranean waters. *Journal of plankton research*, volume 33, number 10, pages 1550-1563.
- [13] www.copernicus.eu. Guardato il 29/02/2018.
- [14] www.noaasis.noaa.gov. Guardato il 03/03/2018.
- [15] it.mathworks.com. Guardato il 27/02/2018.
- [16] Gobler C. J., Doherty O. M., Hatterrath-Lehmann T. K., Griffith A. W., Kang Y., Litaker R. W.. (2017). Ocean warming since 1982 has expanded the niche of toxic algal blooms in the North Atlantic and North Pacific oceans.