

Bando Azione 3.A. Diversificazione dei prodotti ittici e della pesca – Intervento 3.A.2 Azioni a finalità collettive, progetti pilota

Piano di Azione FLAG Costa dell'Emilia-Romagna – Priorità 4 Mis. 4.63 PO FEAMP 2014-2020

REPORT FINALE

**DIVERSIFICAZIONE DELL'OSTRICOLTURA REGIONALE
MEDIANTE LA CARATTERIZZAZIONE QUALITATIVA DI DUE
NUOVE TIPOLOGIE COMMERCIALI DI OSTRICA CONCAVA
(GOLDEN E BLACK) E POTENZIALITÀ DI MERCATO**

RISULTATI DEL PROGETTO

Elena Tamburini

Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Prevenzione @ Università di Ferrara

Edoardo Turolla

Istituto Delta Ecologia Applicata, Ferrara

Alessandra Castellini, Alessandro Ragazzoni

ERGO Consulting @ Università di Bologna

Lorenzo Lippi, Marina Mariottini

Synaptic srl, Firenze

Luisa Giari

Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Prevenzione @ Università di Ferrara

Chiara Scapoli

Dipartimento di Scienze della Vita e Biotecnologie @ Università di Ferrara

Il presente report illustra dettagliatamente i risultati ottenuti durante i mesi di attività del progetto “Elementi di innovazione ambientale ed economica per lo sviluppo e la promozione dell’ostricoltura regionale”, avviato il 10 maggio 2022 e concluso il 31 gennaio 2023.

Il progetto aveva come obiettivo principale di stimolare l’interesse dei molluscoltori per l’allevamento dell’ostrica partendo dal caso studio della Sacca di Goro, come opportunità di diversificazione produttiva orientata alla qualità e al miglioramento del reddito attraverso:

- lo studio delle tecniche di produzione dell’ostrica concava (*Crassostrea gigas*, Thunberg, 1850) nelle 3 varianti di colore del guscio (tradizionale, golden e black).
- la ricerca delle caratteristiche chimiche, biochimiche e nutrizionali di *C. gigas* nelle 3 varianti di colore
- l’analisi dei geni coinvolti nella formazione del guscio e la ricerca delle basi genetiche correlate ai tratti nutrizionali e di crescita nelle 3 varianti di colore.
- l’analisi delle potenzialità economiche della produzione e del commercio derivanti dall’introduzione sul mercato delle tre varianti di colore.

Le attività previste hanno riguardato:

1. Ricerca delle caratteristiche chimiche, biochimiche e nutrizionali e del valore nutrizionale.
2. Caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella formazione del guscio, crescita e nel controllo di alcuni tratti nutrizionali nelle 3 varianti di colore.
3. Ricognizione e verifica delle tecniche di produzione, a partire da una filiera interamente locale, compresa la produzione del seme.
4. Valutazione delle opportunità economiche dell’impresa ittica derivanti dalla diversificazione della produzione rispetto alla mitilicoltura per le tre tipologie di ostrica.
5. Analisi qualitativa del comportamento dei consumatori nei confronti dell’offerta di ostriche differenziate per il colore del guscio.

Così come riportati nel progetto in fase di sottomissione, i risultati attesi erano:

- comprendere se alcuni aspetti del profilo nutrizionale di *C. gigas*, nelle tre varianti di colore del guscio, presentino un controllo genetico che possa essere stabilmente ereditato (capitolo x, x, x)
- qualificare la carne dal punto di vista della composizione biochimica e del valore nutrizionale (capitolo x, x, x)
- ottimizzare le tecniche di produzione attraverso innovazioni di processo efficaci dal punto di vista della resa produttiva ed efficienti dal punto economico (capitolo x, x, x)
- verificare le potenzialità economiche e commerciali della diversificazione produttiva introducendo l’ostricoltura in impianti esistenti e/o installazioni ex-novo (capitolo x, x, x)
- valutare l’interesse del consumatore alla proposizione di ostriche interamente Made in Italy in diverse varianti di colore del guscio, ciascuna caratterizzata da un riconosciuto profilo nutrizionale (capitolo x, x, x)
- contribuire al rilancio della produzione ostricola nell’area FLAG in un’ottica di innovazione e diversificazione (capitolo x, x, x)

INDICE

1. Introduzione

- 1.1 Opportunità di sostegno per le imprese di acquacoltura: FEAMP 2014-2020
- 1.2 Il contesto nazionale
- 1.3 Importanza dell'ostrica come risorsa sostenibile
- 1.4 Normativa relativa ai molluschi bivalvi destinati al consumo umano: produzione primaria e regole per l'immissione in commercio

2. Ricognizione e verifica delle tecniche di produzione, a partire da una filiera interamente locale, compresa la produzione del seme di due nuove tipologie commerciali di ostrica concava (*Golden e Black*)

- 2.1 Le caratteristiche della specie
- 2.2 Morfologia
- 2.3 Habitat
- 2.4 Distribuzione
- 2.5 Origine delle Golden e Black oyster
- 2.6 L'ostricoltura in Emilia-Romagna
- 2.7 Processo colturale
- 2.8 Impianto e attrezzature

3. Caratterizzazione qualitativa di *C. gigas* nelle 3 varianti di colore

- 3.1 Analisi delle caratteristiche chimiche, biochimiche e nutrizionali
- 3.2 Analisi dei geni coinvolti nella formazione del guscio e la ricerca delle basi genetiche correlate ai tratti nutrizionali e di crescita nelle 3 varianti di colore.

4. Analisi delle potenzialità economiche della produzione e del commercio derivanti dall'introduzione sul mercato delle tre varianti di colore.

- 5.1 Premessa ed obiettivi
- 5.2 Gli scenari produttivi e la valutazione della convenienza economica
- 5.3 Il modello di analisi: il conto economico riclassificato e gli indici di redditività
- 5.4 Applicazione del modello di analisi agli scenari di allevamento nella Sacca di Goro
- 5.5 Analisi dell'incidenza della dinamica dei ricavi sui costi di allevamento

5. *Sentiment analysis* sulle ostriche di Goro: analisi tramite software di intelligenza artificiale del posizionamento delle ostriche su web

PREMESSA

Negli ultimi anni la molluschicoltura regionale ha registrato una serie di difficoltà, come lo scarso reclutamento del novellame selvatico per le venericolture, difficoltà di maturazione delle coltivazioni e prezzi alla vendita con margini sempre più sottili per le mitilicoltura. A questo scenario, si sono aggiunte le incertezze della pandemia, che hanno portato ad un clima di sfiducia tra gli allevatori, evidenziando al contempo la vulnerabilità e le debolezze tipiche di un settore tradizionalmente poco diversificato.

A fronte di ciò recentemente è diventata sempre più forte la necessità di diversificare le produzioni con altre specie di interesse commerciale, e già diverse esperienze dimostrano come l'ostrica concava (*Crassostrea gigas*) sia un'ottima candidata.

In generale, il mercato delle ostriche è molto diverso rispetto a quello delle vongole veraci o dei mitili, e la caratterizzazione precisa del prodotto, anche attraverso il nome, è una strategia di marketing necessaria per raggiungere mercati allargati.

Da alcuni anni sono stati individuati nella Sacca di Goro due particolari morfotipi cromatico di ostrica e, attraverso tecniche di riproduzione controllata, si è riuscito a produrne il seme in quantità da poter essere allevato. Una di queste, ha il guscio di colore giallo-oro che la rende molto accattivante sul mercato e viene venduta con la denominazione di Golden oyster®. Visti i risultati e il consenso del mercato è stato isolato un secondo tipo cromatico (black), entrata in produzione nel 2022. La produzione di ostriche dai tratti originali e facilmente distinguibili sul mercato rappresenta un'azione valorizzante del territorio, dal momento che, non solo sono allevate in un'area ben precisa, ma sono le uniche ostriche completamente Made in Italy presenti sul panorama nazionale.

1. INTRODUZIONE

1.1 Opportunità di sostegno per le imprese di acquacoltura: FEAMP 2014-2020

Questo progetto rientra nell'ambito dei finanziamenti erogati per lo sviluppo e la promozione di una acquacoltura sostenibile nell'ambito del nuovo Fondo Europeo per gli Affari Marittimi e la Pesca (FEAMP) per il periodo 2014-2020, finalizzato ad accompagnare l'attuazione della politica comune della pesca (PCP), offrendo risorse finanziarie e realizzando una fonte di finanziamento stabile per la politica marittima integrata (PMI).

I pilastri su cui è basato sono: pesca sostenibile e intelligente, acquacoltura sostenibile e intelligente, sviluppo sostenibile delle zone di pesca, misure di accompagnamento della PCP (raccolta di dati, controllo e misure di mercato).

L'"acquacoltura intelligente ed ecosostenibile" è uno dei pilastri della proposta, considerando che presenta enormi potenzialità per ridurre la dipendenza dalle importazioni e che offre sbocchi occupazionali nelle zone rurali. Il nuovo fondo mira a contribuire alla crescita sostenibile di questo settore attraverso il sostegno all'innovazione e la promozione di nuovi prodotti. Tra gli obiettivi del FEAMP c'è il sostegno a nuove forme di acquacoltura ad elevato potenziale di crescita, come l'ostricoltura, nonché alle imprese nella fase di startup.

1.2 Il contesto nazionale

Tra i prodotti ittici commercializzati freschi sui mercati italiani, le specie di molluschi bivalvi marini sono poco più di una trentina e due sole di queste sono allevate su larga scala, il mitilo (*Mytilus galloprovincialis*) e la vongola verace filippina (*Tapes philippinarum*), mentre l'allevamento dell'ostrica, con particolare riguardo all'ostrica concava (*Crassostrea gigas*), stenta ancora a consolidarsi come realtà produttiva nazionale.

Le produzioni di ostriche in Italia sono in crescita (dalle 53 tonnellate del 2013 alle 170 del 2020) ancora poco significative (contro la produzione francese, di 120 mila tonnellate annue). Riguardo questa specie si incontrano alcune problematiche nel quantificare le produzioni, data la difficoltà di separare l'allevamento dal più breve finissaggio di prodotto proveniente dall'estero, principalmente dalla Francia, e messo in impianto per stoccaggio e mantenimento prima della vendita.

Vi è, tuttavia, un crescente interesse da parte dei molluscoltori per questi bivalvi, sia per le positive esperienze maturate in diverse regioni, tra cui l'Emilia-Romagna, sia per la crisi produttiva dell'ostrica in Francia, a causa di problemi sanitari.

Inoltre, la produzione della mitilicoltura sia italiana che europea è condizionata dalle frequenti fioriture di alghe che producono tossine, responsabili di quadri morbosi quali PSP, DSP e ASP. Nutrendosi di queste alghe i molluschi, ed i mitili in particolare, accumulano tossine che essendo termostabili resistono alla cottura e possono costituire un serio pericolo per la salute umana. La presenza nei molluschi di tossine in quantità oltre i limiti di legge comporta la chiusura temporanea alla commercializzazione dell'impianto di allevamento. Questo problema ha impedito in alcune stagioni la raccolta della produzione per molti mesi, mettendo in crisi le mitilocolture di interi compartimenti. La principale fonte normativa a riguardo sono il Reg. CE 853/2004, Reg. CE 854/2004, Reg. CE 882/2004, Reg. CE 2074/2005 e successive modifiche.

Oltre che per la chiusura degli impianti a causa di biotossine algali, mitilocolture e venericolture hanno fatto registrare problemi per lo scarso reclutamento del novellame, morie, difficoltà a portare a maturazione le coltivazioni e prezzi alla vendita con margini di profitto sempre più assottigliati. Queste incertezze si ripercuotono sulla produttività degli allevamenti evidenziando al contempo le debolezze tipiche di un settore poco diversificato.

1.3 Importanza dell'ostrica come risorsa sostenibile

A fronte di questa realtà diventa sempre più forte la necessità di diversificare le produzioni con altre specie di interesse commerciale. Una di queste è proprio l'ostrica concava (*Crassostrea gigas*), presente su tutti i mercati europei e molti extraeuropei. Per le buone performance in condizioni di allevamento l'ostrica concava è oggi coltivata in tutto il mondo diventando il bivalve più allevato su scala globale. Non mancano tentativi lungo le coste italiane, dove si è tentato di sviluppare attività di ostricoltura non solo in ambienti lagunari, ma soprattutto in mare aperto. Da queste esperienze, specialmente da quelle più recenti, sembra maturare l'interesse dei produttori nei confronti dell'ostrica concava.

L'ostrica concava, *Crassostrea gigas*, sembra essere un'ottima candidata per ampliare e diversificare la produzione della molluschicoltura italiana. Storicamente il nostro paese non è mai stato una grande produttore di questo mollusco, le esperienze sono sempre state limitate e localizzate a macchia di leopardo nel territorio nazionale, questo dovuto anche alla bassa densità di popolazione sia della specie *Ostrea edulis* che delle *Crassostrea gigas*. È importante sottolineare che, diversamente da *Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas* è una specie alloctona importata, ormai presente in diverse zone del Paese. La maggior parte della produzione di ostriche (*Crassostrea gigas*) proviene da allevamenti polifunzionali, dove è condotta essenzialmente la mitilicoltura, ma è un prodotto che viene molto apprezzato.

Numerosi studi al riguardo hanno dimostrato la fattibilità di allevare ostriche (*Crassostrea gigas*), utilizzando gli stessi impianti in sospensione (strutture long-line) della mitilicoltura ottenendo un ottimo prodotto. Oltretutto, il confronto economico tra mitilo e ostrica mostra una netta convenienza per quest'ultima, producendo un guadagno maggiore di 2,4 volte. Lo sviluppo dell'ostricoltura si inserirebbe anche in un momento di crisi della mitilicoltura, sofferente da qualche anno per via di un calo sia produttivo che dei margini di guadagno. Il seme dovrebbe essere acquistato presso gli schiuditori esteri (Francia), poiché nei mari italiani risulta difficile catturare abbondante seme selvatico. Nel complesso, le potenzialità per l'allevamento di ostriche in Italia sembrano rilevanti, con un mercato interno particolarmente stimolante.

Il 98% della produzione mondiale di ostriche è rappresentato dal genere *Crassostrea*. Sono 44 i paesi nel mondo che sono produttori di ostriche allevate. Il contributo più consistente proviene dalla Cina che dal 1990 al 2013 ha segnato uno sviluppo del +300%. La produzione di ostriche di soli 5 paesi, Cina, Corea, Giappone, USA e Francia, contribuisce al 95% sul totale, in Europa per l'88% proviene dalla Francia. La specie allevata è prevalentemente *Crassostrea gigas*. Gli altri paesi europei partecipano alla produzione di ostriche in maniera molto limitata.

L'ostrica concava (*Crassostrea gigas*), è il mollusco bivalve più allevato del pianeta, supera una produzione annua di 4.5 milioni di tonnellate. La Cina è il primo produttore mondiale di ostriche, con oltre 2,3 milioni di tonnellate di cui il 10-20% di *Crassostrea gigas*. Riguardo l'Italia la produzione nazionale è inferiore a 200 tonnellate l'anno, insufficienti a soddisfare il consumo interno stimato negli anni passati in almeno 5000-10.000 tonnellate l'anno, importate principalmente da Francia, Spagna e Olanda. Il mercato richiede ostriche tutto l'anno con maggior peso in estate e in dicembre.

Ci sono parecchi riferimenti storici che riportano quanto gli antichi romani amassero le ostriche e di come le mantenessero vive attraverso sospensione in piccoli bacini o vasche sul mare (II-I sec. a.C.). Però è in tempi più recenti, intorno al 1850, che si rileva l'inizio di una forma più organizzata di allevamento delle ostriche, quando in Francia, sulla costa atlantica, venivano raccolti gli stadi giovanili delle ostriche selvatiche (2-3 cm), collocati nelle "*claires*" e lasciati crescere naturalmente per 2-3 anni. Le "*claires*" sono piccoli bacini scavati nell'argilla in cui l'ostrica porta a termine la sua crescita. La combinazione delle acque dolci e salate e la natura dell'ambiente in cui sono immessi i molluschi, ricco di peculiari sostanze nutritive, esaltano le differenze di colore e di sapore tipiche di questa produzione di ostriche.

Già nel 1912 in Francia veniva raggiunta una produzione di 15.000-20.000 tonnellate. La popolazione naturale era rappresentata dall'ostrica piatta (*Ostrea edulis*) presente in tutta la fascia atlantica europea e mediterranea. Ma dato che fino alla seconda metà dell'800 gli allevatori francesi non riuscivano a raccogliere sufficienti stadi giovanili utili all'allevamento, per integrare la produzione importarono dal Portogallo la specie *Crassostrea angulata*, questa si diffuse naturalmente colonizzando le coste atlantiche. Per circa 50 anni furono allevate contemporaneamente le due specie e nel 1920, la popolazione di *Ostrea edulis* venne distrutta, probabilmente da una patologia dovuta a un virus o a un parassita, e scomparve dalle aree marine della costa atlantica, ad eccezione di piccoli gruppi che si salvarono sulle coste della Bretagna. Per questo motivo dal 1920 la *Crassostrea angulata* divenne la principale specie oggetto di allevamento, fino a raggiungere una produzione di 90.000 tonnellate nel 1950. Nel Mediterraneo, si riuscì ad allevare *Ostrea edulis* sino al 1950, quando un altro evento distrusse gran parte della popolazione.

Nel 1960 e nel 1970 le popolazioni di *Ostrea edulis* sopravvissute in Bretagna vennero prima colpite da una patologia dovuta ad un protozoo (*Martelia refrigens*) e successivamente ad un parassita (*Bonamia ostreae*). La conseguenza fu che la specie d'ostrica fu decimata, facendo passare la produzione da 20.000 a 2.000 tonnellate. Nel 1966 una nuova patologia causata da un virus colpì gli allevamenti di *Crassostrea angulata* della costa atlantica francese, distruggendo completamente la popolazione di questa specie (Comps e Duthoit, 1976). Solo un'area a sud del Portogallo rimase indenne. Nel 1970 per poter ricostituire gli allevamenti sull'atlantico, la Francia importò svariate centinaia di tonnellate di ostriche della specie *Crassostrea gigas* dal Canada e dal Giappone, questa specie rappresenta attualmente la maggior parte della produzione europea.

In Italia, l'ostricoltura è poco esercitata e il più delle volte è praticata come attività associata alla mitilicoltura.

La tecnica di allevamento per *Crassostrea gigas* con il sistema in sospensione su long-line rappresenta infatti una valida opportunità in alternativa o in combinazione con la mitilicoltura.

Nel seguente schema vengono esposte le opportunità e i limiti dei sistemi d'ostricoltura riguardo la situazione nazionale:

ITALIA

Opportunità

Utilizzo di impianti di mitilicoltura (policoltura)

Diversificazione produttiva

Riduzione rischi d'impresa

Maggiore resa economica rispetto ai mitili

Minore rischio di contaminazione da biotossine

Minacce

Mancanza di esperienza, di storia

Difficoltà reperimento seme (acquisto estero)

Concorrenza con altri paesi

Maggiori investimenti rispetto ai mitili

Scarsa motivazione dei produttori

Limiti per l'Italia

Gran parte della produzione ottenuta nei principali paesi produttori dell'UE viene assorbita a livello nazionale e quando le quantità di prodotto consumato eccedono la produzione, questa viene

integrata dalle importazioni da paesi vicini e partner commerciali. Mentre in Europa le ostriche si vendono quasi totalmente intere e vive, soprattutto per essere consumate crude, in altri paesi sono seguiti altri modi per presentarle ai consumatori: aperte e vendute con una sola valva (USA); muscolo separato dalla valva e riadagiato (Australia). Qui i consumatori non hanno problemi a mangiare il mollusco non vivo; cotto (99% in Giappone); inscatolato (USA); congelato (Australia); cotto, affumicato, essiccato (Asia, Africa). Il commercio di questa specie su larga scala, risulta molto complicato a causa della *shelf life* relativamente breve, mentre il prodotto trasformato e venduto in scatola, surgelato, sottovuoto o sotto forma di vari tipi di preparati o salse, sembra avere maggior potenziale di espansione sul mercato globale. Tuttavia, queste tipologie di prodotti rappresentano soltanto una piccola percentuale della produzione, mentre continua ad avere notevole importanza il mercato internazionale del seme prodotto negli incubatoi, in particolare per quanto riguarda gli individui triploidi.

Almeno nei paesi occidentali, i costi che incidono maggiormente sulle aziende di ostricoltura sono rappresentati dalla manodopera. L'allevamento delle ostriche sia in Europa sia negli altri Stati ha un'impostazione aziendale di tipo familiare e sono pochi gli allevamenti a struttura cooperativa e a struttura industriale.

Punti di fragilità del settore:

- Crescente contaminazione delle acque marine in tutte le aree del mondo (contaminanti chimici e contaminanti biologici)
- Riscaldamento delle acque e cambiamenti climatici molto marcati e frequenti
- Fenomeni di bloom algali con effetti anossici sulle comunità acquatiche
- Contaminazione da tossine algali
- Patologie causate da agenti infettivi: *Martelia refringens*, *Bonamia ostrea*, *Perkinsus marinus*, *Haplosporidium nelsoni* (MSX), virus (OsHv-1).

1.4 Normativa relativa ai molluschi bivalvi destinati al consumo umano: produzione primaria e regole per l'immissione in commercio

I molluschi bivalvi sono organismi che si alimentano per filtrazione dell'acqua in ambiente e vengono pescati o allevati prevalentemente nelle aree costiere, influenzate da reflui terrestri. Considerata la loro biologia, i molluschi bivalvi, possono avere un grosso ruolo nella trasmissione all'uomo di malattie batteriche e virali.

La normativa di settore prevede che i molluschi bivalvi siano pescati o allevati solo nelle zone all'uopo classificate dalle Autorità Competenti (Reg. CE 853/2004, Reg. CE 854/2004 come modificato dal Reg. UE 2285/2015) sulla base del titolo di *E. coli*, ove vengono riconosciute tre distinte categorie: A, B, C.

Zona di classe A: zone da cui possono essere raccolti molluschi bivalvi vivi direttamente destinati al consumo umano. I campioni di molluschi bivalvi vivi provenienti da queste zone non devono superare, nell'80 % dei campioni raccolti durante il periodo di riesame, i 230 *E. coli* per 100 g di polpa e liquido intervalvare. Il restante 20 % dei campioni non deve superare i 700 *E. coli* per 100 g di polpa e liquido intervalvare. Nel valutare i risultati per il periodo di riesame definito per mantenere una zona nella classe A, l'autorità competente può decidere, in base a una valutazione del rischio a seguito di un'inchiesta, di non tener conto di un risultato anomalo che supera il livello di 700 *E. coli* per 100 g di polpa e liquido intervalvare (Reg. UE 2015/2285).

Zona di classe B: zone da cui possono essere raccolti ed essere immessi sul mercato ai fini del consumo umano i molluschi bivalvi vivi solo dopo che questi abbiano subito un trattamento in un centro di depurazione o previa stabulazione in modo da soddisfare i requisiti sanitari richiesti per

le zone di classe A. I molluschi bivalvi vivi provenienti da queste zone non devono superare, nel 90 % dei campioni, i 4600 *E. coli* per 100 g di polpa e di liquido intervalvare. Nel restante 10 % dei campioni, i molluschi bivalvi vivi non devono superare i 46000 *E. coli* per 100 g di polpa e di liquido intervalvare.

Zona di classe C: zone da cui i molluschi bivalvi vivi possono essere raccolti ed essere immessi sul mercato ai fini del consumo umano soltanto previa stabulazione di lunga durata in modo da soddisfare i requisiti sanitari richiesti per le zone di classe A. I molluschi bivalvi vivi provenienti da queste zone non devono superare i livelli di 46000 *E. coli* per 100 g di polpa e liquido intervalvare. I molluschi bivalvi vivi provenienti dalle zone classificate di classe B e C possono essere inviati direttamente ad uno stabilimento di trasformazione, per essere sottoposti ad un trattamento termico quale previsto dal Reg. CE 853/2004.

L'autorità competente se decide di classificare una zona di produzione o di stabulazione, deve:

1. effettuare un inventario delle fonti di inquinamento di origine umana o animale che possono costituire una fonte di contaminazione della zona di produzione.
2. esaminare i quantitativi di inquinanti organici emessi nei diversi periodi dell'anno in funzione delle variazioni stagionali della popolazione umana e animale nel bacino idrografico, delle precipitazioni, del trattamento delle acque di scarico, ecc.
3. determinare le caratteristiche della circolazione degli inquinanti sulla base dell'andamento della corrente, della batimetria e del ciclo delle maree nella zona di produzione.
4. istituire un programma di campionamento dei molluschi bivalvi nella zona di produzione, basato sull'esame di dati prestabiliti e su un certo numero di campioni; la distribuzione geografica dei punti di campionamento e la frequenza del campionamento devono garantire risultati delle analisi il più possibile rappresentativi della zona considerata.

Raccolta: La raccolta dei molluschi bivalvi può essere eseguita dal produttore con mezzi diversi purché questi non determinino contaminazione del prodotto, danni eccessivi ai gusci, danni ai tessuti dei molluschi o cambiamenti tali da comprometterne la possibilità di depurazione, trasformazione o stabulazione.

Depurazione e spedizione: La depurazione è un processo di risanamento microbiologico del prodotto che consiste nell'abbattimento delle cariche microbiche entro i limiti di legge. La fase di depurazione avviene in appositi stabilimenti, denominati CDM (Centro di Depurazione Molluschi), questi comprendono bacini alimentati con acqua marina pulita, in cui i molluschi bivalvi vivi sono collocati per il tempo necessario alla riduzione dei contaminanti affinché diventino idonei al consumo umano. La stabulazione ha gli stessi obiettivi della depurazione, la differenza è negli stabilimenti, costituiti da parti di mare, di laguna o di estuario, delimitate e segnalate, esclusivamente destinate alla depurazione naturale. Possono essere utilizzate per questo solo zone riconosciute dall'autorità competente.

Tutti i molluschi bivalvi vivi destinati al consumo umano diretto, a prescindere dalla zona di provenienza, vengono immessi nel mercato solo dopo essere passati da un Centro di Spedizione Molluschi (CSM) (Reg. CE 853/2004), uno stabilimento a terra, o galleggiante, destinato al ricevimento, rifinitura, lavaggio, pulitura, calibratura, confezionamento ed imballaggio del prodotto. Dopo il confezionamento i molluschi bivalvi possono essere commercializzati solo se ancora vivi e vitali.

Consumo: I molluschi bivalvi devono presentare caratteristiche organolettiche tipiche del prodotto fresco e vitale, in particolare gusci privi di sudiciume, reazione adeguata a percussioni e livelli normali di liquido intervalvare. Non devono contenere *Salmonella* spp. in 25 g di prodotto e biotossine marine in quantità totali (misurate nel corpo intero o nelle parti consumabili

separatamente) superiori ai seguenti limiti: PSP («Paralytic Shellfish Poison»): 800 µg/kg; ASP («Amnesic Shellfish Poison»): 20 mg/kg di acido domoico; acido okadaico, dinophysitossine e pectenotossine complessivamente: 160 µg di equivalente acido okadaico/kg; yessotossine: 3,75 mg di equivalente yessotossine/kg; azaspiracidi: 160 µg di equivalente azaspiracido/kg.

È ben noto che i contaminanti epidemiologicamente più rilevanti nelle zoonosi alimentari da consumo di molluschi bivalvi vivi o poco cotti, sono i batteri autoctoni marini appartenenti al genere *Vibrio* ed i virus enterici. Tra questi i target di maggior rilievo sono *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, i Norovirus ed il virus dell'epatite A (HAV), per i quali il trattamento di depurazione mostra scarsa efficacia.

2. Ricognizione e verifica delle tecniche di produzione, a partire da una filiera interamente locale, compresa la produzione del seme di due nuove tipologie commerciali di ostrica concava (*Golden e Black*)

Il mercato dei prodotti ittici è in continua evoluzione con la costante ricerca di prodotti con caratteristiche sempre più accattivanti per il consumatore, ma soprattutto diversi rispetto a quelli già disponibili. Non sfuggono a questa realtà le ostriche per le quali, fermo restando le qualità organolettiche e sanitarie, le parole d'ordine sono "novità" ed "originalità". Su questi presupposti si sta evolvendo la rinata ostricoltura italiana che, nonostante le ancora modeste quantità, si inserisce sul mercato con eccellenze come le ostriche Golden e Black di Goro.

In questa relazione, dopo aver fornito le informazioni generali sulla specie e sull'origine di queste nuove tipologie di ostrica concava, saranno descritte le fasi tecniche di allevamento delle stesse.

2.1 Caratteristiche della specie

L'ostrica concava, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), è il bivalve più allevato in assoluto su scala globale e la sua produzione supera i 4,5 milioni di tonnellate/anno, equivalenti a circa un terzo del peso complessivo dei molluschi. Il mercato italiano delle ostriche è in continua espansione e attualmente assorbe 10.000 di ostriche concave all'anno, in gran parte importate da paesi europei come Francia, Spagna, Irlanda e Olanda



2.2 Morfologia

Di forma allungata lungo l'asse dorso-ventrale, la conchiglia di *C. gigas* è robusta, inequivalve e grossolanamente equilaterale. La valva inferiore (sinistra) è concava; mentre la superiore (destra) è appiattita. La superficie esterna delle valve è di aspetto lamelloso per la presenza di creste di crescita molto affilate (Fig. 1).

La superficie interna, di colore bianco avorio, mostra l'impronta bruno-violacea di un solo muscolo adduttore (monomiaria) in posizione sub-centrale. La colorazione esterna è variabile e può presentare striature violacee o marrone su uno sfondo grigio-bianco.

L'ostrica concava è un bivalve di dimensioni medio-grandi con frequenti esemplari della lunghezza di 100-120 mm e che eccezionalmente possono superare i 300 mm e il peso di 2 chilogrammi.

2.3 Habitat

L'ostrica concava è un bivalve sessile le cui larve si cementano con la valva sinistra a substrati di varia natura, rimanendovi poi per tutta la vita. In questo modo riesce a colonizzare svariati tipi di fondale, compresi quelli mobili, della zona intertidale fino alla profondità di pochi metri. Come substrato, infatti, è sufficiente anche un piccolo frammento di conchiglia presente praticamente ovunque. Gli individui di questa specie possono formare banchi estesi e numerosi, sia su substrati naturali, sia su manufatti artificiali (banchine, massicciate, ecc. – Fig. 2).

C. gigas è un'ostrica che può sopravvivere in un ampio range di temperatura, da 3-4 a oltre 30°C, con un intervallo ottimale compreso tra 12 e 21°C. È inoltre una tipica specie eurialina, ovvero che vive in ambienti a salinità diverse e soprattutto tollera cambiamenti giornalieri molto repentini di questo parametro. Può infatti formare popolazioni in ecosistemi come lagune salmastre o tratti di costa soggetti a sbocchi di acqua dolce, dove la salinità può scendere e mantenersi anche per alcuni giorni al di sotto del 10‰. Oppure può stabilirsi in condizioni tipicamente marine dove i valori di salinità rimangono costantemente oltre il 30‰.



Neppure situazioni di particolare turbolenza e torbidità rappresentano un ostacolo alla diffusione di questa specie. Sui substrati duri la concentrazione di *C. gigas* tende ad aumentare dal fondo verso la zona intertidale; più esposta al moto ondoso e alle mareggiate. Non è raro tuttavia osservare popolazioni numerose anche in ambienti riparati, come le aree più interne delle lagune. La particolare struttura concava della conchiglia; nonché la sua anatomia, consentono di vivere in acque piuttosto torbide per l'elevata concentrazione di plancton e materiali organici ed inorganici sospesi.

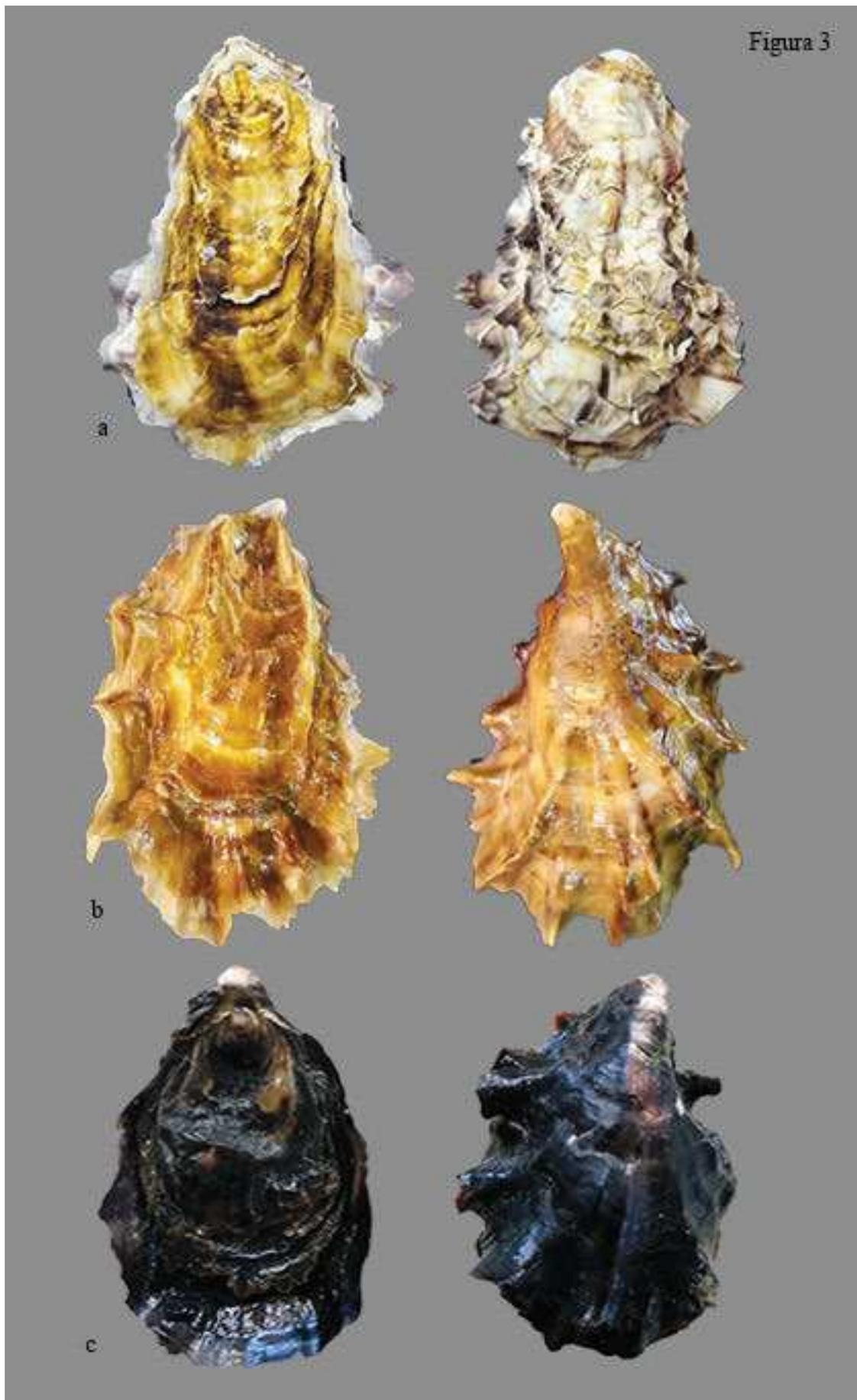
2.4 Distribuzione

Originaria della provincia nipponica (Giappone, Russia, Corea e Cina settentrionale), l'ostrica concava del Pacifico è diventata di fatto una specie cosmopolita a seguito delle numerose introduzioni per fini di acquacoltura che si sono susseguite in tutti i continenti. Come conseguenza di varie introduzioni volontarie e della sua successiva diffusione spontanea la specie è presente praticamente ovunque nel bacino Mediterraneo e in vari tratti della costa del mar Nero (Krapal *et al.*, 2019) e nel mar di Marmara (Albayrak *et al.*, 2004; Özcan Gökçek *et al.*, 2020). Lungo le coste adriatiche della Croazia, per esempio, nonostante *C. gigas* non sia mai stata ufficialmente introdotta (Ezgeta-Balić *et al.*, 2020), esemplari selvatici sono stati individuati già dagli anni '70 (Hrs-Brenko, 1982). Sul versante italiano invece la specie è stata introdotta per la prima volta volontariamente nella laguna di Venezia nel 1966 (Matta, 1991) e in seguito praticamente lungo tutta la penisola.

Per quanto riguarda l'area del Delta del Po l'ostrica concava è presente almeno dagli anni Settanta, dal momento che compare nei documenti commerciali giacché veniva pescata nella Sacca di Goro e venduta.

2.5 Origine delle Golden e Black oyster

Nell'ostrica concava le colorazioni giallo-oro o nera sono piuttosto rare e si riscontrano soltanto in pochi individui su migliaia. Il caso ha voluto che 2 esemplari di colore *golden* nell'estate 2015 siano giunti presso lo schiuditoio C.Ri.M.; uno tra i riproduttori raccolto casualmente nella Sacca di Goro, e uno consegnato da un pescatore locale (Vadis Paesanti) proprio per l'eccezionalità del ritrovamento. Durante la stimolazione entrambi gli esemplari *golden* hanno emesso rivelandosi fortunatamente di sesso opposto e quindi i gameti prodotti (oociti e spermatozoi) sono stati utilizzati per la fecondazione incrociata. Tra le ostriche nate da questa riproduzione una minima parte, comunque migliaia, presentavano la colorazione *golden*, ma sulla sola valva superiore (Fig. 3a). Gli stessi sono poi stati utilizzati come riproduttori l'anno seguente avendo cura di selezionare gli esemplari dai tratti *golden* più marcati. Incrociando ogni anno solo esemplari con questa caratteristica cromatica è stato possibile dopo 2 generazioni ottenere i primi individui con entrambe le valve *golden* e oggi, dopo 7 generazioni le qualità estetiche raggiunte sono notevoli (Fig. 3b). La selezione della variante *black* (Fig. 3c) è avvenuta in maniera analoga partendo da 3 esemplari selvatici (due maschi e una femmina) raccolti sui fondali della Sacca di Goro. La produzione del seme su scala commerciale, è però più recente rispetto alle *golden* essendo iniziata nel 2019.



2.6 L'ostricoltura in Emilia-Romagna

A partire dagli anni Novanta lungo le coste emiliano-romagnole sono stati eseguiti vari tentativi di allevare ostriche (Prioli *et al.*, 1995; Rossi, 2005; Rossi & Turolla, 2005); nella maggior parte dei casi sfociati nell'insuccesso o con modesti risultati.

Nel 2001 un progetto di ricerca dell'Università di Ferrara, pur evidenziando alcune criticità, dimostra la fattibilità dell'allevamento di ostriche su impianti *long-line* normalmente adibiti alla mitilicoltura al largo di Goro. Il problema principale era stato identificato nel tipo di contenitore, poi risolto dalla collaborazione tra l'*Istituto Delta Ecologia Applicata e Acqua&Co* che progettano e brevettano nel 2007 un nuovo sistema denominato *Ostriga*. Alcuni allevatori decidono di provarlo, ma non vanno oltre il primoraccolto per difficoltà riscontrate più che altro nella commercializzazione del prodotto. Solo nel 2015, grazie all'impegno di due soci della *cooperativa S. Antonio* (Vanni Cazzola e Laurent Sitterlin) viene attivato il primo allevamento in Emilia-Romagna che darà continuità al comparto.

Per merito di queste esperienze che hanno suscitato l'interesse di nuovi allevatori l'ostricoltura regionale presenta una tendenza ad espandersi. Attualmente l'unico polo produttivo rimane quello di Goro, dove l'ostricoltura viene praticata *off-shore* su 4 impianti tipo *long-line* convertiti dalla mitilicoltura all'ostricoltura e sanitarimente classificati.

Il grafico seguente mostra l'andamento delle produzioni che nel 2022 hanno raggiunto le 24,8 tonnellate e mostrano una tendenza di crescita, grazie soprattutto all'aumento dei produttori. Un grande contributo in questo senso potrebbe derivare dallo sfruttamento delle potenzialità di utilizzo delle acque lagunari per l'ostricoltura, come dimostrato da recenti studi svolti nella Sacca di Goro (Turolla, 2021).

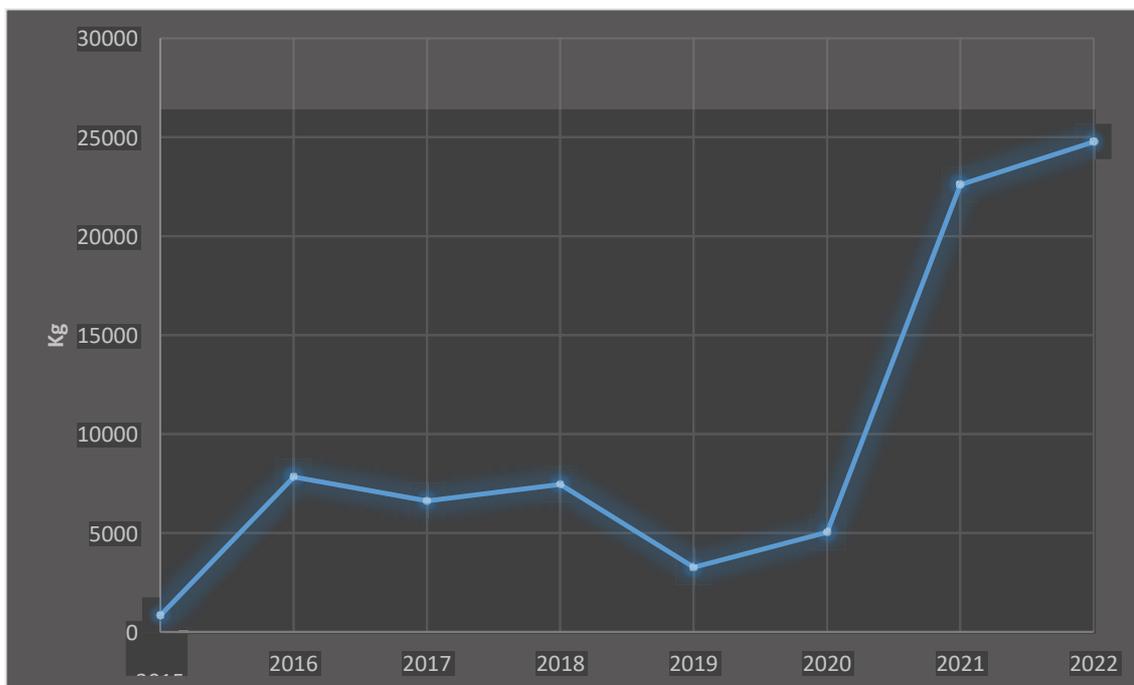


Figura 4 – Produzione di ostriche in Emilia-Romagna.

2.7 Processo colturale

Il processo di produzione è articolato in diverse fasi di allevamento:

- Reperimento del seme;
- Preingrasso;
- Ingrasso;
- Finissaggio;
- Raccolta e selezione.

Reperimento del seme

Allo stato attuale tutti gli ostricoltori italiani, compresi quelli emiliano-romagnoli, utilizzano seme di ostrica concava proveniente da schiuditoio estero, per lo più francese. In genere la taglia di partenza è quella identificata commercialmente come T6 e corrisponde ad un'ostrica della lunghezza di 8-10 mm (0,2 g/ostrica). Tendenzialmente i produttori preferiscono il seme triploide che, in quanto sterile, garantisce miglior performance di crescita e sopravvivenza.

L'unica eccezione è costituita dagli allevatori di Goro, che in parte impiegano seme prodotto in loco. In particolare tutte le ostriche oggetto di questo progetto sono state prodotte presso lo schiuditoio C.Ri.M. di Istituto Delta Ecologia Applicata da riproduttori selezionati della Sacca di Goro.

I riproduttori sono mantenuti in laguna fino al raggiungimento della maturità riproduttiva che in genere avviene quando la temperatura dell'acqua è stabilmente oltre i 19°C. Trasportati in schiuditoio vengono lavati e mantenuti per almeno 24 ore in acqua di mare (salinità 25‰) filtrata senza aggiunta di alimento e quindi sottoposti alla stimolazione mediante la metodica descritta da Turolla *et al.* (2007). Questa procedura consente di ottenere i gameti e di procedere alla fecondazione, quindi all'incubazione delle uova fecondate per 24 ore. Trascorso questo periodo si procede alla selezione delle larve-D con cui parte la fase di allevamento larvale. Questa ha una durata di 2-3 settimane e termina con la metamorfosi delle larve che si fissano su piccoli granelli di sedimento costituiti da gusci di ostriche macinati. Le larve metamorfosate (spat) passano quindi alla fase di allevamento post-larvale fino al raggiungimento di una lunghezza che consenta di trattenerle su una rete a magli quadrata avente un lato di 1 mm. Già a questa taglia le ostrichine possono essere collocate in mare per la fase di pre-ingrasso.

Pre-ingrasso

Il pre-ingrasso è una fase di allevamento intermedia che ha l'obiettivo di portare il seme ad una taglia minima identificata nella lunghezza di 30-40 mm, corrispondente in genere ad un peso di 3-4 g/ostrica, e può essere effettuata sia in laguna che in mare aperto.

Per lo svolgimento di questa fase si utilizzano lanterne di rete (Fig. 5) della maglia iniziale di 1 mm che vengono periodicamente sostituite con frequenza variabile in ragione della stagione e quindi dello sporcamento (*fouling*). Conformemente alla taglia raggiunta si cambia anche la maglia delle lanterne e si diradano le ostriche.

Il termine di questa fase corrisponde con la selezione della frazione di prodotto che ha raggiunto la taglia desiderata e che quindi passa alla successiva fase di ingrasso.



Ingrasso

Dal punto di vista dimensionale quella di ingrasso è la fase finale del ciclo colturale; quando le ostriche raggiungono la taglia commerciale. Questa è determinata, più che dalle dimensioni lineari, dal peso dell'ostrica che deve essere di almeno 50 g. In questo caso si utilizzano contenitori più resistenti, come ceste rigide di plastica (Fig. 6).

Al momento la fase di ingrasso viene praticata esclusivamente su impianti *long-line* in mare aperto, giacché mancano le autorizzazioni, compresa quella sanitaria, allo svolgimento in ambiente lagunare.



Figura 6

Finissaggio

Il prodotto ostrica più degli altri molluschi bivalvi deve possedere particolari requisiti qualitativi per poter essere commercializzato. Oltre ai fattori più che altro estetici, come la morfologia (indice di forma) e l'aspetto esterno ed interno della conchiglia, il valore di mercato dell'ostrica è determinato dal contenuto in carne. Questo aspetto rappresenta uno dei principali fattori limitanti allo sviluppo locale dell'ostricoltura poiché le particolari condizioni *off-shore* portano ad un insufficiente contenuto in carne per molti mesi dell'anno, soprattutto quelli invernali, rendendo l'ostrica invendibile. Da recenti prove preliminari sembra invece che questo problema possa essere risolto mantenendo le ostriche in ambiente lagunare, dove migliorano la quantità di carne anche nei mesi più freddi. Uno studio attualmente in corso servirà a stabilire tempi e modalità della fase di finissaggio nella Sacca di Goro.

Raccolta e selezione

A conclusione di ognuna delle fasi colturali sopra descritte si procede con la raccolta e quindi con la selezione del prodotto.

La **raccolta** consiste semplicemente nel recupero dei contenitori che vengono slegati dal trave e issati a bordo dell'imbarcazione. Questa operazione può essere svolta a mano o con l'ausilio di verricelli in relazione al peso complessivo del contenitore.

La **selezione delle ostriche pre-ingrassate** viene effettuata con gli stessi attrezzi impiegati per le vongole veraci: setacci manuali o vibro-vagli a tondini paralleli. Il **prodotto di taglia commerciale** invece, sia esso proveniente dall'ingrasso o dal finissaggio, deve essere selezionato manualmente poiché il polimorfismo delle ostriche non consente che questa operazione sia svolta meccanicamente.

Giacché i contenitori contengono soltanto ostriche, non vi sono specie estranee, e la selezione quindi consiste nel separare gli esemplari di diversa taglia (calibratura).

La selezione può essere svolta direttamente nel sito di allevamento ma il più delle volte per ragioni pratiche viene effettuata a terra.

Periodi di attività

Le esperienze finora svolte su base sperimentale hanno messo in evidenza che si possono effettuare due semine durante l'arco dell'anno: una autunnale (ottobre-novembre) e una primaverile (marzo-aprile).

La durata di ogni singola fase è piuttosto variabile in quanto influenzata da vari fattori (condizioni ambientali, stagionalità, qualità del seme, strategia di allevamento, etc.). Di norma le semine primaverili registrano tassi di crescita più veloci rispetto a quelle autunnali, ma con tassi di mortalità più elevati. L'ostrica concava inoltre è meno sensibile rispetto alla vongola verace nei confronti delle basse temperature e può crescere in maniera apprezzabile anche d'inverno con temperature di 4-5°C.

Il periodo di raccolta comprende tutto l'anno salvo restrizioni dovute al mercato, alla qualità del prodotto o a vincoli igienico-sanitari.

2.8 Impianto e attrezzature

Tipologie di impianti

Gli impianti di allevamento in mare aperto si trovano a circa 2,5-3 miglia a sud dello Scanno di Piallazza e sono dislocati su superfici in regime di concessione demaniale marittima rilasciata ai produttori dalla regione Emilia-Romagna. Le aree in concessione hanno una batimetria compresa tra 9 e 13 m e presentano fondali sabbiosi o misti sabbio-fangosi in funzione della posizione.

Per l'allevamento delle ostriche si usano i medesimi impianti per la coltivazione di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) costituiti dal tipico impianto *long-line* (Fig. 7).

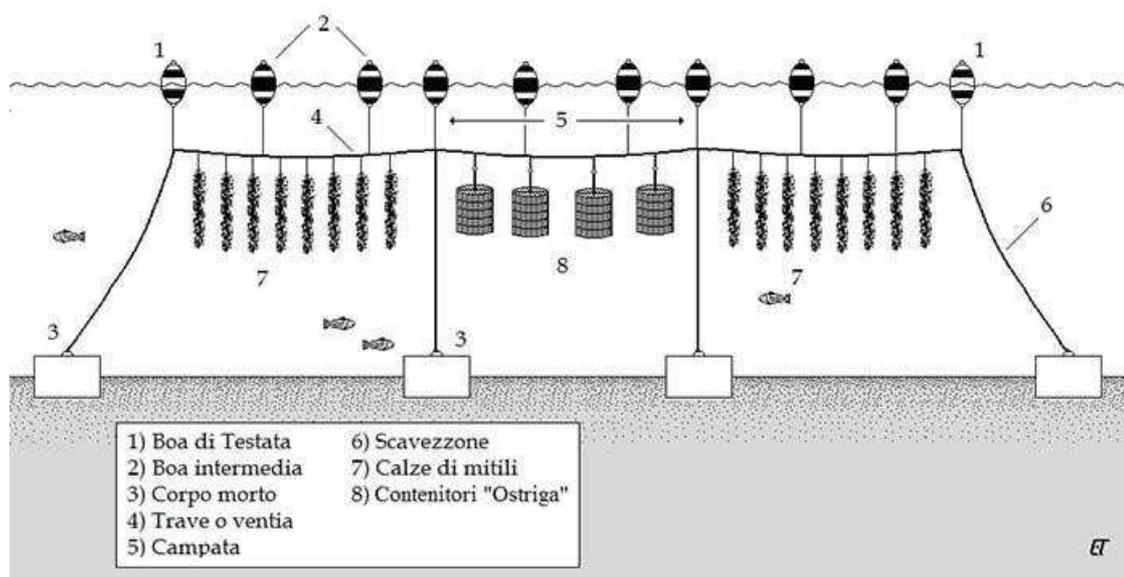


Figura 7 – Schema impianto *long-line*.

L'impianto è composto da un trave o ventia disposto parallelamente alla superficie del mare ed è sorretto da un numero di boe variabile a seconda del peso da sostenere. A mantenere la struttura nella stessa posizione provvedono gli ancoraggi. Questi sono costituiti da corpi morti, ovvero monoblocchi in calcestruzzo del peso di oltre 100 quintali. I moduli di allevamento sono sospesi al trave e si trovano ad una profondità di circa 3-4 m.

Non essendosi mai sviluppata un'ostricoltura lagunare, non esiste un impianto tradizionale per questa attività. Al momento sono state effettuate varie prove, delle quali la più recente ancora in corso nell'area sperimentale *Spiaggina* (Sacca di Goro) autorizzata per finalità scientifiche dalla regione Emilia-Romagna a beneficio di Istituto Delta Ecologia Applicata (Aut. Demaniale n. 381/2021).

In questo sito è stata allestita una struttura tipo impianto fisso (Fig. 8) molto simile, ma più semplice e leggera, rispetto a quelle utilizzate tuttora nella Sacca di Scardovari e fino agli anni Novanta anche nella Sacca di Goro per la mitilicoltura. L'impianto è modulare e consiste di una

serie di pali di castagno che mantengono un trave parallelo alla superficie del mare al quale vengono appesi i sistemi di contenimento.

Figura 8



Oltre ai bassi costi di realizzo per i materiali e l'installazione, questa tipologia d'impianto ha la caratteristica di poter essere facilmente rimossa in tempi brevi e senza il supporto di operatori specializzati. Anche la manutenzione non è onerosa grazie alla modularità strutturale che consente di sostituire solo la parte usurata (palo o corda).

Sistemi di contenimento

Attualmente sono disponibili diverse soluzioni tecnologiche per il mantenimento delle ostriche in sospensione e queste consistono in vari tipi di contenitore, tutti in materiale plastico che hanno la caratteristica di durare per più cicli di allevamento e di resistere a eventi meteorologici di normale intensità. Si tratta di lanterne in rete (Fig. 5) e ceste di plastica di varie forme e dimensioni (Fig. 6). In genere lo stesso tipo di contenitore è disponibile con diverse maglie o fenestrature in modo da poter essere adottato in funzione delle dimensioni delle ostriche.

Le ostriche utilizzate in questo progetto sono state mantenute nel sito lagunare Spiaggina all'interno di contenitori tipo Ostriga. Questo sistema di contenimento è di tipo modulare e consta di ceste (□ 60 cm) in plastica impilate una sopra l'altra (Fig. 6). Per questo studio sono stati assemblati dei contenitori a 3 ripiani (Ostriga3). Ogni singola cesta è suddivisa internamente in 4 settori uguali in modo da avere una migliore distribuzione delle ostriche su tutto lo spazio disponibile.



Bibliografia

- Albayrak S., Balkis H. and Balkis N., 2004 – Bivalvia (Mollusca) fauna of the Sea of Marmara. *Acta Adriatica*, 45 (1): 9-26.
- Ezgeta-Balić D., Radonić I., Bojanić Varezić D., Zorica B., Arapov J., Stagličić N., Jozić S., Peharda M., Briski E., Lin Y. and Šegvić-Bubić T., 2020 – Reproductive cycle of the non- native Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Adriatic Sea. *Medit. Mar. Sci.*, 21(1): 146- 156.
- Hrs-Brenko M., 1982 – *Ostrea edulis* (Linnaeus) and *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae in the plankton of Limiski Kanal in the Northern Adriatic Sea. *Acta Adriat.*, 23: 399-407.
- Krapal A.M., Ionita M., Caplan M. and Buhaciuc-Ionita E., 2019 – Wild Pacific oyster *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) populations in Romanian Black Sea waters – friend or foe? *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 62(2): 175–183.
- Matta F., 1969 – Rinvenimento di *Gryphaea* sp. nell'Alto Adriatico. *Boll. Pesca Piscicol. Idrobiol.*, 24: 91-96.
- Matta F., 1991 – Cronaca di una ricerca sulla molluschicoltura (1983-1986). Stef, Cagliari, 251 pp.
- Özcan Gökçek E., Acarli S., Kerahan B., Vural P. and Baştanlar E.K., 2020 – First molecular record of the alien species Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg 1793) in the Marmara Sea, Turkey. *Mar. Sci. Tech. Bull.*, 9(1): 23–31.
- Prioli G., Piva P. e Maffei M., 1995 – Sperimentazione di un sistema ottimale per l'allevamento di ostriche in mare aperto. Relazione Scientifica Finale, 64 pp.
- Rossi R., 2005 - Messa a punto di protocolli per l'allevamento dell'ostrica concava (*Crassostrea gigas*) in sistemi long-line in Alto Adriatico. VI Piano triennale della pesca e dell'acquacoltura. Relazione Scientifica Finale, 74 pp.
- Tamburini E., Fano E.A., Castaldelli G. and Turolla E., 2019 – Life cycle assessment of oyster farming in the Po Delta, northern Italy. *Resouces*, 8: 170-186.
- Turolla E., 2020 – Gasteropodi e bivalvi marini dei mercati europei – Volume 3 *Pectinidae* e *Ostreidae*, Tipografia Giari, Codigoro, 168 pp.
- Turolla E., 2021 – Sperimentazione di tecniche di molluschicoltura nell'area di tutela biologica Spiaggina – Rapporto Finale (2020-2021). 14 pp.
- Turolla E., Savorelli F., Palazzi D. e Gelli F., 2007 – Impiego di tecniche di induzione all'emissione dei gameti in *Crassostrea gigas* per l'esecuzione di test di embriotossicità. *Boll. Malacol.*, 43 (1-8): 73-77.
- Turolla E. e Rossi R., 2005 – Esperienze di allevamento dell'ostrica concava (*Crassostrea gigas*) in Alto Adriatico. Technical Report. Dip. Biologia – Univ. Ferrara, pp 31.



3. Caratterizzazione qualitativa di *C. gigas* nelle 3 varianti di colore

I campioni di ostriche nelle tre varianti di colore sono stati raccolti in diversi campionamenti successivi a Goro, con la collaborazione del Dott. Edoardo Turolla.

I campioni sono stati tutti trattati per essere conservati fino al momento dell'analisi. Le ostriche sono state aperte e la carne rimossa. Gli animali interi sono stati pesati prima dell'apertura, e una volta aperti, è stata pesata la carne e il guscio, in modo da valutare la quantità di acqua intervalvare.

All'apertura è stato determinato il sesso degli individui.

Il campione di carne è stato suddiviso in due aliquote, una per l'analisi genetica, conservata in tampone apposito per non compromettere il materiale genetico e l'altra per l'analisi delle caratteristiche biochimiche-chimiche.

I campioni sono stati conservati a -80°C fino al momento dell'analisi.

CAMPIONAMENTO giugno 2022

CAMPIONE	LUNGHEZZA (mm)	PESO TOTALE FRESCO (g)	SESSO	PESO CARNE (g)	PESO GUSCIO (g)
BLACK OYSTER					
1B	69.25	56	M	12.8	
2B	75.55	44.8	F	12	
3B	61.6	44.5	M	11.4	
4B	69.7	45	F	11.5	
5B	67	45.7	F	12.6	
6B	65.75	39.5	F	13.1	
7B	77.3	46.7	F	12.4	
8B	67.65	36.9	F	9.9	
9B	66.45	44.9	F	13.4	
10B	65.75	39.2	M	8.7	
media		44.32		11.78	32.54
dev std		5.27		1.48	
GOLDEN OYSTER					
1G	77.85	54.7	F	12.8	
2G	76.85	62.8	M	12.5	
3G	74.25	74.3	M	13.4	
4G	81	62.4	M	16.6	
5G	76.3	53.1	M	13.4	
6G	79.35	62.2	M	12.5	
7G	65.2	46.6	M	11.5	
8G	69.4	45.5	M	11.9	
9G	60.25	40.6	M	11	
10G	82.95	71.8	F	13	
media		57.4		12.86	44.54
dev std		11.24		1.53	
TRAD. OYSTER					
1T	73.05	41.8	M	9.6	
2T	73.85	52.3	M	8.8	
3T	76.05	45.4	F	11.7	
4T	68.85	56.7	M	13.3	
5T	75.5	50.7	F	10.1	
6T	67	41.7	M	9	
7T	70.4	44.8	F	14.3	
8T	66.8	45	M	8.6	
9T	64.4	46.7	F	13.3	
10T	70.1	43.3	F	12.9	
media		46.84		11.16	35.68
dev std		4.90		2.18	





CAMPIONAMENTO

BLACK

Settembre-Novembre-Dicembre

2022

Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
51.1	46.4	28.5	6.7	9.20	61.42	14.44	24.14
69.6	67.5	46.5	8.8	3.02	68.89	13.04	18.07
58.1	52.1	31.5	8.9	10.33	60.46	17.08	22.46
72.5	65.8	42	10.8	9.24	63.83	16.41	19.76
72.4	65.5	40.3	11.4	9.53	61.53	17.40	21.07
79.1	75.9	46.4	12.9	4.05	61.13	17.00	21.87
61.5	58.2	39.4	6.7	5.37	67.70	11.51	20.79
55.9	51.9	33	9.1	7.16	63.58	17.53	18.88
62.6	58.4	33.6	10	6.71	57.53	17.12	25.34
61.5	58	38.1	7.8	5.69	65.69	13.45	20.86
			media	7.03	63.18	15.50	21.32
			d.s.	2.50	3.48	2.19	2.24
Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
59.8	57	37.9	11.2	4.68	66.49	19.65	13.86
88	83.7	52.5	15.3	4.89	62.72	18.28	19.00
92.6	88	58.3	13	4.97	66.25	14.77	18.98
58.5	58	39.4	9.9	0.85	67.93	17.07	15.00
51.2	48	28.4	8.8	6.25	59.17	18.33	22.50
66.3	62.7	39.3	12.8	5.43	62.68	20.41	16.91
61.4	60.4	36.1	14	1.63	59.77	23.18	17.05
71.2	71.2	39.3	13.9	0.00	55.20	19.52	25.28
72	71.3	43.9	14.3	0.97	61.57	20.06	18.37
61.5	57.5	35.6	11.2	6.50	61.91	19.48	18.61
			media	3.62	62.37	19.08	18.56
			d.s.	2.47	3.84	2.21	3.35
Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
67.3	67.3	43.6	11.8	0.00	64.78	17.53	17.68
76.2	76.2	46.3	14.4	0.00	60.76	18.90	20.34
59.5	55.3	35.6	10.3	7.06	64.38	18.63	17.00
100.4	100.4	65	18	0.00	64.74	17.93	17.33
67	67	40.3	11.4	0.00	60.15	17.01	22.84
71.6	71.6	50.2	13	0.00	70.11	18.16	11.73
73	73	46.3	11.4	0.00	63.42	15.62	20.96
66.8	62.1	41	8.3	7.04	66.02	13.37	20.61
71.8	67.2	42.5	9.1	6.41	63.24	13.54	23.21
89.7	87.8	59.3	11.8	2.12	67.54	13.44	19.02
			media	2.26	64.52	16.41	19.07
			d.s.	3.23	2.96	2.24	3.37



CAMPIONAMENTO TRIPLO Settembre-Novembre-Dicembre 2022

Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
70.5	70.3	42.7	8.4	0.28	60.74	11.95	27.31
62.2	61.9	35.3	8.1	0.48	57.03	13.09	29.89
72.8	69.5	39.7	10.6	4.53	57.12	15.25	27.63
46.1	43.7	26.9	6.1	5.21	61.56	13.96	24.49
48.1	47.1	26.9	6.6	2.08	57.11	14.01	28.87
61.2	61.2	36.8	8.4	0.00	60.13	13.73	26.14
53.9	53.9	29	7.7	0.00	53.80	14.29	31.91
47	47	28.9	6	0.00	61.49	12.77	25.74
58.1	58.1	31.3	7.7	0.00	53.87	13.25	32.87
54.3	53.3	36.9	7.1	1.84	69.23	13.32	17.45
			media	1.44	59.21	13.56	27.23
			d.s.	1.97	4.54	0.91	4.35
Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
70.8	70.8	44.7	11.2	0.00	63.14	15.82	21.05
65.3	65.3	38	10	0.00	58.19	15.31	26.49
55.4	55.4	32.3	11.1	0.00	58.30	20.04	21.66
62.8	62.8	38.6	12.7	0.00	61.46	20.22	18.31
77.5	77.5	39.6	13.4	0.00	51.10	17.29	31.61
77.1	77.1	49.2	12.8	0.00	63.81	16.60	19.58
67.7	65.7	39.3	14.5	2.95	59.82	22.07	18.11
84.9	84.9	51.3	15	0.00	60.42	17.67	21.91
67.7	66.5	43.1	13.4	1.77	64.81	20.15	15.04
84.2	84.2	51.8	14.9	0.00	61.52	17.70	20.78
			media	0.47	60.26	18.29	21.46
			d.s.	1.03	3.90	2.21	4.66
Ptot	Pnetto	Pshell	Pcarne	%scarto	%shell	%carne	%acqua
88.9	88.3	55.3	15.7	0.67	62.63	17.78	19.59
95	92.9	60.8	17.3	2.21	65.45	18.62	15.93
91	89.5	51.3	19	1.65	57.32	21.23	21.45
103	102.5	61.4	16.6	0.49	59.90	16.20	23.90
54.3	54.3	33.6	6.5	0.00	61.88	11.97	26.15
65.9	65.1	38.9	12	1.21	59.75	18.43	21.81
88.6	87.4	52.1	17.8	1.35	59.61	20.37	20.02
71.6	71.6	41	10.5	0.00	57.26	14.66	28.07
62.1	61.2	33.2	8.3	1.45	54.25	13.56	32.19
84.8	81.3	49.4	12.1	4.13	60.76	14.88	24.35
			media	1.32	59.88	16.77	23.35
			d.s.	1.22	3.14	3.01	4.66

4.1 Analisi delle caratteristiche chimiche, biochimiche e nutrizionali

Le analisi di caratterizzazione chimica, biochimica e tradizionale è stata realizzata su campioni di carne di ostrica delle tre varietà, dopo liofilizzazione.

Le analisi che sono state effettuate sono le seguenti:

- Contenuto di metalli (Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Se, Na)
- Profilo quali-quantitativo degli acidi grassi
- Umidità
- Ceneri
- Proteine

I metodi di analisi impiegati sono quelli ufficiali previsti dall'AOAC International.

Di seguito sono riportati a titolo di esempio i risultati analisi sugli animali campionati a giugno 2022.

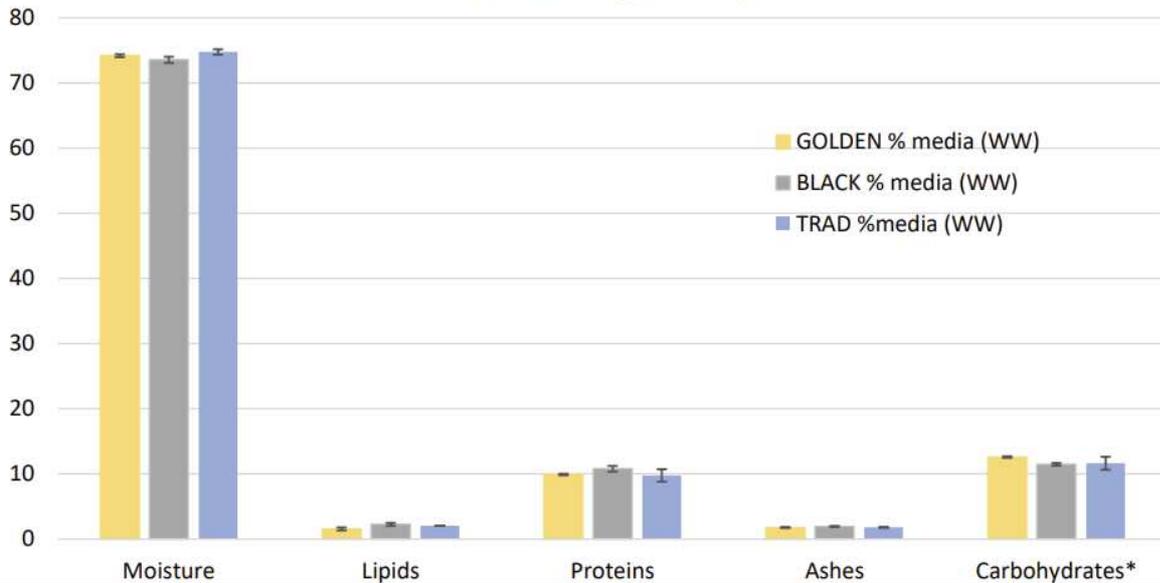
Analisi Bromatologica della componente nutrizionale

Sono riportati i risultati nutrizionali ottenuti riferiti all'alimento fresco edibile (WW: wet weight), i valori medi percentuali \pm deviazione standard (DS) sono stati ottenuti sulla base dei risultati di due repliche.

	<i>Crassostrea gigas</i>					
	GOLDEN		BLACK		TRAD	
	% (WW)	DS	% (WW)	DS	% (WW)	DS
Moisture	74,197	0,221	73,562	0,483	74,769	0,417
Lipids	1,549	0,231	2,244	0,239	2,046	0,011
Proteins	9,902	0,107	10,788	0,438	9,768	0,954
Ashes	1,767	0,004	1,943	0,010	1,781	0,032
Carbohydrates*	12,585	0,120	11,463	0,209	11,635	0,997

* I carboidrati sono stati calcolati per differenza di tutti gli altri componenti nutrizionali

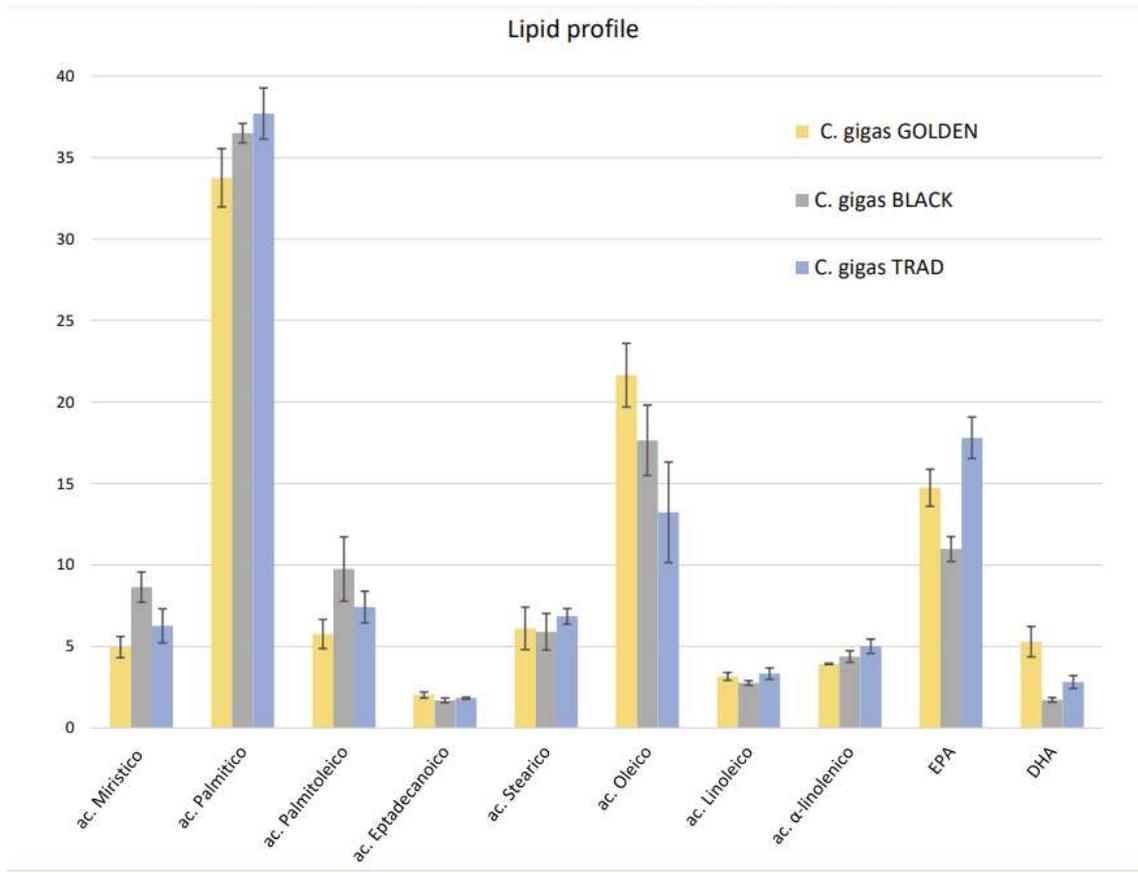
Bromatological analyses



Profilo lipidico

Sono riportati i risultati del profilo lipidico: i valori medi percentuali \pm deviazione standard (DS) sono stati ottenuti sulla base dei risultati di due repliche.

	C. gigas GOLDEN		C. gigas BLACK		C. gigas TRAD	
	% ac. Grassi	DS	% ac. Grassi	DS	% ac. Grassi	DS
ac. Miristico	4,9674	0,6495	8,6391	0,9290	6,2717	1,0418
ac. Palmitico	33,7568	1,7892	36,4945	0,5926	37,6999	1,5685
ac. Palmitoleico	5,7689	0,8956	9,7569	1,9727	7,4211	0,9776
ac. Eptadecanoico	2,0256	0,1863	1,6977	0,1424	1,8357	0,0611
ac. Stearico	6,1163	1,3026	5,9012	1,1222	6,8509	0,4753
ac. Oleico	21,6487	1,9532	17,6513	2,1595	13,2347	3,0832
ac. Linoleico	3,1640	0,2399	2,7620	0,1449	3,3394	0,3503
ac. α -linolenico	3,9409	0,0395	4,3878	0,3546	5,0226	0,4382
EPA	14,7392	1,1391	10,9829	0,7614	17,8066	1,2724
DHA	5,2949	0,9334	1,7266	0,1440	2,8200	0,3964

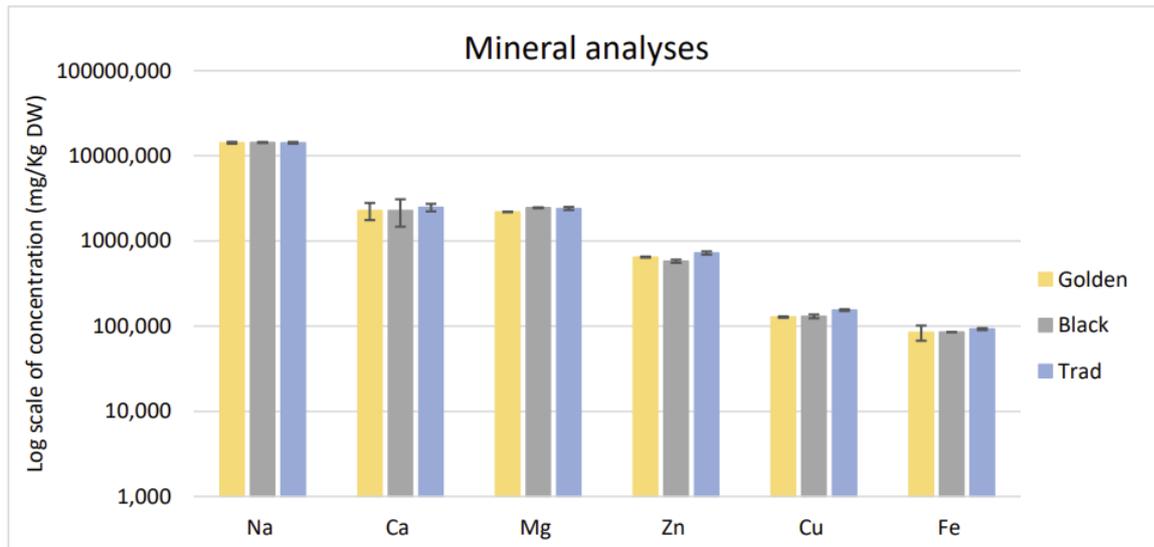


Analisi dei metalli della parte edibile secca

Sono riportati i risultati dell'analisi dei metalli ottenuti riferiti all'alimento secco edibile (DW: dry weight), i valori medi espressi in mg/Kg DW, \pm deviazione standard (DS), sono stati ottenuti sulla base dei risultati di tre repliche.

Elements	<i>Crassostrea gigas</i>					
	GOLDEN		BLACK		TRAD	
	mg/Kg (DW)	DS	mg/Kg (DW)	DS	mg/Kg (DW)	DS
Sodium	14230.333	360.356	14338.667	205.417	14223.667	335.774
Calcium	2276.667	518.588	2280	808.950	2476.667	253.246
Magnesium	2193.333	11.547	2450	30	2406.667	100.166
Zinc	646.333	9.018	578.667	24.664	722	32.078
Copper	127.667	2.517	130.333	6.658	154.333	3.785
Iron	84.533	17.195	85.067	0.586	92.267	2.554
Selenium	< 1.6*		< 1.6*		< 1.6*	

*Valori inferiori al limite di rilevabilità (LOD)

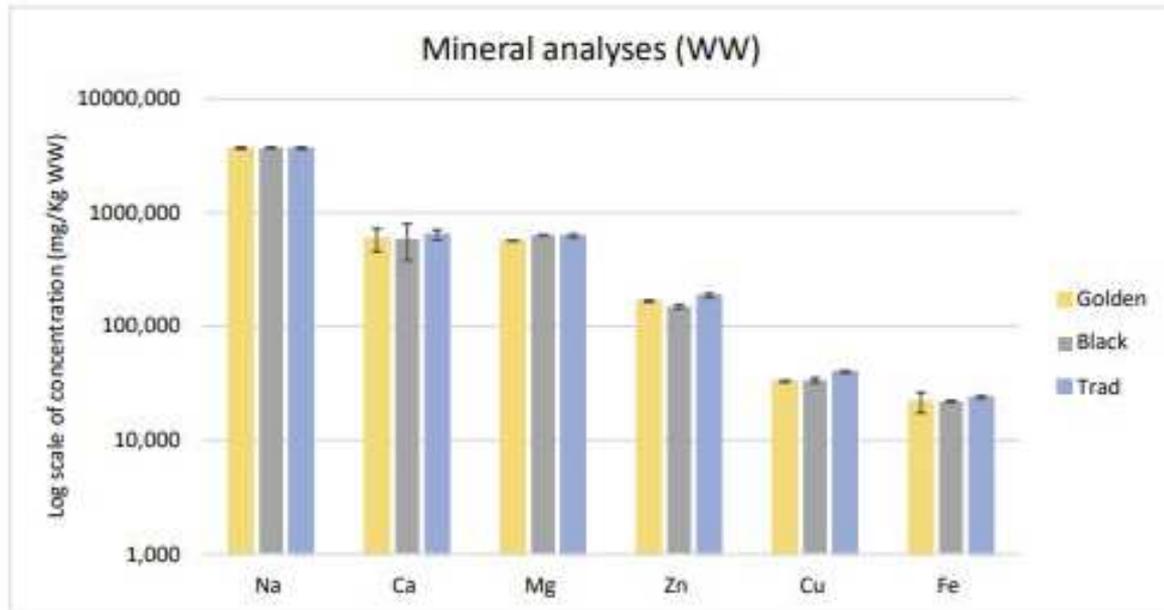


Analisi dei metalli della parte edibile fresca

Sono riportati i risultati dell'analisi dei metalli ottenuti riferiti all'alimento fresco edibile (WW: wet weight), i valori medi espressi in mg/Kg WW, \pm deviazione standard (DS), sono stati ottenuti sulla base dei risultati di tre repliche

Elements	<i>Crassostrea gigas</i>					
	GOLDEN		BLACK		TRAD	
	mg/Kg (WW)	DS	mg/Kg (WW)	DS	mg/Kg (WW)	DS
Sodium	3671.891	92.984	3699.845	53.004	3670.171	86.641
Calcium	587.454	133.813	588.315	208.736	639.061	65.346
Magnesium	565.952	2.980	632.180	7.741	620.999	25.846
Zinc	166.775	2.327	149.315	6.364	186.300	8.277
Copper	32.942	0.649	33.630	1.718	39.823	0.977
Iron	21.812	4.437	21.950	0.151	23.808	0.659
Selenium	< 0.4*		< 0.4*		< 0.4*	

*Valori inferiori al limite di rilevabilità (LOD)



Sulla base dei risultati delle analisi è stato possibile valutare il contenuto di nutrienti in base alle loro proprietà nutrizionali nelle 3 varietà e calcolare il contenuto calorico, come riportato nella seguente tabella.

	% WW			% DW		
	Golden	Black	Trad	Golden	Black	Trad
Moisture	74.197	73.562	74.769			
Lipids	1.549	2.244	2.046	6.003	8.488	8.109
Proteins	9.902	10.788	9.768	38.375	40.805	38.714
Ash	1.767	1.943	1.781	6.848	7.349	7.059
Carbohydrates	12.585	11.463	11.635	48.773	43.358	46.114
Contenuto calorico	103.889	109.200	104.026			
acido miristico	4.96	8.63	6.27			
acido palmitico	33.75	36.49	37.7			
acido eptadecanoico	2.02	1.7	1.83			
acido stearico	6.11	5.9	6.85			
acido palmitoleico	5.76	9.75	7.42			
acido oleico	21.64	17.65	13.23			
acido linoleico	3.16	2.76	3.33			
acido α -linoleico	3.9	4.38	5.02			
EPA	14.73	10.98	17.8			
DHA	5.29	1.72	2.82			
SFA	46.84	52.72	52.65			
MUFA	27.4	27.4	20.65			
PUFA	27.08	19.84	28.97			
Ratio PUFA w3/w6	6.3	4.6	6.2			
EGA	27.08	19.84	28.97			

4.2 Analisi dei geni coinvolti nella formazione del guscio e la ricerca delle basi genetiche correlate ai tratti nutrizionali e di crescita nelle 3 varianti di colore.

A) Analisi della letteratura internazionale:

Per indagare le caratteristiche genetiche alla base delle tre varianti di colore di *C. gigas* allevate nella Sacca di Goro, si è partiti da un accurato studio dalla letteratura internazionale che ha permesso di ottenere le informazioni più aggiornate di quanto noto sul genoma di *C. gigas*: tale genoma è stato ricostruito a livello cromosomico ed è costituito da 647 Megabasi; si compone in 10 paia di cromosomi (Figura 1) e contiene 35.422 geni, di cui 30.724 codificanti proteine [1-3].

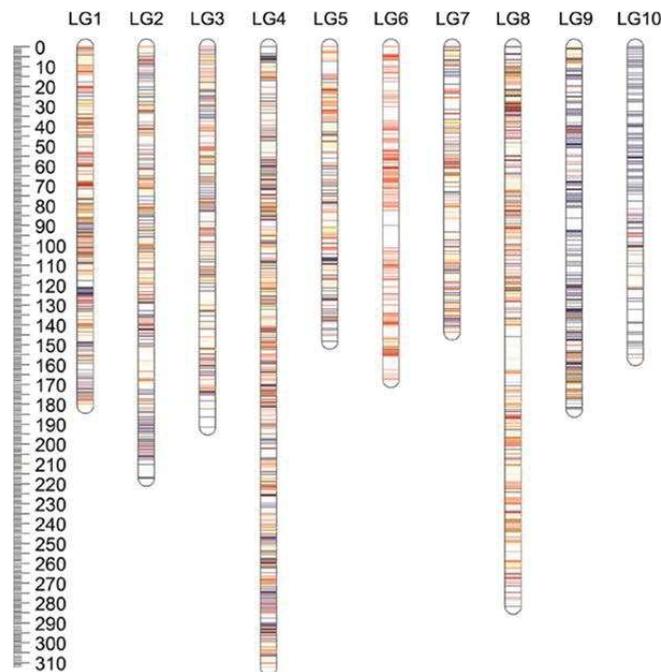


Figura 1- I 10 cromosomi di *C. gigas*: sono mappati i loci dei tratti quantitativi. Con le differenti colorazioni blu, rosso e giallo sono indicati rispettivamente i marcatori eterozigoti paterni, materni, e quelli presenti rispettivamente in entrambi i genitori (Li et al,2018).

Il genoma presenta un'elevata eterozigotità: il 36% è costituito da sequenze ripetitive, il 21,28% del totale sono trasposoni; sono inoltre presenti molte sequenze intraspecifiche che rendono difficoltoso lo studio del genoma di questo tipo di ostriche.

Sempre dallo studio della bibliografia internazionale, principalmente incentrata sull'analisi di ceppi asiatici di *C. gigas*, sono anche stati identificati alcuni geni interessanti perché potenzialmente coinvolti nel controllo della crescita o del profilo biochimico di *C. gigas* quali:

- geni coinvolti nella crescita: in particolare BMP1, una metalloproteasi dell'astacina che può regolare la formazione della matrice extracellulare e il pattern dorso-ventrale nell'embrione, e la famiglia di geni AMY, caratterizzata da due geni che codificano per due amilasi [4-7];
- geni coinvolti nel metabolismo degli aminoacidi (AAs): P5CS, gene che codifica per un enzima che catalizza la riduzione del glucosio in delta-1-pyrroline-5-carboxilate (P5C), step cruciale nella biosintesi de novo di prolina, ornitina e arginina [8];
- geni coinvolti nel metabolismo acidi grassi (FAs): la famiglia di geni ADAMTS, geni che codificano per enzimi secreti che ricostruiscono la matrice extracellulare e svolgono un ruolo importante nelle interazioni cellula-cellula come segnalazione cellulare e fusione [9], e DYRK2 coinvolto nella riduzione dell'attività delle molecole adipogeniche [3];
- geni coinvolti nel metabolismo del glicogeno: i geni del trasportatore della taurina (TAUT) [8] e il gene per la glicogeno-fosforilasi (GP). Entrambi questi geni sono stati associati al contenuto di glicogeno nell'ostrica, in particolare la GP che codifica per un enzima omodimerico o tetramerico che rimuove i residui di glucosio dai legami alfa (1-4) all'interno delle molecole di glicogeno per produrre glucosio-1-fosfato [10].

Originaria del Nord dell'Asia, questa specie ha colonizzato tutto il mondo e riveste un ruolo importante nell'equilibrio ambientale dei delta dei fiumi e lungo le coste. L'esame del loro DNA ha rivelato che sono numerosi i geni che conferiscono alle ostriche una straordinaria capacità di adattarsi a forti stress ambientali, come le variazioni di temperatura e salinità delle acque o l'esposizione ai metalli pesanti. Una delle prime analisi sull'intero genoma di *C. gigas* è stata pubblicata nel 2012 [11] ed ha evidenziato l'esistenza di sofisticati adattamenti genomici e trascrittomici dell'ostrica alle variazioni ambientali.

E' pertanto ragionevole pensare che dopo l'introduzione di questa specie nell'Atlantico nord-orientale e successivamente anche nel Mediterraneo il genoma delle ostriche sia andato incontro ad un processo di adattamento funzionale e strutturale al nuovo ambiente. La speciazione certa delle ostriche basata sulla sola morfologia delle conchiglie, comunemente usata come caratteristica distintiva primaria, è reso difficoltoso dalla grande variabilità di questo carattere fortemente influenzato dall'habitat [12]. A tale incertezza si aggiunge la problematica della possibile esistenza di "specie criptiche" cioè gruppi di specie che hanno caratteristiche morfologiche indistinguibili ma che presentano una chiara separazione al livello genetico.

Negli ultimi anni, con il progredire delle tecnologie di nuova generazione applicate agli studi genomici, risulta sempre più efficiente ed approfondita l'analisi e la ricerca di marcatori molecolari da utilizzare per trovare risposta non solo alle esigenze di identificazione e classificazione tassonomica delle ostriche, ma anche per ottenere preziose informazioni sulla biologia e sui processi di adattamento di tali molluschi che potrebbero guidare, per via molecolare, il *breeding* al fine di potenziare tratti nutrizionali di importanza economica.

Gli studi attualmente disponibili in letteratura sono principalmente compiuti su ceppi asiatici di *C. gigas*, risulta pertanto di rilevante interesse procedere alla caratterizzazione, anche su base genomica, delle varianti di ostriche prodotte nella Sacca di Goro. Oltre a verificare l'esistenza di geni target da utilizzare come chiavi di identificazione di diverse varietà, comparando i profili genetici delle tre varianti di colore con i valori fenotipici degli stessi individui, si potrebbe arrivare ad associare ad uno specifico profilo genetico un particolare profilo nutrizionale, nelle ostriche prodotte a Goro.

B) Messa a punto dei protocolli di analisi molecolare:

Una volta ricevuti i 30 campioni di molluschi (10 per ogni variante di colore del guscio: tradizionale, golden e black) si è provveduto a mettere a punto le tecniche di laboratorio per poi procedere all'analisi molecolare del genoma, in particolare:

1. Protocolli di estrazione del DNA genomico: per l'estrazione del DNA dai campioni di ostriche è stato messo a punto il protocollo di estrazione/purificazione basato sull'utilizzo del kit Quick-DNATM Tissue Miniprep della ZYMO RESEARCH CORP. È un metodo che, pur non prevedendo solventi pericolosi, come il fenolo o il cloroformio, tuttavia è estremamente efficace.

Una porzione di muscolo di ciascuna ostrica è stata pesata in bilancia analitica in una provetta sterile. La quantità del campione compresa tra 1 e 50 mg è quella ottimale per avere una maggiore resa in termini di quantità e purezza del DNA da sottoporre estrazione col Kit. Per i passaggi seguenti, quando necessario, si è lavorato sotto cappa chimica.

1. Preparazione del Genomic Lysis Buffer: per una diluizione finale di 0.5% (V/V) generalmente si aggiungono 500µL di beta-mercaptoetanol al Buffer di Lisi Genomico (100ml). Utilizzando l'opportuna equazione, tale tampone è stato preparato con 15ml di Buffer di Lisi e 75 µL di beta-mercaptoetanol.
2. I campioni sono stati trasferiti all'interno di provette contenenti biglie e aggiunti a ciascuno 750 µl di BashingBed Buffer, come indicato nella Figura 2(a).

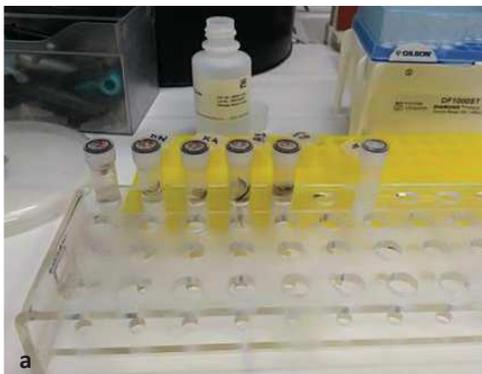


Figura 2(a) Campioni nelle provette con le biglie e (b) Disruptor Genie, strumento per la rottura dei campioni difficili

3. Ogni provetta è stata collocata nel Disruptor Genie (Scientific Industries) alla velocità massima per 10 min. come indicato in Figura 2(b). Questo strumento permette la completa rottura del frammento da analizzare.
4. È stata eseguita una prima centrifugazione in microcentrifuga a 12.000 rpm;

5. Sono state prese delle collection tube (senza coperchio), e sono stati aggiunti i filtri; tanti quanti i campioni da estrarre. Si è proceduto siglando sia le collection tube sia i coperchi
6. Sono stati trasferiti 400 μ L di surnatante sul filtro, opportunamente siglato e sottoposto il campione ad una seconda centrifugazione;
7. È stato aggiunto a ciascuna collection tube 1200 μ L di Genomics Lysis Buffer, siglati per essere sicuri dell'esatta identità di ciascun campione.
8. 800 dei 1200 μ L del BashingBead sono stati posti su in nuovo filtro, cui segue una ulteriore centrifugazione;
9. Infine sono state buttate via le collection tube e si è cominciato con i cicli di lavaggio/centrifugazione dei filtri contenenti il DNA.
10. Al termine dei cicli di lavaggio/centrifugazione ciascun filtro contenente il DNA genomico pulito è stato trasferito in una provetta sterile da 1.5 ml.
11. Per l'eluizione del DNA, sono stati aggiunti 50 μ L di acqua sterile sul filtro su ogni campione (Figura 3).

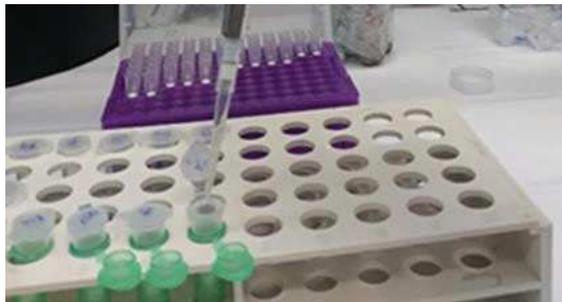


Figura 3. A ciascun campione, raccolti tutti in una rastrelliera, è stata aggiunta circa 50 μ L di acqua sterile su ciascun filtro.

12. La totalità delle provette sono state incubate a temperatura ambiente per 1 min ed eseguita una centrifugazione a 10 000 rpm.
13. Al termine del procedimento, nelle provette da 1,5 ml è contenuto il DNA genomico in soluzione.

2. Quantificazione del dsDNA estratto

Metodo Qubit: Per una corretta quantificazione del DNA estratto precedentemente, la molecola di dsDNA deve essere "eccitata" attraverso l'assorbimento di luce di lunghezza d'onda minore rispetto a quella emessa. Perciò viene utilizzata una molecola, definita fluoroforo che legandosi alla molecola da analizzare, determina l'eccitazione grazie ad una lunghezza d'onda e permette di stimare la fluorescenza emessa dal fluoroforo.

Lo strumento utilizzato è il Fluorimetro Qubit® (Invitrogen.com) (Figura 4) e il kit è il Quant- iT™ dsDNA HS (High Sensitivity) Assay Kit (Invitrogen.com).



Figura 4 - Strumento Qubit 2.0

Il Fluorimetro Qubit® contiene una cella per il campione da analizzare, una sorgente di eccitazione e un rilevatore in grado di misurare lunghezze d'onda tra 300-1000 nm. È un metodo che utilizza la fluorescenza emessa da certi coloranti quando interagiscono con gli acidi nucleici della doppia elica. Aggiungendo al campione un quantitativo noto di colorante è possibile risalire alla quantità di DNA; difatti si vuole mirare ad un'analisi quantitativa dei campioni biologici tenendo in considerazione che l'intensità di emissione è direttamente proporzionale alla quantità di fluorocromo presente nel campione. Il kit Quant-iT™ dsDNA HS Assay fornisce una grande selettività per i campioni a doppia elica in analisi, permettendo una quantificazione facile ed accurata. Il segnale di fluorescenza è lineare con il DNA, quest'ultimo deve essere mantenuto a temperatura ambiente, in questo modo il segnale rimane stabile per circa 3 ore.

Per questo saggio è necessario scegliere due provette per gli standard e una per ogni campione; dopo di che si prepara la Working Solution (WS) diluendo il reagente fluorescente PicoGreen nel buffer di reazione, seguendo la proporzione 1:200.

Il PicoGreen è ideale per i saggi basati su PCR, campioni di microarray, saggi di danno al DNA, saggi di attività enzimatica, quantificazione del DNA genomico e misurazione del DNA in miscele complesse. Tra le caratteristiche principali del PicoGreen è bene menzionare:

- Significativamente più sensibile delle letture con raggi UV e permette di risparmiare preziose quantità di campione
- Specifico per il dsDNA
- Facilità di utilizzo
- Compatibile con la maggior parte di lettori di micropiastre o fluorimetri a fluorescenza
- Il picco di assorbimento del Picogreen è di 502/523 nm

Un'ora prima, tutti i reagenti e il DNA sono stati portati a temperatura ambiente; sono stati utilizzati i campioni inizialmente diluiti 1:2 più due standard; sono stati aggiunti 190 μL di WS per ciascuno e 10 μL di DNA. Essendo 200 μL il volume di ciascuna provetta, con l'opportuna equazione è stato calcolato il volume del fluorocromo necessario: in questo caso 8 μL .

Successivamente, le provette vengono vortexate per 2/3 secondi, centrifugate per qualche minuto e lasciate riposare a temperatura ambiente e al buio. Dopo di ciò si può procedere con la lettura fotometrica del campione e con il calcolo dell'effettiva quantità di dsDNA estratto.

Dalla lettura al fluorimetro 26 dei campioni 30 campioni presentavano una buona concentrazione di DNA.

Analisi della concentrazione del DNA con il Nanodrop: Il Nanodrop (BioSpec-nano; Shimadzu) è uno spettrofotometro UV-Visibile, che utilizza specifici parametri analitici per convalidare il metodo di misurazione. Tra questi ci sono la linearità, il limite di rilevamento e quantificazione, la precisione in condizioni di ripetibilità e riproducibilità, la veridicità attraverso il bias e la percentuale di recupero e la stabilità, tra gli altri.

Il meccanismo d'azione del Nanodrop segue quella che è la Legge di Lambert-Beer, la quale mette in relazione la luce assorbita da una sostanza e la relativa concentrazione, con la sua natura chimica e con lo spessore del mezzo che viene attraversato. Si tratta di una luce mono/policromatica che colpisce la soluzione del campione in analisi, contenente una certa quantità di sostanza chimica. Quest'ultima perde parte della sua energia che è direttamente proporzionale alla concentrazione della sostanza nella soluzione e alla dimensione dello spessore di soluzione che deve attraversare, il tutto viene corretto da una costante detta coefficiente di estinzione molare ($A = \epsilon \cdot c \cdot l$).

Lo spettrofotometro permette di rilevare l'intero spettro tra 220 e 750nm. I campioni vengono analizzati in microvolumi (da 1 a 2 μL) e la lunghezza d'onda viene letta sfruttando la tensione superficiale dei liquidi. In soluzione acquosa, il DNA ha un'assorbanza massima vicino a 260 nm con un coefficiente di estinzione di 50; la proteina assorbe fortemente la luce vicino a 280 nm. Il rapporto di assorbanza A_{260}/A_{280} fornisce una stima della purezza del dsDNA; valori di 1,7–2,0 predicono il "DNA pulito". Tuttavia, ssDNA, RNA, primer PCR e dNTP o composti organici aromatici, come il fenolo interferiscono assorbendo la luce in questo intervallo (Ahn et al., 1996)

Nel caso in cui si volesse valutare la purezza dell'acido nucleico studiato, si possono calcolare due indici di assorbanza: 1) Indice di contaminazione proteica: dato dal rapporto tra A_{260}/A_{280} . Il range per gli acidi nucleici può variare da 1.6 a 1.8; 2) Indice di contaminazione da carboidrati: dato dal rapporto tra A_{260}/A_{230} . Il valore ottimale sarebbe 2.2, al di sotto di questo si identifica una contaminazione da solventi.

Anche da questa lettura solo 26 campioni su 30 hanno dimostrato buoni livelli di purezza.

In conclusione, al termine delle procedure di estrazione/purificazione/amplificazione del DNA genomico si è potuto disporre di un amplificato di buona qualità per 26 dei 30 individui di *C. gigas* disponibili, in particolare si sono ottenute le sequenze genomiche per:

- ✓ 8 individui guscio black;



- ✓ 9 individui guscio golden;
- ✓ 9 individui guscio tradizionale.

3) Caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella formazione del guscio, crescita e nel controllo di alcuni tratti nutrizionali (glicogeno, aminoacidi e acidi grassi) nelle 3 varianti di colore.

Una volta messi a punto i protocolli di estrazione/purificazione/amplificazione del DNA genomico, i 26 campioni sono stati sottoposti anche al sequenziamento di nuova generazione al fine di procedere con una caratterizzazione fine delle regioni del DNA specifiche sia per l'analisi a livello di popolazione delle 3 sottovarianti di colorazione che dei geni candidati per la crescita o per il controllo di tratti del profilo biochimico.

A tal scopo, si è dapprima proceduto con la pulizia preliminare delle sequenze mediante la rimozione di tutte quelle regioni genomiche che potrebbero inficiare le analisi successive (adattatori, duplicati effettivi e duplicati da PCR) e successivamente i campioni sono stati allineati al genoma di riferimento presente nel database NCBI RefSeq (GCF_902806645.1) mediante il software BWA (Burrow-Wheelers Aligner).

Successivamente, attraverso il pacchetto di analisi "Genome Analysis Toolkit" (GATK) sono state evidenziate le differenze tra genoma di riferimento ed i campioni disponibili, individuando tutte le mutazioni genomiche presenti in ogni singolo individuo per evidenziare in modo efficiente le varianti specifiche del morfotipo di *C. gigas* prodotto nella Sacca di Goro rispetto al genoma di riferimento presente in banca dati.

3.1 Analisi a livello di popolazione delle 3 sottovarianti di colorazione.

La classificazione delle ostriche basata sull'analisi morfologica è spesso basata sull'analisi morfologica delle conchiglie, ma tale morfologia è spesso estremamente variabile anche all'interno della stessa specie a seconda delle condizioni ambientali.

Al fine di poter condurre un'analisi filogenetica più oggettiva si sono rivelate fondamentali le metodologie basate sull'utilizzo di DNA-barcoding col gene COI, RAD e analisi del 16S rRNA.

Il gene del rRNA 16S è molto utilizzato in questa tipologia di studi per la sua caratteristica vantaggiosa di essere costituito da regioni sia variabili, che consentono la discriminazione tra sottogruppi entro la stessa specie, che altamente conservate, le quali permettono grazie alla loro lenta evoluzione, di attuare una ricostruzione della filogenesi. Il gene 16S rRNA è, infatti, un componente ben conservato del meccanismo trascrizionale di tutte le forme di vita ed è un ottimo gene bersaglio per il sequenziamento del DNA in campioni contenenti fino a migliaia di specie diverse.

Il gene 16S rRNA è spesso utilizzato insieme alla metodica del DNA-barcoding col gene COI, un sistema bioidentificativo basato sul gene mitocondriale COI (citocromo ossidasi subunità I). Il DNA mitocondriale (mtDNA) rispetto a quello nucleare è più esposto a mutazioni e non possiede meccanismi autoriparativi, ma essendo meno esteso, possiede un elevato indice di conservazione. La combinazione tra instabilità e alta conservazione del mtDNA conduce a un tasso di mutazione



del mtDNA di circa dieci volte maggiore di quello riscontrabile in sequenze equivalenti del genoma nucleare.

Il differente tasso di mutazione delle varie regioni permette di usare il mtDNA per l'analisi della diversità sia a livello intra che inter-specifico, infatti le differenze che si osservano tra mtDNA di specie diverse, non sono altro che mutazioni accumulate dal momento della divergenza delle due specie (evoluzione). Il numero di queste mutazioni che si accumulano nel tempo è direttamente proporzionale al tempo stesso trascorso dalla divergenza delle sequenze in analisi. Studi precedenti hanno dimostrato che la regione COI mtDNA, usata per il dna-barcode, riesce a identificare il 98% delle specie sia marine che terrestri, già classificate. Nel restante 2% ricadono i casi di specie strettamente imparentate, che si ibridano regolarmente tra loro o in cui la divergenza è molto recente. Il gene COI perciò, è un marcatore molecolare ragionevolmente affidabile nell'identificazione molecolare delle specie [13].

Si può affermare che ad oggi sono stati sviluppati molti metodi validi ed economici per l'analisi filogenetica dei molluschi. Come sopra citato, in letteratura il più usato è DNA barcoding con gene COI spesso in associazione a 16S rRNA, che da solo viene solitamente usato per analisi filogenetiche batteriche. Tuttavia, a causa della scarsità di informazioni genetiche possedute su questi molluschi, l'identità di alcune sottospecie di ostriche rimane ancora incerta e persiste un clima di disaccordo scientifico sulla classificazione anche delle ostriche più comuni [14].

Pertanto nella presente ricerca, per definire se esiste un livello riscontrabile di divergenza tra le tre varianti di colore di *C. gigas* provenienti dalla Sacca di Goro, si è deciso di utilizzare l'intera variabilità genetica rilevata nei campioni di *C. gigas* disponibili.

Come prima indagine si è effettuata l'analisi delle componenti principali (PCA) basata sulla variabilità genetica osservata nei 26 campioni disponibili. Poiché da studi condotti su ceppi asiatici di *C. gigas* si evince che le diverse colorazioni della conchiglia sono il risultato di diverse concentrazioni di amminoacidi, lipidi e glicogeni [15, 16], negli ultimi mesi del progetto ci si è concentrati sull'analisi delle varianti presenti nel cromosoma 8, dove è localizzato il gene DYRK2 che è un gene candidato coinvolto nel metabolismo degli acidi grassi.

Dall'analisi dei dati osservati per il cromosoma 8, e relativi ai primi 15 campioni (5 per ogni variante di colore), sembra emergere una tendenza delle tre varianti di colore a clusterizzare assieme (Figura 5), lasciando pensare ad una possibile esistenza di una strutturazione genetica per le 3 varianti di guscio.

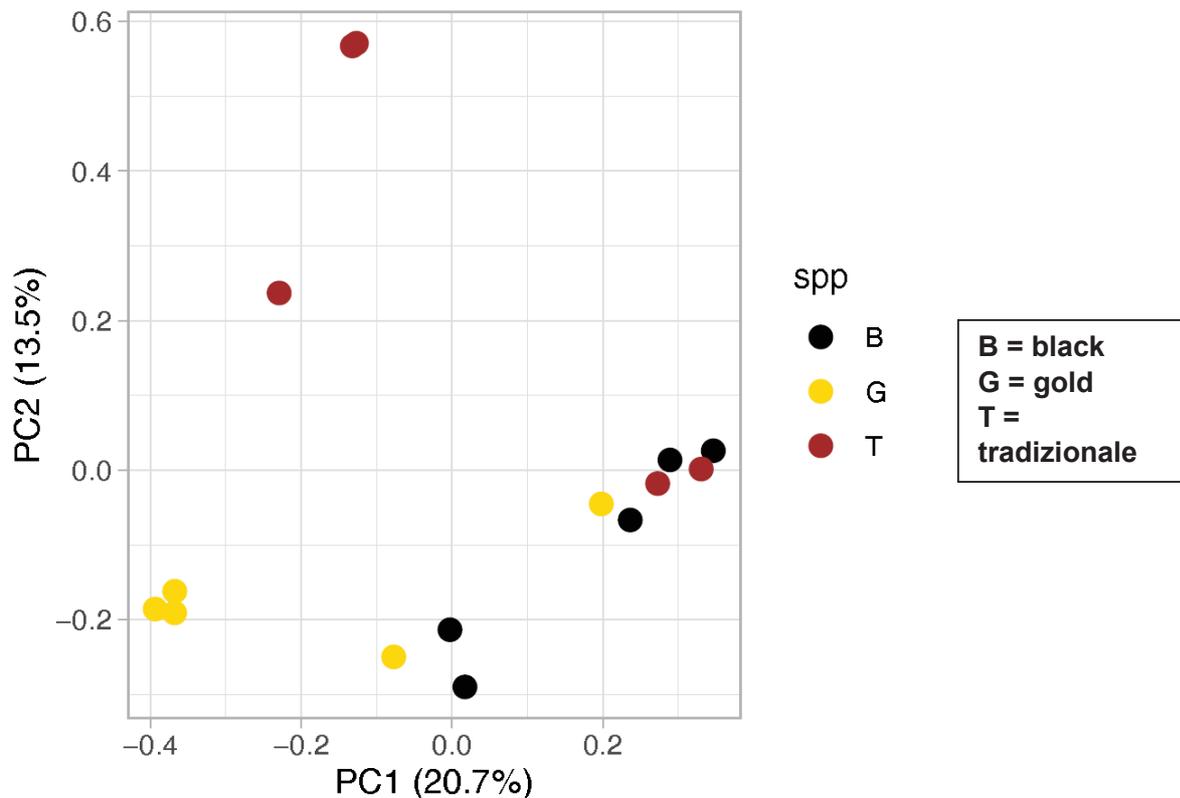


Figura 5

Tuttavia, per definire se esiste un reale livello di divergenza tra le tre varianti di colore di *C. gigas* allevate nella Sacca di Goro tra loro e/o rispetto ai genomi appartenenti ad altre popolazioni (asiatiche, francesi, ecc.) presenti in banca dati, si intende procedere alla costruzione di alberi filogenetici, all'analisi della struttura di popolazione, all'analisi delle componenti principali semplice e multivariata (PCA e DAPC) dei dati relativi all'intero genoma e per l'intero campione disponibile.

3.2 Caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella regolazione dei tratti nutrizionali legati al metabolismo degli acidi grassi nelle 3 varianti di colore

L'analisi del linkage è uno strumento importante per la mappatura di loci quantitativi (QTL) cioè per la ricerca di quelle regioni cromosomiche dove possono essere localizzati geni candidati per la crescita e i tratti nutrizionali di *C. gigas*. Per l'ostrica, ad oggi, un totale di 20 articoli hanno riportato studi riguardanti la costruzione di mappe genetiche o la mappatura di QTL [18-38] e sono state indicate alcune regioni genetiche coinvolte nella crescita [31, 36], nel metabolismo del glicogeno [34, 37], nella resistenza alle malattie [24, 29] e nella colorazione della conchiglia [34, 38]. Tuttavia, nessun QTL per il controllo degli aminoacidi (AAs) e acidi grassi (FAs) erano stati rilevati in quegli studi e comunque le mappe riportate erano fondate su informazioni ancora molto parziali della struttura dell'intero genoma dell'ostrica e, generalmente, utilizzavano un numero ristretto di marcatori. Recentemente due importanti studi hanno presentato una mappa genetica ad alta densità di *C. gigas* [2,17] evidenziando:

- Li et al. 2018: complessivamente nel genoma sono stati rilevati 41 QTLs per 17 tratti di crescita e nutrizionali, che comprendono SH (altezza guscio), SL (lunghezza guscio), SW (larghezza guscio), BW (peso corporeo), STW (peso tessuti molli), glicogeno, 18 QTLs per AAs e 22 QTLs per i FAs.
- Song et al. 2018: hanno mappato, in circa 200 ostriche derivate da due famiglie create in laboratorio, 17 QTLs associati al colore golden della conchiglia, ai contenuti di Mg e Zn e ai tratti di crescita, oltre ad altri 14 QTLs che potrebbero avere un'applicazione potenziale per la "selezione guidata" nell'allevamento di *C. gigas*. In particolare, due QTL che influenzano il tratto del colore dorato della conchiglia sono stati identificati nell'LG8 e nell'LG10, che potrebbero spiegare rispettivamente il 20,2 e il 10,5% delle variazioni fenotipiche; 8 QTLs per il contenuto di Zn e Mg in quattro LGs (LG1, LG2, LG5 e LG9) che potrebbero spiegare fino al 20-30% delle variazioni fenotipiche; sette QTLs correlati alla tratti di crescita delle ostriche, sono stati riconosciuti in entrambe le famiglie FAM-A e FAM-B, e spiegano il 14,6-36,7% delle variazioni fenotipiche.

Per quello che riguarda la caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella regolazione dei tratti nutrizionali legati al metabolismo degli acidi grassi nelle 3 varianti di colore siamo partiti dal lavoro di Li e colleghi. Questi ricercatori hanno affiancato alla ricerca dei geni candidati anche una analisi dei livelli di espressione di mRNA tra campioni con differenti valori fenotipici, analisi che li ha portati ad identificare, tra tutti i QTLs identificati per i tratti metabolici, 6 QTLs che esibivano un'espressione differenziale significativa ($P < 0.05$): questi sei geni sono AMY e BMP1 (correlati alla crescita), P5CS e GP (correlati al metabolismo degli AAs) e DYRK2 e ADAMTS (regolativi del metabolismo dei FAs) che potrebbero rivelarsi obiettivi chiave per il molecular breeding di importanti tratti economici.

I geni ADAMTS codificano per enzimi secreti, le metzincine, che ricostruiscono la matrice extracellulare (ECM); svolgono ruoli nelle interazioni cellula-cellula come la segnalazione cellulare e la fusione. Le metzincine sono una superfamiglia di metallo-proteinasi zinco-dipendenti che includono le metallo proteinasi della matrice (MMP), A Disintegrin and Metalloproteinase Domain (ADAMs) e le famiglie enzimatiche A Disintegrin-like Metalloproteinase Domain with Thrombospondin-1 motifs (ADAMTS).

Data la complessità della famiglia dei geni ADAMTS, esistono 19 geni designati a partire da ADAMTS1 fino a ADAMTS20, abbiamo in prima battuta deciso di concentrarci sullo studio del gene DYRK2 (dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 2) localizzato sul cromosoma 8 di *C. gigas*, e che si è visto, nell'uomo, svolgere un ruolo nella prevenzione di disturbi come l'obesità riducendo la massa grassa ed associato al metabolismo dei FAs in ostrica.

Dall'analisi delle varianti osservate per la regione del cromosoma 8 che contiene il gene DYRK2 (LOC105319402= 44013372-7418) (Figura 6), e quindi una regione cromosomica maggiormente sottoposta a vincoli funzionali, i campioni appartenenti alle diverse colorazioni mantengono la tendenza ad aggregare che sembra più accentuata per la variante golden che vede raggruppati assieme 4 campioni su 5. Questo lascerebbe pensare ad una maggiore differenziazione funzionale della variante golden.

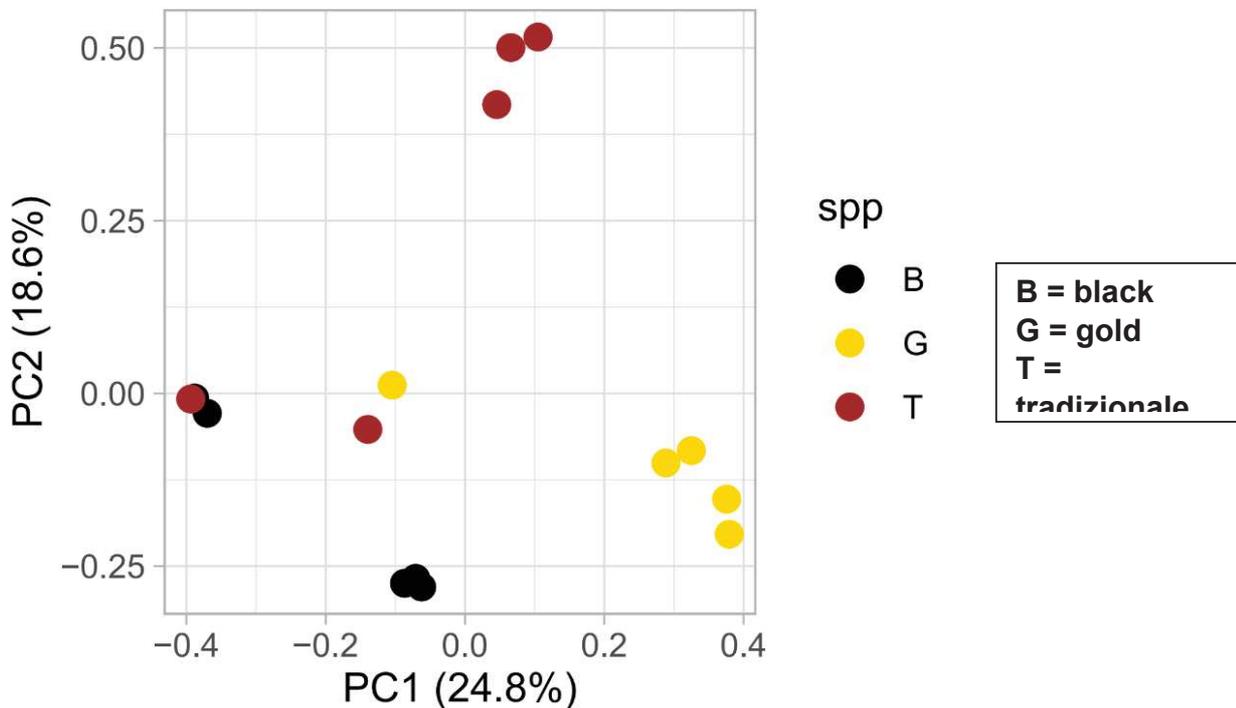


Figura 6

Tale analisi sembra molto promettente e sarebbe di grande interesse, per definire se esiste un reale livello di divergenza per questo tratto fenotipico tra le tre varianti di colore, allargare l'analisi alle altre regioni genomiche contenenti QTLs associati al metabolismo dei FAs oltre che confrontare i dati genomici di *C. gigas* allevata nella Sacca di Goro con i dati genomici delle ostriche provenienti da altre popolazioni.

3.3 Caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella formazione e nella colorazione del guscio.

Per quello che riguarda la caratterizzazione dei geni candidati coinvolti nella formazione/colorazione del guscio dell'ostrica ci siamo basati sul lavoro di Song et al. 2018. Questi ricercatori hanno individuato due regioni di particolare interesse per il controllo della colorazione dorata della conchiglia posizionate nell'LG8 e nell'LG10 (Figura 7), che potrebbero spiegare rispettivamente il 20,2 e il 10,5% delle variazioni fenotipiche della colorazione nelle famiglie da loro analizzate.

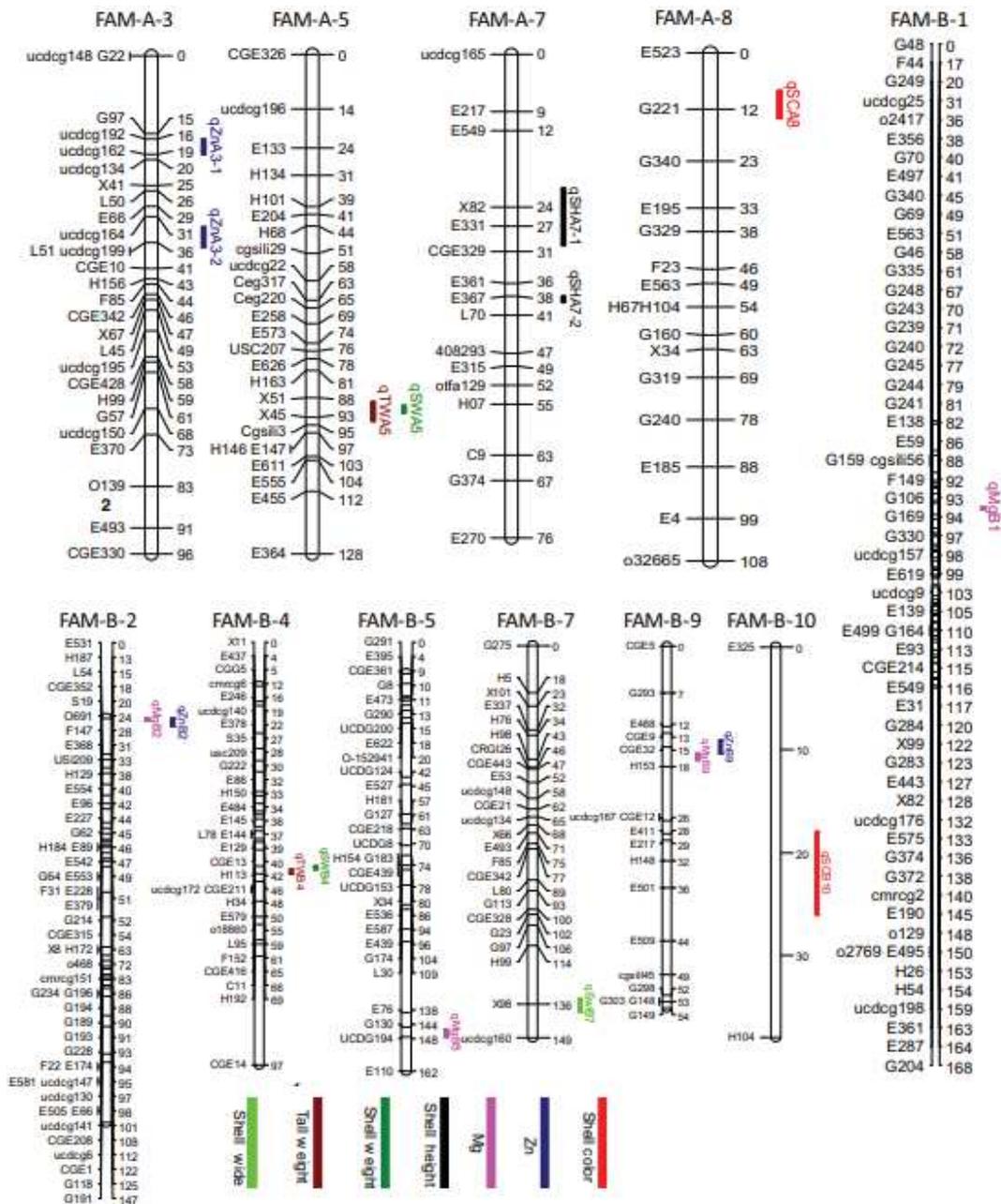


Figura 7

Poiché, come già citato, da studi condotti su ceppi asiatici di *C. gigas* si evince che le diverse colorazioni della conchiglia potrebbero essere correlate con diverse concentrazioni di amminoacidi, lipidi e glicogeni [15, 16], abbiamo deciso di continuare l'analisi delle varianti presenti nel cromosoma 8. Come sopra descritto, nella regione 44013372-17418 del cromosoma 8 di *C. gigas* è localizzato

il gene DYRK2, coinvolto nel metabolismo degli acidi grassi, mentre i QTLs coinvolti nella regolazione della colorazione del guscio sono posizionati nella regione 26644625-82013 del cromosoma 8, oltre 20 megabasi a monte rispetto al gene DYRK2 e quindi una regione cromosomica che si assume possa fornire informazioni indipendenti rispetto al quadro di struttura genomica ottenuto dall'analisi della regione cromosomica dove risiede il gene DYRK2.

Dall'analisi dei dati osservati per la regione del cromosoma 8, relativi ai primi 15 campioni, dove risiede un gene candidato per la colorazione golden del guscio (LOC105335056 = 26644625-82013), sembra confermarsi la tendenza, in particolare per i campioni della variante di colore golden, a clusterizzare assieme (Figura 8).

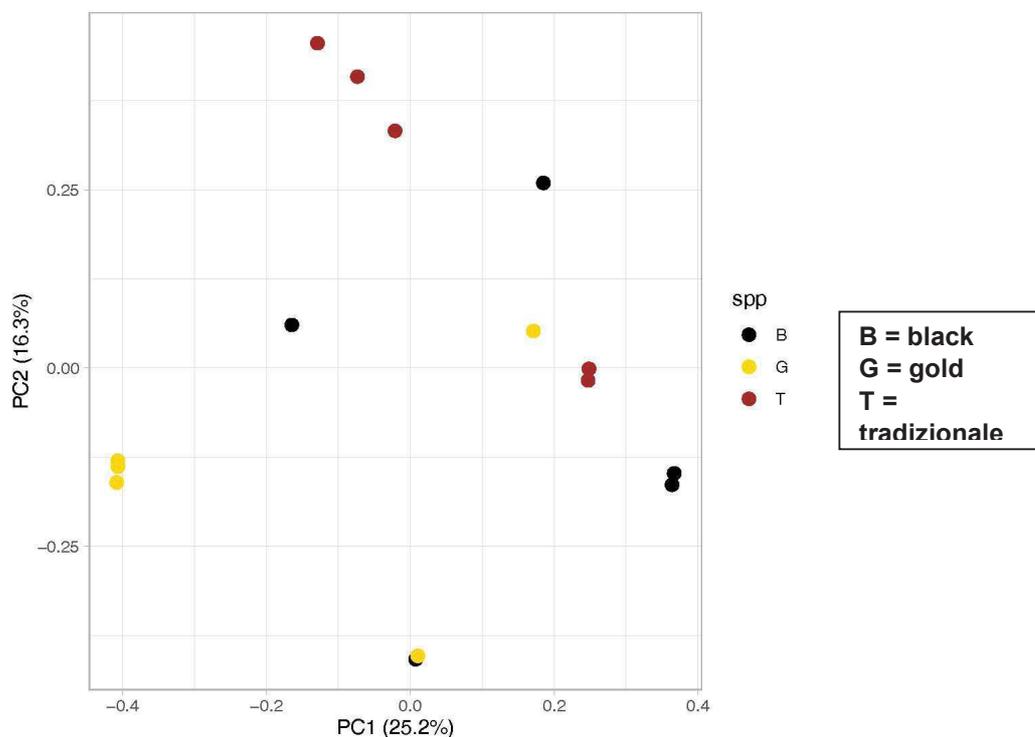


Figura 8

Anche i risultati di tale analisi sembrano riflettere una possibile diversa struttura di questa regione del cromosoma 8 per i campioni di colorazione golden, anche se l'aggregazione risulta meno marcata rispetto a quanto osservato per il gene DYRK2 in Figura 6. Questo andamento comunque non è inaspettato in quanto il controllo genetico della colorazione del guscio è determinato, per quanto noto ad oggi dalla letteratura, dall'azione di almeno cinque loci QTLs localizzati in diverse regioni genomiche di *C. gigas*.

Sarebbe di grande interesse quindi, per definire se esiste un reale livello di divergenza per questo tratto fenotipico tra le tre varianti di colore, allargare l'analisi alle altre regioni genomiche contenenti i loci QTLs associati alla colorazione del guscio e verificare se tali regioni sono in un qualche modo



associate alle regioni genomiche di controllo del metabolismo dei FAs, oltre che con altre regioni di controllo per altri tratti nutrizionali.

Non di minore interesse, per completare il quadro delle regioni genomiche che controllano i tratti fenotipici analizzati, sarebbe poter confrontare i dati genomici di *C. gigas* allevata nella Sacca di Goro con i dati genomici delle ostriche provenienti da altre popolazioni europee e asiatiche.

Bibliografia

- 1) Peñaloza C, Gutierrez AP, Eöry L, et al. (2021) A chromosome-level genome assembly for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Gigascience*. 10(3): giab020.
- 2) Li C, Wang J, Song K, et al (2018) Construction of a high-density genetic map and fine QTL mapping for growth and nutritional traits of *Crassostrea gigas*. *BMC Genomics*. 19(1):626.
- 3) Zhu Y, Li Q, Yu H, & Kong L (2018) Biochemical Composition and Nutritional Value of Different Shell Color Strains of Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *J. Ocean Univ. China*. 17 (4): 897-904.
- 4) Herpin A, Lelong C, Becker T, et al. (2005) Structural and functional evidence for a singular repertoire of BMP receptor signal transducing proteins in the lophotrochozoan *Crassostrea gigas* suggests a shared ancestral BMP/activating pathway. *FEBS J* 272(13):3424-40.
- 5) Sellos D, Moal J, Degremont L, et al. (2003) Structure of amylase genes in populations of Pacific Cupped oyster (*Crassostrea gigas*): tissue expression and allelic polymorphism. *Mar Biotechnol* 5(4):360-72
- 6) Huvet A, Jeffroy F, Fabioux C, et al. (2008) Association among growth, food consumption-related traits and amylase gene polymorphism in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Anim Genet* 39:662-5.
- 7) Meng J, Zhu Q, Zhang L, et al. (2013) Genome and Transcriptome Analyses Provide Insight into the Euryhaline Adaptation Mechanism of *Crassostrea gigas*. *PLoS One* 8(3):e58563.
- 8) Frédéric G Brunet FG, Fraser FW, Binder MJ, et al. (2015) The evolutionary conservation of the A Disintegrin-like and Metalloproteinase domain with Thrombospondin-1 motif metzincins across vertebrate species and their expression in teleost zebrafish. *BMC Evol Biol* 15:22.
- 9) She Z, Li L, Qi H, et al. (2015) Candidate Gene Polymorphisms and their Association with Glycogen Content in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *PLoS One* 7;10(5):e0124401.
- 10) Bacca H, Huveta A, Fabioux C, et al. (2005) Molecular cloning and seasonal expression of oyster glycogen phosphorylase and glycogen synthase genes. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 140(4):635-46.
- 11) Zhang G, Fang X, Guo X. et al. (2012) The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature* 490, 49–54 (2012).
- 12) Tack JF (1992). Ecomorphology of *Saccostrea cucullata* (Born, 1778) (Ostreidae) in a mangrove creek (Gazi, Kenya). *Hydrobiologia*, 109-117.
- 13) Feng Y, Li Q, Kong L, Zheng X. (2011) DNA barcoding and phylogenetic analysis of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes. *Mol Biol Rep*. 38(1):291-9.
- 14) Huber M (2010) Compendium of bivalves. A full-color guide to 3,300 of the world's marine bivalves. A status on Bivalvia after 250 years of research. Hackenheim: ConchBooks.
- 15) Shi R, Li C, Qi H, et al. (2020) Construction of a high-resolution genetic map of *Crassostrea gigas*: QTL mapping and GWAS applications revealed candidate genes controlling nutritional traits. *Aquaculture*. 527: 735427.
- 16) Wan S, Li Q, Yu H, et al. (2019) Estimating heritability for meat composition traits in the golden shell strain of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 516:734532.
- 17) Song, J., Li, Q., Yu, Y., Wan, S., Han, L., & Du, S. (2018). Mapping Genetic Loci for Quantitative Traits of Golden Shell Color, Mineral Element Contents, and Growth-Related Traits in Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biotechnology*.
- 18) Plough LV, Hedgecock D. Quantitative trait locus analysis of stage-specific inbreeding depression in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*. 2011 Dec;189(4):1473-86
- 19) Hedgecock D, Hubert S, Li G, Bucklin K. A genetic linkage map of 100 microsatellite markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J Shellfish Res*. 2002;21(1):381.

- 20) Yu ZN, Guo XM. Genetic linkage map of the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Biol Bull.* 2003;204(3):327–38.
- 21) Guo XM, Wang Y, Yu ZN. Physical and linkage mapping in the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin). *J Shellfish Res.* 2004;23(1):294–5.
- 22) Hubert S, Hedgecock D. Linkage maps of microsatellite DNA markers for the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics.* 2004;168(1):351–62.
- 23) Li L, Guo XM. AFLP-based genetic linkage maps of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Mar Biotechnol.* 2004;6(1):26–36.
- 24) Yu ZN, Guo XM. Identification and mapping of disease-resistance QTLs in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Aquaculture.* 2006;254(1–4):160–70.
- 25) Hedgecock D, Perry GML, Voigt ML. Mapping heterosis QTL in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture.* 2007;272:S267–8.
- 26) Lallias D, Beaumont A, Haley C, Boudry P, Heurtebise S, Lapegue S. A first generation genetic linkage map of the European flat oyster *Ostrea edulis* (L.) based on AFLP and microsatellite markers. *Anim Genet.* 2007;38(6):560–8.
- 27) Perry GML, Voigt M-L, Hedgecock D. Mapping QTL controlling growth and body size in the Pacific oyster. *J Shellfish Res.* 2008;27(4):1040.
- 28) Lallias D, Gomez-Raya L, Haley CS, Arzul I, Heurtebise S, Beaumont AR, Boudry P, Lapegue S. Combining two-stage testing and interval mapping strategies to detect qtl for resistance to bonamiosis in the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Mar Biotechnol.* 2009;11(5):570–84.
- 29) Sauvage C, Boudry P, de Koning DJ, Haley CS, Heurtebise S, Lapegue S. QTL for resistance to summer mortality and OshV-1 load in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Anim Genet.* 2010;41(4):390–9.
- 30) Plough LV, Hedgecock D. Quantitative trait locus analysis of stage-specific inbreeding depression in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics.* 2011; 189(4):1473.
- 31) Guo X, Li Q, Wang QZ, Kong LF. Genetic mapping and QTL analysis of growth-related traits in the Pacific oyster. *Mar Biotechnol.* 2012;14(2): 218–26.
- 32) Stick DA, Camara MD. Identification and mapping of growth-related QTL using microsatellite and AFLP markers for the Pacific oyster. *J Shellfish Res.* 2012;31(1):349.
- 33) Ge JL, Li Q, Yu H, Kong LF. Identification and mapping of a SCAR marker linked to a locus involved in shell pigmentation of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture.* 2014; 434:249–53.
- 34) Zhong X, Li Q, Guo X, Yu H, Kong L. QTL mapping for glycogen content and shell pigmentation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* using microsatellites and SNPs. *Aquac Int.* 2014;22(6):1877–89.
- 35) Hedgecock D, Shin G, Gracey AY, Van Den Berg D, Samanta MP. Second generation linkage maps for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* reveal errors in assembly of genome scaffolds. *G3-Genes Genomes Genetics.* 2015;5(10):2007–19.
- 36) Wang J, Li L, Zhang G. A high-density snp genetic linkage map and QTL analysis of growth-related traits in a hybrid family of oysters (*Crassostrea gigas* x *Crassostrea angulata*) using genotyping-by-sequencing. *G3-Genes Genomes Genetics.* 2016;6(5):1417–26.
- 37) Liu S, Qi LI, Hong YU, Kong L. Relationship between single nucleotide polymorphism of glycogen synthase gene of Pacific oyster *Crassostrea gigas* and its glycogen content. *J Ocean Univ China.* 2017;16(1):168–74.
- 38) Wang J, Li Q, Zhong X, Song J, Kong L, Yu H. An integrated genetic map based on EST-SNPs and QTL analysis of shell color traits in Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture.* 2018;492:226–36.



5. Analisi delle potenzialità economiche della produzione e del commercio derivanti dall'introduzione sul mercato delle tre varianti di colore.

5.1 Premessa ed obiettivi

I due principali obiettivi perseguiti in questo progetto di ricerca sono:

La valutazione della convenienza economico-reddituale dell'allevamento dell'ostrica nella Sacca di Goro in termini di profitto di impresa e di sostenibilità ambientale;

La valutazione della convenienza alla differenziazione del prodotto commerciale finale introducendo tre varietà di ostriche: tradizionale, golden e black oyster.

5.2 Gli scenari produttivi e la valutazione della convenienza economica

Obiettivo di questa fase del progetto è quello di analizzare la sostenibilità economica dell'attività di ostricoltura, non solo in termini di profittabilità annuale di gestione per l'impresa, ma anche di convenienza dell'investimento iniziale.

Una importante base di riferimento per la progettazione iniziale deve essere anche l'ottica della sostenibilità in termini di impatto ambientale e di tutela delle risorse naturali. Ciò consente di effettuare una valutazione complessiva del comportamento dell'impresa e, quindi, del ciclo produttivo in termini privati per quanto riguarda la convenienza economica, pubblici, per gli aspetti della tutela ambientale.

A tal proposito si è ritenuto interessante porre a confronto alcune impostazioni produttive distinte per tecnica di allevamento e di crescita dell'ostrica, in base alle indicazioni ottenute dai tecnici e dai biologi coinvolti nel progetto. Si sono, pertanto, delineati alcuni possibili scenari di allevamento delle ostriche, distinti per le aree dove si sono sviluppate le principali fasi di produzione dal seme al prodotto pronto al consumo, che si ricorda sono:

Pre-ingrasso: semina e sviluppo dell'ostrica;

Ingrasso: allevamento e crescita dell'ostrica;

Finissaggio del prodotto finale.

Le alternative delle zone di sviluppo delle distinte attività di impresa sono: MARE o LAGUNA.

La combinazione delle fasi e delle aree di produzione ha portato alla definizione di 2 principali sistemi di alternanza delle aree che le aziende produttrici principalmente adottano nell'allevamento delle ostriche; per il futuro si prevede di sperimentarne un terzo come riportato nel seguente quadro sinottico.

Agli scenari individuati si pensa di applicare un modello di valutazione economico-reddituale ormai consolidato e validato da applicazioni empiriche e bibliografiche a livello aziendale, distinto in tre momenti principali:

Impostazione del conto economico annuale: l'analisi prevede la riclassificazione del conto economico di derivazione dalla normativa fiscale. Il principale obiettivo dell'analisi cosiddetta "a valore aggiunto" è l'individuazione del grado di rischio per la restituzione del capitale finanziato esternamente e la definizione di indici di redditività aziendali;

Analisi del punto di pareggio utile per determinare il prezzo minimo di pareggio alla vendita del prodotto e del quantitativo minimo da produrre per coprire tutti i costi di allevamento (fissi e variabili);

Analisi degli indici di redditività e di rischio: l'approccio metodologico ha selezionato gli indicatori più significativi per l'analisi in oggetto; una loro lettura integrata permette di ottenere molteplici informazioni sullo stato di salute dell'impresa. Tra questi, a titolo di esempio, si ricordano il calcolo del ROI -(Return On Investment) che esprime il rendimento economico dell'intero capitale totale impiegato-) e il ROE (Return On Equity) cioè il reddito netto del capitale proprio immesso nell'investimento.

Quadro sinottico - Gli scenari di produzione e il modello di valutazione

A) Modelli produttivi



B) Analisi economica



La combinazione degli indicatori permette di valutare:
 la redditività dell'impresa in termini di valore assoluto annuale;
 il livello di rischio calcolato sia come prezzo minimo di vendita ad una determinata produzione, sia come quantità ad un determinato prezzo di vendita, per coprire tutti i costi di allevamento/produzione;
 la redditività in termini percentuale del capitale investito per l'attività aziendale.
 A questo punto l'azienda ha a disposizione una serie di indicatori di tipo finanziario ed economico che può raggruppare in un vero e proprio "cruscotto" aziendale per la lettura dello stato di salute della gestione.
 Ciascuno di essi può essere analizzato, approfondendo quali siano «fuori fase» e prevedere, nel bilancio dell'anno dei giusti correttivi; in sintesi in base al valore dell'indicatore aziendale, è necessario predisporre a fianco di esso un riferimento numerico cui tendere (cosiddetto benchmark) e porre a confronto la performance aziendale, al fine di migliorarla.
 Per alcuni è possibile indicare, come visto, una forbice di valori di confronto, per altri, invece, essendo il dato espresso in valore assoluto (euro e/o quantità) non può essere valutato aprioristicamente, ma solo se posto a confronto con il risultato medio del medesimo prodotto.
 I modelli di allevamento delle ostriche: gli scenari a confronto
 L'analisi economica sarà svolta ed applicata agli scenari produttivi posti tra loro a confronto.

Tale ipotesi di lavoro è scaturita, come indicato in premessa, dall'opportunità di compiere le tre fasi di allevamento dell'ostrica in aree distinte: mare aperto o laguna (nello specifico la sacca di Goro). Questo ha comportato, come visto, la definizione di 2i scenari, combinando le possibili aree tra loro. In questa parte sono descritte le caratteristiche principali relativamente a:
 fasi produttive: pre-ingrasso – ingrasso – finissaggio;
 zone di allevamento: mare aperto – laguna (sacca di Goro).

Fasi produttive

Le tre fasi produttive sono finalizzate alla crescita del seme di ostrica acquistato (in genere di origine francese, triploide cioè sterile, ovvero allevato in nursery e, poi, allevato).

I tre momenti sono 1:

Pre-ingrasso: in questa prima fase il seme (in genere si presenta di circa 1 cm e del peso medio di 0,2 grammi) è posto in "lanterne di rete" (simile a quelle utilizzate per l'allevamento delle cozze) specifiche e posizionate nelle long line in mare aperto (ipotesi 1), ovvero in laguna per circa 4 mesi (ipotesi 2); le dimensioni medie dell'allevamento sono di circa 200.000 semi, per i quali ci si attende una sopravvivenza del prodotto abbastanza difforme che può essere compresa in una forbice di valori tra il 20% e il 70% (per l'analisi si considera una quota del 50%); per 1.000 semi il costo di acquisto è pari a 10,00 euro (figura 1).

Figura 1 – Principali caratteristiche della fase di pre-ingrasso

1 Pre-ingrasso			
Caratteristiche:			
Seme acquistato	<i>Minimo</i>	<i>Medio</i>	<i>Massimo</i>
- dimensione iniziale (cm):	0,90	1,00	1,10
- peso iniziale (gr):	0,15	0,20	0,25
- costo (euro/1.000 semi):	7,50	10,00	12,50
- Coefficiente di mortalità:	70,00%	50,00%	20,00%
- dimensioni impianto (semi):	175.000,00	200.000,00	225.000,00
- tempo pre-ingrasso (mesi):	3	4	5
- dimensione finale (cm):	3,50	4,00	4,50
- peso finale (gr):	5,00	10,00	15,00

Ingrasso: il seme, dopo aver raggiunto le dimensioni di circa 4 cm e di 10 grammi (variabile tra 5 e 15 grammi), viene trasferito nelle ceste brevettate per l'allevamento delle ostriche per l'ingrasso e posizionate in mare aperto nelle long line; l'ingrasso può essere solamente eseguito in mare per una durata di circa 8/12 mesi (figura 2).

Figura 2 – Principali caratteristiche della fase di ingrasso

¹ Per ogni fase si è ritenuto opportuno inserire tre ipotesi di valore (minimo-medio-massimo) relativamente agli aspetti tecnici ed economici; per l'analisi economico-finanziaria si è preso a riferimento quello medio.

2

Ingrasso

Caratteristiche:

Seme

- dimensione iniziale (cm):

- peso iniziale (gr):

- dimensioni impianto (semi):

- tempo ingrasso (mesi):

- dimensione finale (cm):

- peso finale (gr):

	<i>Minimo</i>	<i>Medio</i>	<i>Massimo</i>
- dimensione iniziale (cm):	3,50	4,00	4,50
- peso iniziale (gr):	5,00	10,00	15,00
- dimensioni impianto (semi):	175.000,00	200.000,00 (a mortalità del 50% richiede di considerare la fase di preingrasso 2 volte)	225.000,00
- tempo ingrasso (mesi):	8	10	12
- dimensione finale (cm):	5,00 (soglia minima)	6,00	8,00
- peso finale (gr):	65,00	70,00	75,00

Affinamento: questo ultimo momento è molto importante per migliorare la qualità del prodotto finale e non tanto per accrescere le dimensioni ed il peso dell'ostrica. Ha durata di circa 2 mesi: tale fase può essere eseguita sia in mare aperto, sia in laguna (figura 3).

Figura 3 – Principali caratteristiche della fase di affinamento

3

Affinamento

indispensabile

Caratteristiche:

Seme

- dimensione iniziale (cm):

- peso iniziale (gr):

- dimensioni impianto (semi):

- tempo affinamento (mesi):

- dimensione finale (cm):

- peso finale (gr):

	<i>Minimo</i>	<i>Medio</i>	<i>Massimo</i>
- dimensione iniziale (cm):	5,00 (soglia minima)	6,00	8,00
- peso iniziale (gr):	65,00	70,00	75,00
- dimensioni impianto (semi):	175.000,00	200.000,00	225.000,00
- tempo affinamento (mesi):	2	2	2
- dimensione finale (cm):	5,00 (soglia minima)	6,00	8,00
- peso finale (gr):	65,00	70,00	75,00

Zone di allevamento

Le zone di allevamento, pertanto, sono due in cui alternare le fasi di crescita: laguna (Sacca di Goro) e mare aperto (strutture long line). Di seguito si illustrano le caratteristiche principali ponendo in evidenza gli aspetti distintivi sia tecnici, sia economici.

Laguna (sacca di Goro)

La situazione in cui alcune fasi di allevamento (specificamente quelle di pre-ingrasso e di affinamento dell'ostrica) sono molto difformi nel caso siano sviluppate in laguna nella Sacca di Goro, ovvero in mare aperto: i costi e l'organizzazione presentano elementi e valori molto dissimili. Si analizzano gli elementi principali della laguna. In primo luogo, è necessaria la concessione governativa, pari a 2.500,00 euro/anno e rinnovabile.

La differenza sostanziale è riferibile alla tipologia della struttura dove fissare le ceste di allevamento delle ostriche che risulta essere, ovviamente, molto più semplice rispetto a quella del mare aperto e di conseguenza con costi contenuti, come pure la gestione e il controllo che non richiedono la visita della "long line" e i relativi tempi di navigazione per raggiungerla.

Per il pre-ingrasso sono necessarie circa 100 "lanterne di rete" (2.000 semi/lanterna) ed hanno un costo pari a circa 10,00 euro/una.

Si riportano, già in questa fase, i costi relativi a imbarcazione, impianto a bordo, attrezzatura varia e abbigliamento, che sono imputabili a bilancio ovviamente solo una volta essendo elementi necessari per completare il ciclo di allevamento nel suo complesso.

Per quanto riguarda, viceversa, le fasi di crescita dell'ostrica, l'attività non può essere compiuta in laguna e, quindi, è necessario il trasporto del prodotto nelle "long line" (figura 4).

Figura 4 – Caratteristiche dell'allevamento in laguna (Sacca di Goro) (*)

	<i>Minimo</i>	<i>Medio</i>	<i>Massimo</i>
- Concessione governativa	SI	SI	SI
- Concessione governativa (euro)	2.500,00	2.500,00	2.500,00
- Imbarcazione	20.000,00	50.000,00	200.000,00
- Impianto a bordo (euro)	5.000,00	10.000,00	20.000,00
- Abbigliamento (euro)	1.000,00	1.000,00	1.000,00
- Attrezzatura minuta (euro)	500,00	500,00	500,00
- Impianto ostriche	2.000,00	2.000,00	2.000,00
- Allevamento (numero ostriche)	175.000,00	200.000,00	225.000,00
- Cesti allevamento (numero) circa 660 ostriche/cesto	265,15	303,03	340,91
- Cesti allevamento (euro/uno)	35,00	40,00	45,00
- Cesti allevamento (euro)	9.280,30	12.121,21	15.340,91
- Lanterne di rete (numero) circa 2.000 ostriche/cesto	87,50	100,00	112,50
- Lanterne di rete (euro/uno)	9,00	10,00	11,00
- Lanterne di rete (euro)	787,50	1.000,00	1.237,50

(*) In colore giallo si evidenziano i costi specifici di questa area di allevamento Mare aperto (strutture long line)

In questo caso l'allevamento si sviluppa in strutture "long line" di circa 1,2/1,5 km lineare di lunghezza dove sono fissate le ceste delle ostriche; l'investimento ha un costo variabile, ma mediamente intorno a 17.500,00 euro/km. La linea di produzione necessita della concessione governativa, per una spesa pari a 2.500,00 euro per ogni anno ed è rinnovabile.

Ogni cesta può contenere circa 300 pezzi che provengono dalla fase di pre-ingrasso in laguna, ovvero dalla stessa "long line", dove, però, è necessario sostituire, in entrambi i casi, le "lanterne di rete" utilizzate nella prima fase di pre-ingrasso, con le specifiche ceste brevettate per questa attività di accrescimento.

Ogni cesta utilizzata nella fase di ingrasso ha un costo pari a circa 40,00 euro. Nel periodo di crescita, l'allevatore si reca periodicamente a controllare la linea di produzione con la propria imbarcazione (figura 5).

Figura 5 – Caratteristiche dell'allevamento in mare aperto

	<i>Minimo</i>	<i>Medio</i>	<i>Massimo</i>
- Concessione governativa	SI	SI	SI
- Concessione governativa (euro)	2.500,00	2.500,00	2.500,00
- Long line - lunghezza (km)	0,90	1,00	1,10
- Long line - costo (euro)	15.000,00	17.500,00	20.000,00
- Imbarcazione	20.000,00	30.000,00	200.000,00
- Impianto a bordo (euro)	5.000,00	10.000,00	20.000,00
- Abbigliamento (euro)	1.000,00	1.000,00	1.000,00
- Attrezzatura minuta (euro)	500,00	500,00	500,00
- Allevamento (numero ostriche)	175.000,00	200.000,00	225.000,00
- Cesti allevamento (numero)	265,15	303,03	340,91
circa 660 ostriche/cesto			
- Cesti allevamento (euro/uno)	35,00	40,00	45,00
- Cesti allevamento (euro)	9.280,30	12.121,21	15.340,91
- Lanterne di rete (numero)	87,50	100,00	112,50
circa 2.000 ostriche/cesto			
- Lanterne di rete (euro/uno)	9,00	10,00	11,00
- Lanterne di rete (euro)	787,50	1.000,00	1.237,50

5.3 Il modello di analisi: il conto economico riclassificato e gli indici di redditività

In questa parte del lavoro si presenta la struttura del modello di valutazione; si ricorda che l'obiettivo è quello di fornire uno strumento agile e di facile interpretazione per l'imprenditore, e, pertanto, saranno descritti alcuni elementi di sintesi relativi agli approcci di riclassificazione del bilancio, su cui si fondano gli indicatori di convenienza per la costruzione di un "cruscotto" aziendale.

2.1 - Riclassificazione del conto economico

Tra gli obiettivi principali di una corretta analisi del bilancio di un'azienda, si colloca la verifica dell'equilibrio economico dell'impresa per rispettare almeno due condizioni fondamentali: i ricavi conseguiti dall'attività aziendale dovrebbero coprire i costi ed assicurare la remunerazione del capitale investito dai soci dell'azienda; l'azienda nel suo complesso dovrebbe avere una solidità finanziaria adeguata.

Si consideri che per la realizzazione di un prodotto/servizio sono necessarie due tipologie di risorse: esterne all'impresa ed acquistate sul mercato (materie prime, semilavorati, servizi ecc.) e interne (principalmente il personale). Pertanto, i ricavi che presumibilmente si ottengono dalla gestione devono essere in grado di remunerare i fattori produttivi e i vari stakeholders (figura 6):

remunerare coloro che prestano il proprio lavoro all'interno dell'azienda;

remunerare il capitale di terzi;

recuperare gli investimenti;

far fronte a tutti gli altri obblighi, eventi, diritti e doveri ecc.

Figura 6 – La riclassificazione del conto economico “a scalare”

Voci del conto economico	Descrizione
+ Valore della produzione	Ricavi e contributi finanziari esterni
- Costi esterni	Materie prime e servizi forniti da imprese esterne
= Valore Aggiunto	Determinazione del flusso di cassa aziendale
- Costo del personale	Dipendenti aziendali
= EBITDA (Margine Operativo Lordo - MOL)	EBITDA (Earnings Before Interest, Taxes, Depreciation and Amortization)
- Ammortamento beni materiali	Quote di ammortamento per parco macchine, immobili, impianti, ...
= EBITA	EBITA (Earnings Before Interest, Taxes and Amortization)
- Ammortamento beni immateriali	Quote di ammortamento per licenze, brevetti, software, progetti, ...
= EBIT	EBIT (Earnings Before Interest and Taxes)
+ PGA - OGA + Pfin	PGA = Proventi Gestione Accessoria OGA = Oneri Gestione Accessoria Pfin = Proventi gestione Finanziaria
= Margine operativo netto (MON)	E' il margine operativo utile per conoscere la disponibilità finanziaria in grado di remunerare gli interessi del capitale fornito da soggetti esterni
- Oneri finanziari	Ofin = Oneri finanziari del capitale esterno (CE) e del capitale proprio (CP)
= EBT	EBIT (Earnings Before Taxes)
+ PS - OS	PS = Proventi Straordinari OS = Oneri Straordinari
- Imposte, tributi e contributi	Imposte sul reddito, sui capitali e contributi di Enti consortili
= Profitto/perdita di impresa)	E' il risultato finale della gestione aziendale

A questo punto si possono descrivere i principali indicatori ricercati nella riclassificazione di un bilancio al fine di fornire una “chiave” interpretativa della situazione aziendale. Si presenta di seguito la forma a “scalare a valore aggiunto” utilizzando acronimi internazionali di ormai uso

comune, comparandoli con gli indicatori di maggior utilizzo nelle aziende nazionali. La sequenza degli indici della riclassificazione è:

✓ EBITDA: è l'acronimo di Earnings Before Interest, Taxes, Depreciation and Amortization ed è una misura utilizzata nel calcolo dei flussi di cassa per l'impresa. EBITDA rappresenta il margine operativo lordo (MOL); questo indicatore consente di verificare se la società realizza profitti positivi dalla gestione ordinaria (definita anche caratteristica, cioè l'attività produttiva principale). In particolare, si può sottolineare che questo indicatore pone a confronto ricavi e costi che determinano un reale flusso di cassa.

✓ EBITA: questo indicatore (Earnings Before Interest, Taxes and Amortization) determina una quota parte del reddito lordo prima degli interessi, delle imposte e degli ammortamenti dei beni immateriali (ad esempio, l'avviamento, le licenze, i software,...), ma al netto dell'ammortamento delle immobilizzazioni materiali, spesso i più rappresentativi (cioè, immobili, strumenti, impianti e attrezzature). Tale configurazione di reddito ha lo scopo di fornire una misura la più oggettiva possibile della ricchezza generabile attraverso la gestione operativa.

✓ EBIT: il terzo indicatore, EBIT, deriva dall'espressione Earnings Before Interests and Taxes e rappresenta il risultato ante oneri finanziari o anche reddito operativo aziendale; è l'espressione del risultato aziendale prima delle imposte e degli oneri finanziari. L'EBIT esprime il reddito che l'azienda è in grado di generare prima della remunerazione del capitale, comprendendo con questo termine sia il capitale di terzi (indebitamento) sia il capitale proprio (patrimonio netto). EBIT è spesso associato al margine operativo netto (o MON), ma non coincide concettualmente con esso: oltre alle componenti di reddito operativo, esso comprende, infatti, gli oneri ed i proventi derivanti da gestioni accessorie, nonché i proventi finanziari derivanti dalla cosiddetta gestione finanziaria attiva. In aziende che non hanno né gestioni accessorie né una gestione finanziaria attiva, l'EBIT coincide con il margine operativo netto (MON).

✓ EBT: il risultato "ante" imposte, noto con l'acronimo inglese EBT (Earnings Before Taxes) è un indicatore determinato come differenza tra i ricavi ed i costi totali aziendali, ad eccezione delle imposte sul reddito. Bisogna porre attenzione ad imputare, se presenti Proventi Straordinari (PS) e/o Oneri Straordinari (OS). Il risultato ante imposte è, nella normativa attuale, importante per conoscere la redditività dell'impresa prima dell'applicazione delle imposte sui redditi.

Tale approccio "a scalare" del conto economico pone in evidenza la grandezza «valore aggiunto», che rappresenta il plusvalore che l'azienda consegue con la semplice attività di compravendita dei beni e dei servizi: sottraendo a tale valore il costo per il personale (che è il fattore interno più rilevante in un'azienda familiare e spesso è un costo "figurativo" perché il lavoro è fornito dai componenti non sottoposti a contratto di lavoro, come ad esempio nel caso in esame) si ottiene il Margine Operativo Lordo (MOL); detraendo da quest'ultimo gli ammortamenti dei beni materiali ed immateriali (effettuati dalla impresa per recuperare gradualmente, attraverso quote annuali, i costi sostenuti anticipatamente per dotarsi di un'adeguata struttura produttiva), si ottiene il Margine Operativo Netto (MON).

Il principale strumento per il raggiungimento del EBIT è il capitale Investito (CI) il quale è costituito dalla somma dei valori della struttura produttiva (si ricorda sia capitale esterno – CE, sia proprio – CP).

Indici di redditività semplici

Gli indici di redditività sono costruiti confrontando valori di reddito e di capitale. Le configurazioni di reddito maggiormente utilizzate sono:

- Margine Operativo Lordo (MOL) - Earnings Before Interest, Taxes, Depreciation and Amortization (EBITDA);
- Margine Operativo Netto (MON) - Earnings Before Interests and Taxes (EBIT);
- Reddito d'Esercizio Netto, o Utile/Perdita.

Sottraendo all'EBIT gli oneri finanziari e le imposte, si ottiene il "risultato netto d'esercizio" che può essere sia attivo ("utile" o "profitto": cioè l'obiettivo che la impresa si pone quando avvia i suoi cicli produttivi) o passivo ("perdita" dell'impresa).

Indici di redditività misti

Le configurazioni di capitale utilizzate per la costruzione degli indici di redditività sono sostanzialmente due:

- Il capitale investito (CI): il complesso degli investimenti effettuati iscritti tra le attività del bilancio d'esercizio;
- Il capitale proprio (CP): sommatoria di elementi diversi:
 - Capitale sociale, il valore delle quote o azioni sottoscritte dai soci;
 - Riserve di capitale, sostanzialmente utili pregressi non distribuiti ed altre riserve;
 - Utile d'esercizio, ossia il risultato maturato nell'esercizio corrente, se non distribuito.

A questo punto si hanno a disposizione gli elementi per definire gli indici di redditività misti, cioè composti da valori sia di reddito, sia di capitale. Gli indici di redditività di più immediata comprensione sono: ROE e ROI, tra i quali, come si vedrà, esiste una relazione di stretta dipendenza.

ROI – Return on investment

In un'ottica di analisi per indici composti il primo che può essere calcolato è il Return On Investment (ROI), il quale è dato da:

$$\text{ROI} = \text{EBIT} / \text{Capitale Investito}$$

Tale indice di bilancio evidenzia la redditività del capitale investito attraverso la gestione ordinaria/caratteristica dell'azienda (ed è dunque indice fondamentale per individuare come sia gestita l'azienda dall'imprenditore): tale redditività dipende dal livello del fatturato, dai costi aziendali ordinari/caratteristici e dal capitale investito.

Il vantaggio del ROI risiede nell'immediatezza dell'informazione che genera in termini percentuali.

L'indicatore consente di valutare la capacità dell'azienda di remunerare il capitale acquisito, sia sotto forma di capitale proprio (CP), sia di capitale di credito (CC), facendo leva sulla sola attività caratteristica dell'impresa.

ROE – Return on equity

A questo punto dell'analisi è interessante l'elaborazione di un ulteriore indice: il ROE (Return On Equity). Si può considerare come l'indice complessivo che rappresenta il risultato economico dell'azienda. Misura l'effetto integrato delle scelte relative al:

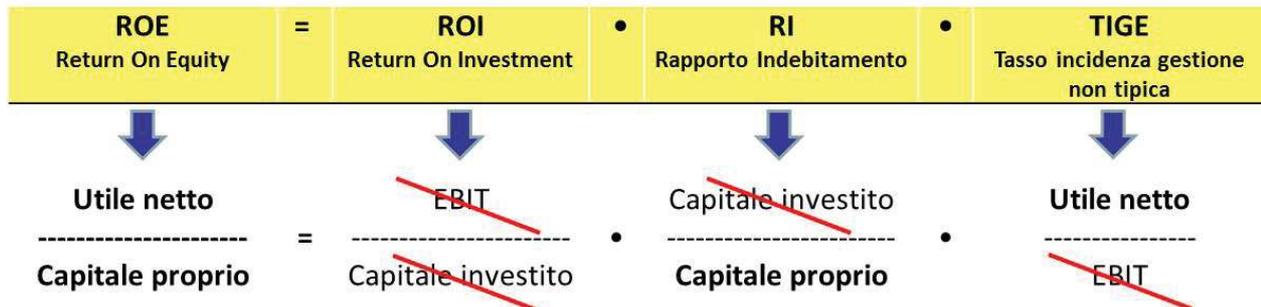
1. Settore operativo/caratteristico;
2. Settore extra-caratteristico o accessorio;
3. Settore straordinario;
4. Settore finanziario.

Il ROE misura la redditività del capitale proprio:

$$\text{ROE} = (\text{Utile netto} / \text{Capitale Proprio})$$

Il ROE è, infatti, calcolato come prodotto tra ROI, rapporto di indebitamento e tasso di incidenza della gestione non tipica sul margine operativo netto (MON); questo ultimo indicatore determina, in forma percentuale, quanta parte del MON è stata sottratta dagli oneri finanziari, dalle imposte e dalla gestione straordinaria. L'indice è di seguito descritto nella figura 7.

Figura 7 – Relazione tra ROE e ROI



Il prodotto tra rapporto di indebitamento ed il tasso di incidenza della gestione extra-caratteristica è definito "leva finanziaria" ed è appunto accettabile quando risulta essere ≥ 1 . A titolo esemplificativo si riporta un esempio (figura 8).

Pertanto, nel caso di una leva finanziaria >1 , il ROE migliora la prestazione del ROI, proprio perché il costo del capitale a credito è inferiore della redditività nella gestione caratteristica. Tuttavia, non è possibile affermare l'esistenza di un rapporto ottimale fra Capitale Proprio e Capitale di Credito, ma è necessario analizzare la situazione aziendale, in rapporto al mercato, caso per caso.

Figura 8 – Un'applicazione del modello relazionale tra ROE e ROI

Voci di bilancio	Valori
Capitale investito (CI)	250.000,00 euro
Capitale proprio (CP)	62.500,00 euro
EBIT (MON margine operativo netto)	30.000,00 euro
Earning (utile aziendale)	9.600,00 euro

Leva finanziaria

ROE Return On Equity	ROI Return On Investment	RI Rapporto indebitamento	TIGE Tasso incidenza gestione non tipica
-------------------------	-----------------------------	------------------------------	---

<p>Earning 9.600,00 euro</p> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Capitale proprio (CP) 62.500,00 euro</p>	=	<p>EBIT 30.000,00 euro</p> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Capitale investito (CI) 250.000,00 euro</p>	•	<p>Capitale investito (CI) 250.00,00 euro</p> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Capitale proprio (CP) 62.500,00 euro</p>	•	<p>Earning 9.600,00 euro</p> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>EBIT 30.000,00 euro</p>								
15,36%	=	12,00%	•	4,00	•	0,32								
15,36% =		12,00% * 1,28		Leva finanziaria = 1,28										
		<table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td style="padding: 2px;">ROI</td> <td style="padding: 2px;">Leva finanziaria</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">12,00%</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1,28</td> </tr> </table>	ROI	Leva finanziaria	12,00%	1,28		<table border="1" style="margin: 0 auto;"> <tr> <td style="padding: 2px;">RI</td> <td style="padding: 2px;">Tasso incidenza gestione non tipica</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">4,00</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">0,32</td> </tr> </table>	RI	Tasso incidenza gestione non tipica	4,00	0,32		
ROI	Leva finanziaria													
12,00%	1,28													
RI	Tasso incidenza gestione non tipica													
4,00	0,32													

Analisi del “punto di pareggio”

L'impostazione del modello di analisi del “punto di pareggio” richiede una attenta riclassificazione del conto economico ripartendo i costi in variabili e fissi (figura 9).

Nonostante alcuni limiti del modello che presume linearità nelle modifiche dei valori senza prendere in considerazione eventuali economie di scala scaturite dai volumi d'affari e dalle negoziazioni di mercato, gli indicatori espressi sono un utile strumento di valutazione per l'imprenditore.

Di seguito, si illustrano le tecniche di calcolo di alcuni di essi per valutare la competitività di un processo produttivo di un'impresa.

Si ipotizzi una produzione che genera ricavi per 1.500,00 euro/anno, ottenuti da una produzione pari a 750 chilogrammi per un prezzo di vendita di 2,00 euro/kg; i costi totali pari a 1.250,00 euro, sono distinti in fissi (650,00 euro) e variabili (600,00 euro). Di seguito si riportano gli elementi per il calcolo degli indicatori.

Figura 9 – La riclassificazione del conto economico: costi fissi e variabili

Conto Economico a «valore aggiunto»	Valore di bilancio (euro/ha)	Costo FISSO (euro/ha)	Costo VARIABILE (euro/ha)
+ Valore della produzione	1.500,00		
- Costi esterni	600,00		600,00
= Valore Aggiunto	900,00		
- Costo del personale aziendale	300,00	300,00	
= Margine Operativo Lordo MOL (EBITDA - Earnings Before Interest, Taxes, Depreciation and Amortization)	600,00		
- Ammortamenti e accantonamenti beni materiali ed immateriali	200,00	200,00	
= Margine Operativo Netto (MON)	400,00		
- Imposte e tributi (catastale)	150,00	150,00	
		Totale 650,00	600,00

1 Punto di pareggio

L'obiettivo principale è la determinazione del cosiddetto “punto di pareggio” o “breakeven point” (BEP) del livello di vendite in termini di quantità che consente all'impresa, attraverso la realizzazione del margine di contribuzione unitario (dedotto dalla sottrazione dal prezzo dei costi variabili unitari), l'integrale copertura dei costi fissi. Se si pone il profitto pari a zero, si ottiene:

$$\begin{array}{rcl}
 \text{Punto di pareggio (Q)} & \text{CF} & 650,00 \\
 = & \text{-----} & \text{-----} & 542 \text{ kg} \\
 & \text{-----} & \text{---} & \\
 & \text{- =} & & \\
 & \text{Mcu} & 1,20 &
 \end{array}$$

dove:

CF = costi fissi;

Mcu = margine di contribuzione unitario dedotto da:

prezzo – (costo variabile totale/quantità prodotta) = 2,00 – (600,00/750,00) = 1,20 euro.

2 Fatturato di pareggio

Per l'impresa è interessante conoscere il livello dei ricavi (in altri termini il fatturato dell'azienda), necessario per conseguire il pareggio economico, si determina:

	CF	650,00	
Fatturato di pareggio	-----	-----	1.083,00 euro
(euro/ha) =	--- =	=	
	Mcu/p	1,20/2,00	

dove il rapporto mcu/p esprime la frazione del prezzo di vendita che, una volta coperti i costi variabili, è destinata alla copertura dei costi fissi e alla realizzazione del profitto. Si tratta di un valore compreso tra 0 (quando p = cvu) e 1 (quando cvu = 0). Il rapporto in oggetto costituisce un indicatore fondamentale per descrivere la struttura dei costi di un'impresa: quanto più il coefficiente si avvicina a 1, tanto più l'impresa ha margine per coprire i costi fissi.

3 Prezzo di pareggio

Strettamente collegato all'indicatore precedente, si può elaborare il cosiddetto "prezzo di pareggio", cioè il valore di prezzo che consente di rendere la differenza ricavi totali e costi totali uguale a zero. E' un indicatore molto interessante perché, se si ha conoscenza delle dinamiche temporali di prezzo di mercato di un prodotto, si può evidenziare la rischiosità dello stesso in base allo scostamento tra "prezzo di pareggio" e quello medio di mercato. In formula:

	Cvu	+	(600/750)	+	1,66
Prezzo di pareggio	(CF/Q) =		(650/750)=		euro/kg
(euro/t) =					

4 Livello di sfruttamento

Il punto di pareggio può essere espresso anche in relazione alla capacità produttiva (CP) dell'impresa. In tal caso esso assume il significato di livello di sfruttamento della capacità produttiva aziendale; il livello di accettabilità deve essere almeno ≤ 1 , che significa che il punto di pareggio è inferiore alla capacità produttiva dell'impresa stessa; quanto più il valore percentuale ottenuto è contenuto, tanto più l'azienda è in una situazione di sicurezza, cioè il fatturato prodotto è ampiamente in grado di coprire tutti i costi di produzione; in formula è:

	Q BEP	542 kg	
Fattore di sfruttamento	-----	----- =	72,20%
(%) =	- =		
	CP	750 kg	

dove:

Q BEP = punto di pareggio espresso in quantità;

CP = capacità produttiva dell'impresa.

- "Cruscotto" aziendale e relativi indicatori

A questo punto è interessante raggruppare gli indici elaborati in una sorta di cruscotto aziendale in grado di fornire all'imprenditore informazioni immediate sullo stato di "salute" della

propria azienda. E' importante, inoltre, che gli stessi indicatori abbiano un "punto di riferimento comparativo", che sarà definito come benchmark.

"Se conosci il nemico e te stesso, la tua vittoria è sicura. Se conosci te stesso ma non il nemico, le tue probabilità di vincere e perdere sono uguali. Se non conosci il nemico e nemmeno te stesso, soccomberai in ogni battaglia": questa affermazione è tratta dal famoso libro "L'Arte della guerra", del Generale e filosofo cinese Sun Tzu vissuto tra il VI e il V secolo a.C., i cui contenuti, oltre a essere riferimento in ambito militare, vengono da tempo applicati anche in contesti economici e di sviluppo dell'amministrazione aziendale.

Il benchmarking nasce nel 1979, quando Robert Camp sviluppa e applica questo approccio per conto della Xerox Corporation, che aveva l'esigenza di migliorare le proprie prestazioni rispetto alla concorrenza, attraverso appunto un confronto con i prodotti e i processi delle aziende leader di mercato.

Il benchmarking non deve essere considerato solo come uno studio e/o un'analisi dei concorrenti di mercato fine a se stessa. Infatti, le informazioni che si raccolgono devono essere impiegate dall'azienda come base operativa per il miglioramento delle proprie strategie e per individuare i propri punti di forza e di debolezza.

A questo punto l'azienda, avendo a disposizione gli indicatori finanziario-economici, può analizzare quali di questi sono «fuori fase» e prevedere, nel bilancio dell'anno in corso, dei correttivi; in sintesi, in base al valore dell'indicatore aziendale, è necessario predisporre a fianco di esso un riferimento numerico cui tendere e porre a confronto la performance aziendale.

In modo sequenziale si presentano gli indicatori selezionati per il "cruscotto aziendale".

MOL – margine operativo lordo

Il MOL (margine operativo lordo) rappresenta la redditività dell'attività caratteristica al lordo degli ammortamenti. La stima di un benchmark rappresentativo è molto difficile e variabile per settori distinti. Di seguito si rappresentano alcune "forbici" di valore da considerare come indicazioni di massima; il valore percentuale è calcolato sull'importo del fatturato.

	Chiave di lettura	Significato del risultato	
MOL	MOL < 5%	Non soddisfacente	
	5% < MOL < 15%	Non esaltante	
	MOL > 15%	Soddisfacente	

MON – Margine operativo netto

Il MON (margine operativo netto) rappresenta la redditività dell'attività caratteristica al netto degli ammortamenti. La stima di un benchmark rappresentativo è, anche in questo caso, molto complessa e specifica per settori distinti in base ai capitali investiti. Come prima, si indicano alcuni valori di massima; la quota si intende calcolata sull'importo del fatturato.

MON

Chiave di lettura	Significato del risultato	
MON < 3%	Non soddisfacente	
3% < MON < 5%	Non esaltante	
MON > 5%	Soddisfacente	

ROE - Return on Equity

Il ROE indica il rendimento del capitale investito dai soci o dall'imprenditore. In altre parole, è la sintesi dell'interesse maturato, per effetto della gestione, sul capitale proprio investito in azienda.

Un'impresa, per poter attrarre nuovo capitale di rischio, dovrebbe fornire un ROE superiore ai tassi di rendimenti di investimenti alternativi. In ogni caso il ROE di una impresa non dovrebbe mai essere inferiore al tasso garantito per investimenti senza rischio (Btp-Bot). In sintesi si possono indicare le seguenti "forbici" di valore per l'accettabilità aziendale. Indubbiamente in una tale situazione economica a livello internazionale (anno 2023) e, di conseguenza, in base alla volatilità dei mercati, diventa molto difficile indicare un valore di riferimento certo.

ROE

Chiave di lettura	Significato del risultato	
Roe < 2%	Non soddisfacente	
2% < Roe < 6%	Non esaltante	
Roe > 6%	Soddisfacente	

ROI - Return on Investment

Molto interessante per capire l'andamento dell'impresa è il ROI, che misura la redditività di tutto il capitale investito (ad esempio quello esterno proveniente da istituti di credito).

Il ROI indica la redditività della gestione rappresentata dall'EBIT (che è tra gli indicatori di maggior interesse di qualsiasi impresa) rapportata alla dimensione aziendale, cioè il capitale investito nel suo complesso. Per la sua importanza, il ROI è giustamente considerato il "termometro" della capacità reddituale aziendale.

In sintesi si possono indicare le seguenti "forbici" di valore per l'accettabilità aziendale.

ROI

Chiave di lettura	Significato del risultato	
ROI < 7%	Non soddisfacente	
7% < ROI < 15%	Nella norma	
ROI > 15%	Soddisfacente	

A questo punto si hanno a disposizione gli elementi per costruire il "cruscotto aziendale".

Per alcuni indicatori è possibile definire, come visto, una forbice di valori di confronto, per altri, invece, il dato espresso in valore assoluto (euro e/o quantità) non può essere valutato in modo comparativo, proprio perché specifico dell'attività e della struttura aziendale.

Figura 10 – “Cruscotto” degli indicatori aziendali e relativi benchmark

INDICI DI REDDITIVITA' SEMPLICI

Indice	Simbolo	Valore	Giudizio
Ricavi totali	<i>R</i>		
Costi totali	<i>C</i>		
Margine Operativo Lordo	<i>MOL</i>		
Margine Operativo Netto	<i>MON</i>		
Utile/perdita	<i>Utile</i>		
Rapporto MOL/Ricavi	<i>MOL/Ricavi</i>		
Rapporto MON/Ricavi	<i>MON/Ricavi</i>		

INDICI DI REDDITIVITA' COMPOSTI

Indice	Simbolo	Valore	Giudizio
Return on Investment	<i>ROI</i>		
Return on Equity	<i>ROE</i>		

PUNTO DI PAREGGIO

Indice	Simbolo	Valore	Giudizio
Punto di pareggio (quantità)	<i>BEP (quantità)</i>		
Punto di pareggio (ricavi)	<i>BEP (ricavi)</i>		
Prezzo di pareggio	<i>BEP (prezzo)</i>		
Livello di sfruttamento	<i>BEP/Q (%)</i>		

5.4 Applicazione del modello di analisi agli scenari di allevamento nella Sacca di Goro

In questa parte del lavoro si presentano i risultati relativi all'applicazione del modello di valutazione della convenienza economica di impresa al caso di studio: l'allevamento delle ostriche adottando tecniche alternative.

In modo propedeutico all'analisi si presentano i due scenari relativi alle tipologie di allevamento delle ostriche che le imprese coinvolte nella sperimentazione intendono applicare al proprio sistema di impresa (figura 11).

La valutazione tecnico-economica riguarderà due scenari in cui si alternano le distinte fasi di allevamento (pre-ingrasso – ingrasso – finissaggio) in ambiti diversi (mare o laguna):

MARE-MARE-MARE: tutte le fasi di allevamento sono compiute in mare aperto nelle long-line;

LAGUNA-MARE-MARE: il pre-ingrasso è condotto in laguna, dopodiché le “ceste” di ostriche vengono trasferite nelle long-line per concludere il ciclo produttivo, compreso il finissaggio.

Figura 11- Scenari produttivi e modello di analisi

Scenari produttivi: fasi e zone di allevamento



Modello di valutazione economico-finanziaria



Determinazione
dell'utile/perdita di impresa

Determinazione
«punto di pareggio»

Indici di redditività del capitale
(capitale totale e capitale proprio)

Prima della presentazione dei risultati scaturiti dall'analisi è sembrato opportuno illustrare le principali ipotesi assunte come costanti nell'applicazione del modello di valutazione, relative al dimensionamento dello scenario di allevamento, alla stima delle voci di costo per quanto riguarda investimenti iniziali e gestione annuale ed a quelle relative ai ricavi desunti dalla produzione realizzabile e prezzo di vendita delle ostriche.

Per quanto riguarda l'allevamento si è assunto:

Dimensioni e quantità allevate:

Quantità di seme allevato: 200.000 unità;

Livello di mortalità atteso: 50%;

Coefficiente di trasformazione in peso finale: 70 gr/uno.

Attività di allevamento:

Tempo: 110 giorni/anno; i giorni sono relativi al controllo, alla manutenzione dell'allevamento ed all'eventuale trasferimento delle ceste;

Manodopera: 1,5 addetti;

Costo orario manodopera: l'analisi è condotta prendendo a riferimento un costo opportunità del lavoro pari a una retribuzione mensile di 1.500,00 euro netti; nell'imputazione a bilancio si è considerato il costo per l'azienda;

Depurazione delle ostriche: esterna;

Commercializzazione e trasporto: esterno.

Capitali e investimento:

Capitale esterno (CE): 75%

Capitale proprio (CP): 25%

Specie allevate e prezzo di riferimento:

Le specie allevate sono tre: 1) Tradizionale; 2) Oyster; 3) Black

La composizione della produzione è considerata nella stima iniziale ripartita in parti uguali

In un secondo momento si analizza l'incidenza sull'utile finale nel caso siano variabili le percentuali di composizione del prodotto finale.

Nel prosieguo del lavoro si presentano i risultati delle elaborazioni compiute relativamente ai due scenari ipotizzati rispettando la seguente esposizione dei dati:

Riclassificazione del conto economico;

Indici di bilancio sintetici;

Indici di bilancio composti;

Analisi del "punto di pareggio";

Costruzione del "cruscotto" aziendale.

Una importante precisazione è necessaria: per quanto riguarda l'imputazione dei costi e dei ricavi si è mantenuto un approccio distinto: i costi della tecnica di allevamento sono stati considerati uguali per tutte e tre le varietà di ostriche, mentre, ovviamente, si sono attribuiti valori diversi per quantità e per prezzo per il prodotto finale.

I costi di allevamento

Scenario 1: mare-mare-mare

Lo scenario 1 prevede il compimento di tutte le fasi di allevamento del ciclo dell'ostrica in mare nelle long-line. L'elaborazione della riclassificazione del conto economico preventivo ha portato a risultati significativi, meritevoli di alcuni commenti.

Per quanto riguarda i costi, viceversa, è importante distinguere due centri di spesa determinanti per l'analisi: quelli che generano un effettivo esborso monetario, rispetto a quelli definiti "calcolati" e "figurativi" che sono importanti da considerare nella valutazione, ma per l'impresa non generano flussi di cassa negativi e relativa necessità di liquidità di cassa.

L'impostazione dell'analisi ha seguito questo approccio.

I costi espliciti da sostenere per l'attività da parte dell'impresa sono pari a circa 25.757,15 euro (figura 12).

Figura 12 - Scenario 1: i COSTI ESTERNI totali

Voci di bilancio	Valore (euro)
- Costi esterni	25.757,15
Materie prime:	
a) prodotti per la produzione	11.936,00
- seme	2.000,00
- carburante	9.936,00
b) operazioni esterne	3.846,15
- depurazione finale	3.846,15
c) servizi di manutenzione	6.975,00
- manutenzione impianto a mare (5,0%)	875,00
- manutenzione impianto in laguna (5,0%)	100,00
- manutenzione imbarcazione (10,0%)	5.000,00
- manutenzione impianti in barca (10,0%)	1.000,00
d) materiali di consumo	3.000,00
- abbigliamento e attrezzi	2.000,00
- prodotti vari	1.000,00
- altro	

A questo punto si approfondisce l'analisi relativa ai costi calcolati o figurativi ed in particolare alla manodopera necessaria alla conduzione dell'allevamento. Si ricorda che l'impostazione della valutazione prevede la remunerazione della forza lavoro, come se fosse di tipo familiare e, quindi, non come dipendente dell'impresa. Per fare ciò si è considerato un eventuale "costo opportunità" del lavoro, in alternativa a quello in esame.

Facendo riferimento al contesto agricolo, si è ipotizzato una retribuzione mensile netta per dipendente pari a 1.500,00 euro, che nel caso aziendale si è aumentata dei tributi e degli oneri previdenziali. Pertanto, il costo unitario del dipendente è pari a 18,25 euro/ora.

La gestione dell'impianto di allevamento richiede 110 giorni di lavoro annuali suddivisi in 3 ore di viaggio, 3 ore di controllo delle "ceste" e 2 ore di lavoro "a terra" dopo lo sbarco; pertanto su un monte annuale pari a circa 220/240 giornate, si può stimare che l'operatore che gestisce l'allevamento di ostriche è pressoché impegnato per la metà della sua "forza lavoro".

Il calcolo del costo totale del personale tiene in considerazione le 110 giornate necessarie per la conduzione e, per appoggio, si è ipotizzato un supporto di "metà" giornata (figura 13).

Nel complesso la gestione dell'impianto e dell'allevamento richiede un costo "figurativo" pari a circa 34.123,00 euro/anno.

Figura 13- Scenario 1: la MANODOPERA

Stipendio mensile netto (euro/mese)	1.500,00
Trattenute alla fonte (euro/mese)	500,00
Oneri previdenziali (36% del lordo) (euro/mese)	920,00
COSTO TOTALE AZIENDALE (euro/mese):	2.920,00
COSTO unitario - 8 ore die per 20 giorni - (euro/ora):	18,25



- Costo del personale aziendale (P)	34.123,75
- personale (numero)	1,50
Fase di pre-ingrasso	4.927,50
* giorni di lavoro	30,00
* tempo di viaggio (A/R)	3,00
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase di ingrasso	9.855,00
* giorni di lavoro	60,00
* tempo di viaggio (A/R)	3,00
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase di finissaggio	3.285,00
* giorni di lavoro	20,00
* tempo di viaggio (A/R)	3,00
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase "a terra"	4.015,00
* giorni di lavoro	110,00
* tempo per attività "a terra"	2,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25

Un'ulteriore voce di costo calcolata è quella relativa agli ammortamenti del capitale investito in impianti, imbarcazione, strutture ed attrezzatura. Come si può notare, il costo annuale è particolarmente contenuto pari a circa 8.100,00 euro, in relazione al capitale investito per l'attività non particolarmente significativo: infatti, la voce più significativa è quella relativa all'imbarcazione che è stata stimata di valore pari a 30.000,00 euro e ammortizzabile in 10 anni (figura 14).

Figura 14- Scenario 1: gli AMMORTAMENTI

Ammortamento beni materiali	8.098,03
- Impianto allevamento a mare	1.166,67
- Impianto allevamento in laguna	
- Imbarcazione	5.000,00
- Impianti a bordo imbarcazione	1.000,00
- Ceste di allevamento (pre-ingrasso)	3,33
- Ceste di allevamento (ingrasso)	928,03

Le ultime voci di costo, non particolarmente significative, in cui si pone in rilievo il valore della concessione governativa annuale (figura 15).

Scenario 1: ALTRI COSTI

- Oneri finanziari sul capitale investito	323,92
+ Proventi gestione straordinaria	
- Oneri gestione straordinaria	
- Imposte e contributi	2.840,00
- IRPEF - ICI	340,00
- Contributi consortili	
- Concessione governativa	2.500,00

Scenario 2: laguna-mare-mare

Lo scenario 2 prevede il compimento della prima fase di pre-ingrasso in laguna, dopodiché le ostriche sono trasportate nelle "long-line" per terminare le altre fasi.

Di seguito si riportano i risultati dell'analisi che ha utilizzato lo stesso approccio metodologico impiegato per il primo scenario; si ricorda che gli elementi di riferimento ipotizzati e le costanti relative alla gestione rimangono invariate; ovviamente si modificano alcuni valori relativi all'attività condotta in laguna, tra i quali si ricordano:

Il tempo di lavoro rimane uguale; tuttavia, per la fase di pre-ingrasso, le 30 giornate operative richiedono meno tempo e minor consumo di carburante per i viaggi, poiché l'attività è gestita in laguna e non off shore;

E' necessario implementare un costo aggiuntivo relativo all'impianto in laguna;

Il trasporto delle ostriche del sito off-shore non richiede maggior tempo, poiché sono rientra nelle giornate (pari a 110 annuali) stimate per la gestione e il controllo dell'allevamento.

A questo punto si possono presentare le evidenze del conto economico preventivo di questo secondo scenario; si metteranno in luce soprattutto i dati più significativi da comparare con il primo scenario. Si passano in rassegna i singoli valori dei costi di allevamento (figure 16, 17).

Figura 16 - Scenario 2: i COSTI ESTERNI totali

Voci di bilancio	Valore (euro)
- Costi esterni	23.165,15
Materie prime:	
a) prodotti per la produzione	9.334,00
- seme	2.000,00
- carburante	7.334,00
b) operazioni esterne	3.846,15
- depurazione finale	3.846,15
c) servizi di manutenzione	6.975,00
- manutenzione impianto a mare (5,0%)	875,00
- manutenzione impianto in laguna (5,0%)	100,00
- manutenzione imbarcazione (10,0%)	5.000,00
- manutenzione impianti in barca (10,0%)	1.000,00
d) materiali di consumo	3.000,00
- abbigliamento e attrezzi	2.000,00
- prodotti vari	1.000,00
- altro	

Figura 17- Scenario 2: la MANODOPERA

Stipendio mensile netto (euro/mese)	1.500,00
Trattenute alla fonte (euro/mese)	500,00
Oneri previdenziali (36% del lordo) (euro/mese)	920,00
COSTO TOTALE AZIENDALE (euro/mese):	2.920,00
COSTO unitario - 8 ore die per 20 giorni - (euro/ora):	18,25



- Costo del personale aziendale (P)	27.964,38
- personale (numero)	1,50
Fase di pre-ingrasso	821,25
* giorni di lavoro	30,00
* tempo di viaggio (A/R)	0,50
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase di ingrasso	9.855,00
* giorni di lavoro	60,00
* tempo di viaggio (A/R)	3,00
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase di finissaggio	3.285,00
* giorni di lavoro	20,00
* tempo di viaggio (A/R)	3,00
* tempo per gestione impianto	3,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25
Fase "a terra"	4.015,00
* giorni di lavoro	110,00
* tempo per attività "a terra"	2,00
* costo (euro/ora) con contributi	18,25

Figura 18- Scenario 2: AMMORTAMENTI – ALTRI COSTI

Ammortamento beni materiali	8.231,36
- Impianto allevamento a mare	1.166,67
- Impianto allevamento in laguna	133,33
- Imbarcazione	5.000,00
- Impianti a bordo imbarcazione	1.000,00
- Ceste di allevamento (pre-ingrasso)	3,33
- Ceste di allevamento (ingrasso)	928,03

- Oneri finanziari sul capitale investito	329,25
+ Proventi gestione straordinaria	
- Oneri gestione straordinaria	
- Imposte e contributi	2.840,00
- IRPEF - ICI	340,00
- Contributi consortili	
- Concessione governativa	2.500,00

I ricavi di allevamento

Per quanto riguarda i ricavi, l'analisi ha considerato le tipologie di prodotto oggetto della ricerca in base alle indicazioni del progetto "Diversificazione dell'ostricoltura regionale mediante la caratterizzazione qualitativa di due nuove tipologie commerciali di ostrica concava (golden e black) e potenzialità di mercato". Pertanto, saranno tre le ostriche considerate: TRADIZIONALE, GOLDEN e BLACK. La composizione dell'offerta è molto differenziata in relazione sia alla variabilità dei risultati dell'allevamento per le tre tipologie, sia per la richiesta del mercato. A tal proposito si è ipotizzato uno scenario produttivo in cui si combinano le due principali variabili: quantità e prezzo (figura 19). E' idea di tale approccio quello di avere a disposizione un flusso dinamico dei ricavi in grado di fornire un approccio valutativo in cui si interpolano ricavi crescenti con costi di allevamento costanti per le tre tipologie di ostriche.

Figura 19- Dinamica dei potenziali ricavi delle tre varietà allevate

Prezzo di vendita	SAN ANTONIO 33,00%	GOLDEN 33,00%	BLACK 33,00%	Valore totale
(euro/kg)	(euro/anno)	(euro/anno)	(euro/anno)	(euro/anno)
5,00	10.879,12			32.637,36
6,00	13.054,95			39.164,84
7,00	15.230,77			45.692,31
8,00	17.406,59			52.219,78
9,00	19.582,42			58.747,25
10,00	21.758,24			65.274,73
11,00	21.758,24	23.934,07		67.450,55
12,00	21.758,24	26.109,89		69.626,37
13,00	21.758,24	28.285,71		71.802,20
14,00	21.758,24	30.461,54		73.978,02
15,00	21.758,24	32.637,36		76.153,85
16,00	21.758,24	34.813,19		78.329,67
17,00	21.758,24	34.813,19	36.989,01	93.560,44
18,00	21.758,24	34.813,19	39.164,84	95.736,26
19,00	21.758,24	34.813,19	41.340,66	97.912,09
20,00	21.758,24	34.813,19	43.516,48	100.087,91
21,00	21.758,24	34.813,19	45.692,31	102.263,74
22,00	21.758,24	34.813,19	47.868,13	104.439,56
23,00	21.758,24	34.813,19	50.043,96	106.615,38
24,00	21.758,24	34.813,19	52.219,78	108.791,21
25,00	21.758,24	34.813,19	54.395,60	110.967,03

3/3 San Antonio

2/3 San Antonio
1/3 Golden

1/3 San Antonio
1/3 Golden
1/3 Black

Nello specifico si sono assunti i seguenti parametri:

Quantità:

Semina: 200.000 unità;

Mortalità pari al 50%;

Durata della crescita: 12-14 mesi;

Indice di conversione in peso dal numero di semi allevati pari a 13 (cioè ogni ostrica pronta per la vendita raggiunge 70 grammi di peso). Da quanto indicato si ottiene una produzione media durante il periodo di allevamento pari a circa 6.500 kg (il valore è ponderato considerando 14 mesi di allevamento complessivi).

Prezzo:

Il prezzo medio di riferimento per tutto il prodotto da porre sul mercato, in base alle indicazioni ottenute dai produttori, può essere considerato pari a circa 10,00 euro/kg.

Tuttavia ai fini della ricerca si propone un approfondimento che pone in relazione la costante quantità con prezzi variabili al fine di valutare la dinamica dei potenziali ricavi, indicando dove si posizionano le tre tipologie di ostriche come prezzo di vendita; si ricorda che la relazione non può essere lineare, ma il mercato richiede quantità molto difformi di tutte le varietà oggetto di indagine.

I redditi aziendali

A questo punto dell'analisi si hanno a disposizione gli elementi di costo e di ricavo necessari per l'elaborazione degli indici di bilancio semplici e composti per i due scenari produttivi a confronto.

Per questa parte dell'analisi si è considerato ed imputato per i ricavi un valore complessivo pari a circa 70.000,00 euro/anno (dedotti da circa 7.000 kg e un prezzo di 10,00 euro/kg), che può derivare sia dalla vendita di un'unica tipologia di ostriche, sia dalla combinazione di più varietà con prezzi ovviamente distinti.

Dall'elaborazione dei diversi indicatori sono scaturiti alcuni interessanti elementi di riflessione. Si nota, infatti, che l'attività è strettamente collegata al livello delle vendite in grado di coprire i costi di gestione che risultano essere soprattutto quelli relativi alle materie prime di consumo ed alla manodopera, che, si ricorda, è stata considerata un costo esplicito, come pure "fisso", poiché le 110 giornate di gestione dell'allevamento sono necessarie a prescindere dalla produzione ottenuta. Nella maggior parte delle aziende che operano nel settore organizzano le operazioni di allevamento senza la necessità di assumere personale esterno, ma ricoprendo i ruoli delle mansioni con il cosiddetto lavoro "familiare" che non comporta un effettivo esborso monetario. Ai fini della ricerca il lavoro è considerato un "costo opportunità" e, pertanto, deve essere valorizzato in bilancio.

Gli investimenti sono contenuti e questo determina costi di ammortamento ridotti.

Tutti gli indicatori presentati e descritti sono inseriti in "cruscotto" aziendale che diventa lo strumento di facile lettura ed interpretazione per conoscere lo "stato di salute" dell'azienda.

A tale scopo si pone a confronto il "cruscotto" degli indicatori dei due scenari, evidenziando le principali differenze e i vantaggi competitivi nella scelta di una tecnica produttiva rispetto all'altra. Si passano in rassegna i singoli valori del "cruscotto" (figura 20).

Si possono notare alcuni importanti elementi distintivi, riconducibili, tuttavia, alla differenza esistente tra i due scenari per quanto riguarda l'impiego di manodopera, che si riduce notevolmente introducendo la conduzione di una fase in laguna.

L'utile che si è stimato tra i due scenari è presentato utilizzando due approcci:

Al netto del costo del lavoro "figurativo";

Al lordo del costo del lavoro "figurativo".

Si riportano i risultati nel seguente quadro prospettico: si nota che l'utile al netto del lavoro apportato per le operazioni non è particolarmente significativo, addirittura nello scenario 1 diventa negativo.

Ben diversa la valutazione nel caso in cui non si includa il costo del lavoro. Si ricorda che per la riclassificazione del conto economico è stata imputata una voce di costo del lavoro ottenuto imputando per le ore di lavoro apportato un compenso orario lordo pari a 18,25 euro/ora a carico dell'impresa.

Scenario	Utile al netto del costo del lavoro (euro/anno)	Utile al lordo del costo del lavoro (euro/anno)
MARE MARE MARE	Utile/perdita = - 967,03	Utile/perdita = - 967,03 Costo del lavoro = + 34.123,75 Utile/perdita = + 33.156,72
LAGUNA MARE MARE	Utile/perdita = + 7.645,68	Utile/perdita = + 7.645,68 Costo del lavoro = + 27.964,38 Utile/perdita = + 35.610,06

L'utile di impresa dei due scenari (si ricorda al netto della manodopera) è negativo per il primo (circa - 1.000,00 euro) e positivo per il secondo (+ 7.645,68, pari al 11% dei ricavi);

Nel caso in cui il costo della manodopera venisse integrato nel reddito di impresa, il margine supererebbe abbondantemente il 50%;

La differenza tra MOL (margine operativo lordo) e MON (margine operativo netto), non è molto rilevante, proprio perché l'attività non richiede particolari investimenti in immobilizzazioni iniziali e questo comporta un valore contenuto del costo degli ammortamenti.

Figura 20 - Confronto tra «cruscotti» aziendali

Indici di bilancio		Scenario 1			Scenario 2		
		MAR	MAR	MAR	LAG	MAR	MAR
		Pre-ingressi	Ingressi	Fatturaggio	Pre-ingressi	Ingressi	Fatturaggio
INDICATORI DI BILANCIO	= EBITDA - Margine Operativo Lordo (MOL)		10.294,92		19.046,30		
	= EBITA - Margine Operativo Netto (MON)		2.196,89		10.814,93		
	= EBIT		2.196,89		10.814,93		
	= Utile/perdita di gestione		-967,03		7.645,68		
INDICATORI DI REDDITIVITA'	= Redditività del capitale investito - Return On Investment (ROI)		2,32%		11,42%		
	= Redditività del fatturato - (Return on sales - ROS)		3,16%		15,53%		
	= Redditività capitale proprio - (Return on equity - ROE)		-4,09%		32,31%		
INDICATORI DI RISCHIO	= Punto di pareggio (quantità - kg)		7.353,78		5.987,06		
	= Punto di pareggio (prezzo - euro/kg)		10,71		9,40		
	= Livello di sfruttamento (%)		111,53%		90,80%		

Per quanto riguarda gli altri indicatori del "cruscotto" si sottolineano alcune evidenze:

Indicatori di redditività

La redditività dei due scenari è compresa in una forbice tra circa il 2,5% e l'11,5%; si ricorda che lo scostamento tra essi è sempre in funzione della manodopera che è stata considerata un costo esplicito e non "figurativo" come nella realtà di impresa;

Si è ipotizzato che l'investimento iniziale (CI) sia finanziato in parte da capitale esterno (CE) per il 75% e in parte da capitale proprio (CP) per il 25%; questo determina che la redditività di quest'ultimo raggiunge valori molto elevati per lo scenario 2, superando il 32%. Nel primo caso si ricorda che con l'imputazione di un ricavo annuale di 70.000 euro, il valore risulta essere negativo.



Indicatori di rischio

La quantità stimata di produzione annuale è pari a circa 6.500,00 kg (il valore è ponderato in relazione al tempo di maturazione del prodotto finale pari a 14 mesi); lo scenario 1 non presenta risultati positivi e servirebbe più prodotto per la copertura completa di tutti i costi; lo scenario 2, invece, richiede minor prodotto attestandosi intorno a 6.000,00 kg/anno;

Lo stesso approccio lo si può utilizzare per il prezzo; quello di vendita stimato medio è di 10,00 euro/kg ed, anche in questo caso, il prezzo minimo di vendita, affinché i ricavi consentano di essere almeno uguali ai costi totali, è inferiore solo nel secondo scenario (valore di circa 9,40 euro/kg);

Infine, il livello di sicurezza è accettabile, anche in questo caso, solo per il secondo scenario attestandosi intorno al 91% indicando una evidente criticità. Si ricorda che quanto più il valore di questo indicatore si avvicina al 100%, tanto più l'attività è a rischio, in quanto la produzione soddisferebbe solamente la copertura dei costi totali e non determinerebbe profitto.

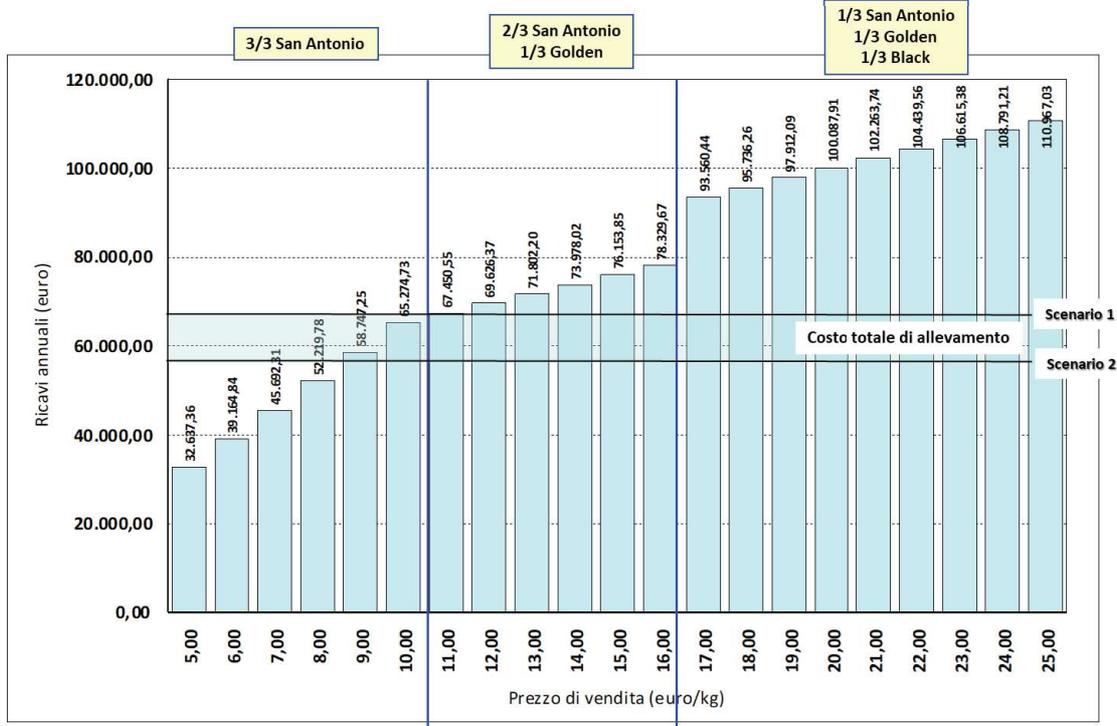
5.5 Analisi dell'incidenza della dinamica dei ricavi sui costi di allevamento

A completamento dell'analisi si è ritenuto importante proporre un'analisi dinamica in cui, considerando un costo totale di allevamento per i due scenari produttivi, si valuta come si inseriscono i diversi livelli di produzione e di vendita per la determinazione della redditività.

Tale approccio è utile per individuare la rischiosità/opportunità dell'attività di ostricoltura nel caso di differenziazione della produzione e, di conseguenza, di un aumento del valore dei ricavi poiché è possibile proporre al mercato alcune varietà ad un prezzo maggiore (figura 21). Si nota chiaramente che la situazione stimata nella precedente parte dell'analisi è riferita a un ammontare di ricavi molto contenuto ed ha determinato una redditività molto ridotta se non addirittura negativa.

Viceversa, introducendo nelle vendite Golden e Black, ad un prezzo più elevato, il reddito di impresa cambia radicalmente, pur mantenendo sempre almeno una quota di 1/3 di San Antonio.

Figura 21 - Confronto tra dinamica crescenti dei ricavi e costo di allevamento degli scenari



In conclusione di questa parte della ricerca, si intende sintetizzare i risultati ottenuti dall'analisi del conto economico preventivo e del relativo "cruscotto" aziendale, elencando le principali evidenze per quanto riguarda punti di forza e criticità dell'attività di impresa.

I commenti e le indicazioni sono riportati in modo prospettivo nella seguente figura 22.

Figura 22 – Alcuni elementi di sintesi: punti di forza e criticità

PUNTI DI FORZA

Innovazione di prodotto
Allevamento complementare ad altre attività (ad esempio, vongole e cozze) per cui possono essere attivati più allevamenti
Costi di investimento contenuti
Tempo di controllo e di gestione dell'allevamento di circa 110 giorni/anno
Mercato ancora in crescita: la domanda supera l'offerta
Utilizzo di aree di allevamento comuni alla produzione di vongole e di cozze

CRITICITA'

Incidenza della mortalità durante l'allevamento elevata
La profittabilità dell'attività è fortemente collegata al livello di mortalità
I costi relativi alla manodopera e alle materie prime sono pressoché «fissi»: le giornate di lavoro per il controllo e la manutenzioni degli impianti sono necessarie a prescindere dal livello produttivo
Valorizzazione del prodotto ancora in «peso» e non in «unità»
Mercato molto polverizzato: piccolo dettaglio e ristorazione
Logistica delle consegne e rete di distribuzione molto frammentata
Prodotto italiano ancora poco conosciuto e apprezzato

5.6 Bibliografia

- Astolfi, Barale, Ricci, (2006), Entriamo in azienda Imprese industriali, Sistema informativo di bilancio e imposizione fiscale, Tomo 1, Edizioni Tramontana.
- Brooks C. (2013), What is EBITDA?, Business News Daily.
- Brunetti G., Coda V., Favotto F. (1990), Analisi, previsioni simulazioni economico-finanziarie d'impresa, Etas Libri, Milano.
- Caramiello C., Di Lazzaro F., Fiori G., (2003), Indici di bilancio. Strumenti per l'analisi della gestione aziendale, Giuffrè Editore, Milano.
- Cavazzoni G. (a cura di) (2002), Elementi di economia aziendale, Giappichelli, Torino.
- Cavazzoni G. (2004), Il sistema di controllo di gestione, Giappichelli, Torino.
- Invernizzi G. (2008), Strategia aziendale e vantaggio competitivo, McGraw-Hill, Milano.
- Troina G. (2003), Lezioni di economia aziendale, CISU, Roma.
- Vergara C. (1992), Le rielaborazioni del bilancio d'esercizio per le analisi economico-finanziarie, Giuffrè, Milano.

6. *Sentiment analysis* sulle ostriche di Goro: analisi tramite software di intelligenza artificiale del posizionamento delle ostriche su web

6.1 Oggetto e metodo dell'analisi

L'analisi ha preso in esame le menzioni di "ostriche" e "ostrica" pubblicate nell'ultimo anno su Facebook, Instagram, Twitter, YouTube e le pagine web.

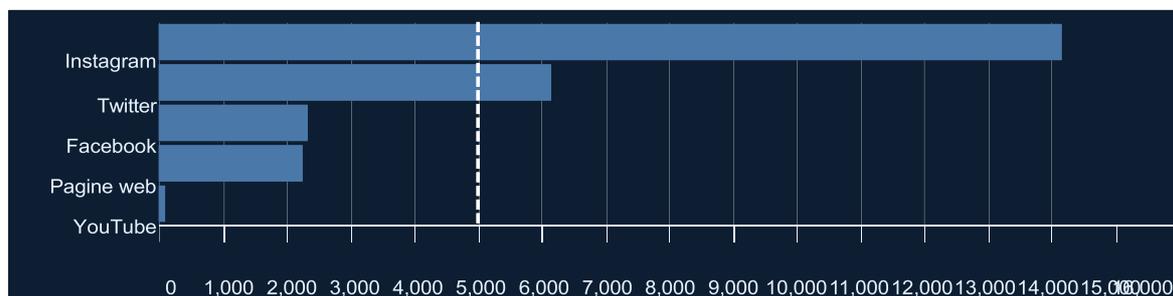
Le menzioni sono state ulteriormente suddivise in funzione della presenza di ulteriori parole chiave, della specificità del riferimento alle ostriche nel testo o nella foto e del tipo di autore.

Le menzioni che contengono le parole "migliore", "migliori", "francese", "francesi", "proprietà", "beneficio", "benefici", "caloria", "calorie", "prezzo", "prezzi", "italiana", "italiane", "esclusività", "territorio", "territori", "ambiente", "ambienti" sono state classificate come **qualificate**.

Le menzioni che si riferiscono alle ostriche in modo specifico, ossia le menzioni in cui le ostriche sono l'oggetto del testo o della foto, sono state classificate come **rilevanti**. Le menzioni qualificate sono state attribuite ad **aziende** oppure a **consumatori**.

Tenendo conto di questa suddivisione, le menzioni sono state analizzate rispetto al loro volume, alle loro parole chiave e ai loro hashtag; le menzioni qualificate e rilevanti sono state inoltre analizzate rispetto ai loro argomenti, al loro sentiment e alle emozioni che suscitano (nel caso delle aziende) o che esprimono (nel caso dei consumatori).

Le menzioni raccolte sono in totale 25026.



La distribuzione delle menzioni è la seguente.

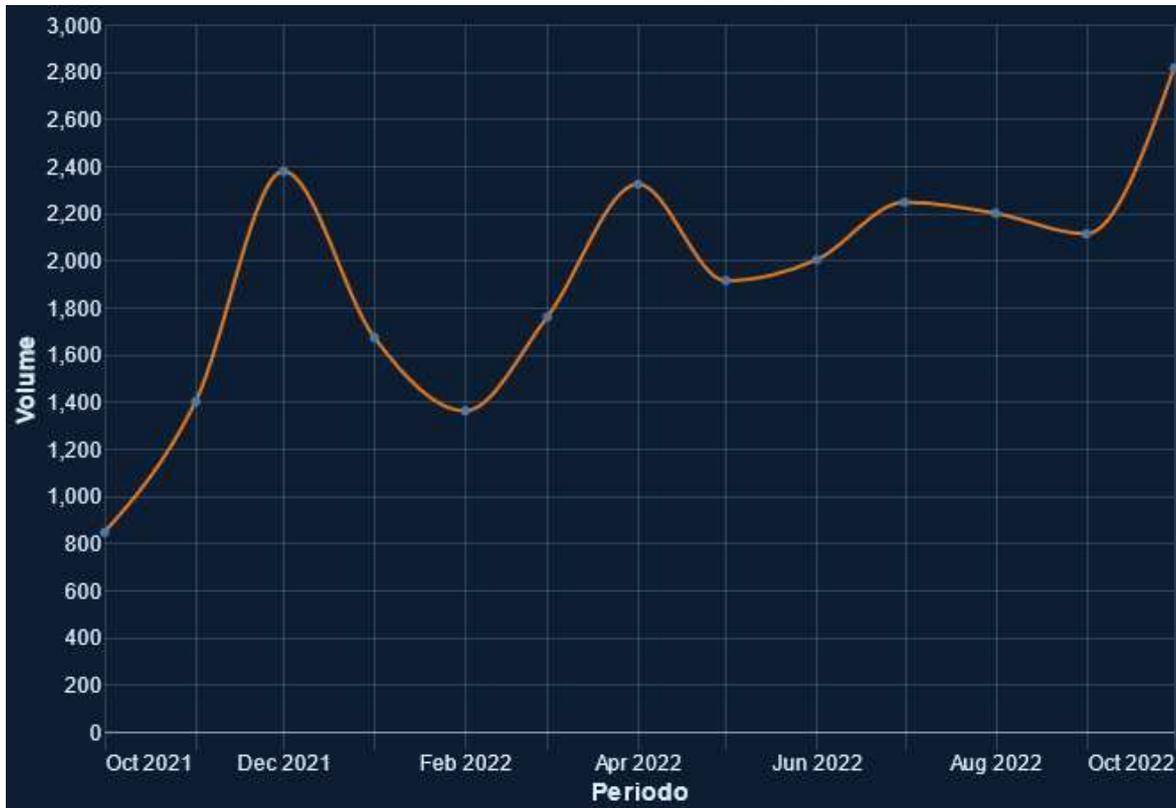
Fonte	Totale	Qualificate	Rilevanti	Aziende	Consumatori
-------	--------	-------------	-----------	---------	-------------



Facebook	2338	248	170	327	28
Instagram	14169	1990	786	2678	670
Twitter	6160	147	140	54	213
YouTube	101	0	0	0	0
Web	2258	259	166	373	60

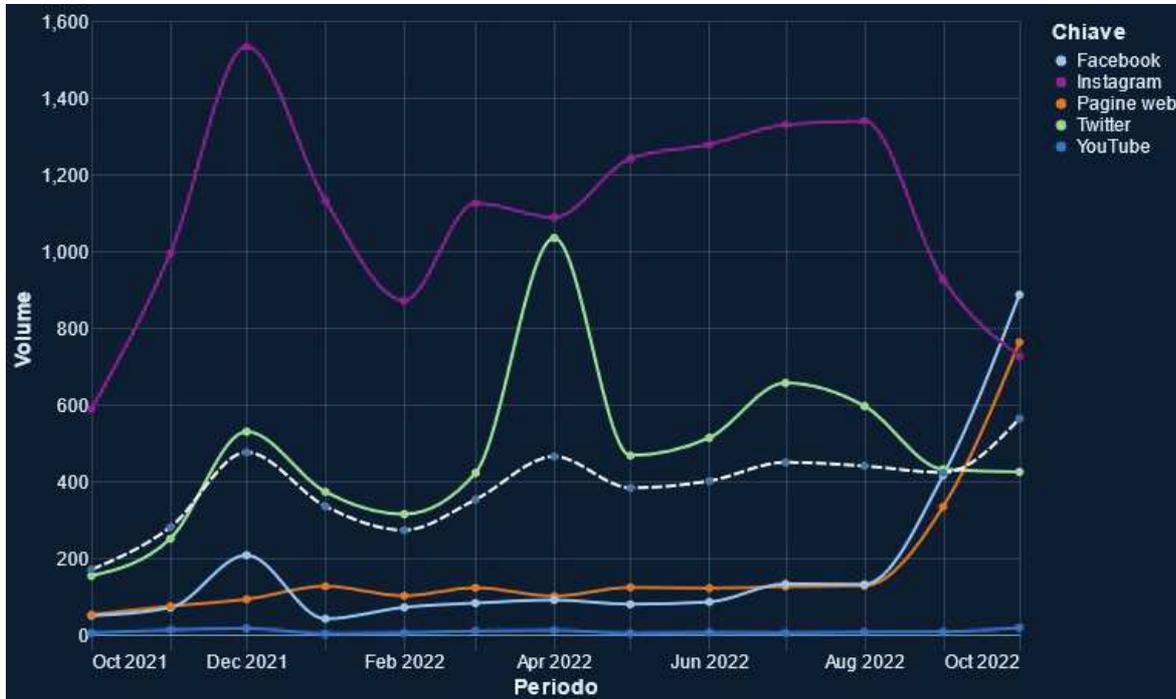
Si osserva che la maggior parte delle menzioni sono concentrate su Instagram. In generale a menzionare le ostriche sono principalmente aziende. Fa eccezione Twitter, che è dominato dalle menzioni dei consumatori. YouTube ha un ruolo del tutto residuale.

Da valutare anche la distribuzione complessiva delle menzioni nel periodo d'interesse, riassunta dal grafico seguente.



I dati suggeriscono un aumento complessivo del volume delle menzioni nei mesi di dicembre e di aprile. Possiamo ipotizzare che questi due picchi siano correlati a un aumento del consumo di ostriche durante le festività di Natale e Pasqua.

Infine, è utile incrociare i dati sulla distribuzione per fonte e quella per periodo. Il grafico mostra la distribuzione delle menzioni disaggregate secondo entrambe le dimensioni.



Nella distribuzione del volume delle recensioni i dati suggeriscono un picco a dicembre per Instagram con 1533 menzioni e un picco ad aprile per Twitter con 1034 menzioni.

Parole chiave, hashtag emoji e argomenti

L'analisi delle parole chiave evidenzia un'ampia presenza di riferimenti al "pesce", specialmente "crudo" e "fresco", e alla "prenotazione" con la relativa disponibilità per "informazioni".

Il risultato è confermato dall'analisi degli hashtag, in cui sono particolarmente frequenti i riferimenti a "pescefresco", "pescecrudo", "crudità" e altri prodotti ittici quali "scampi" e "gamberi" (gli ingredienti del piatto in cui le ostriche ricorrono più spesso, il "plateau royal").

Limitando l'analisi alle menzioni qualificate, le parole chiave e gli hashtag riflettono la modalità della selezione: sono frequenti i riferimenti a "migliore", "italiana", "francese", etc..

Più interessante è quanto emerge dall'analisi delle menzioni qualificate e rilevanti.

In tali menzioni sono frequenti parole chiave specifiche, come "scardovari", "territorio", "ambiente", "benefici", "proprietà", "lucrezia", "ostricoltura" e "grando" (Paolo Grando, l'ostricaro di montagna).



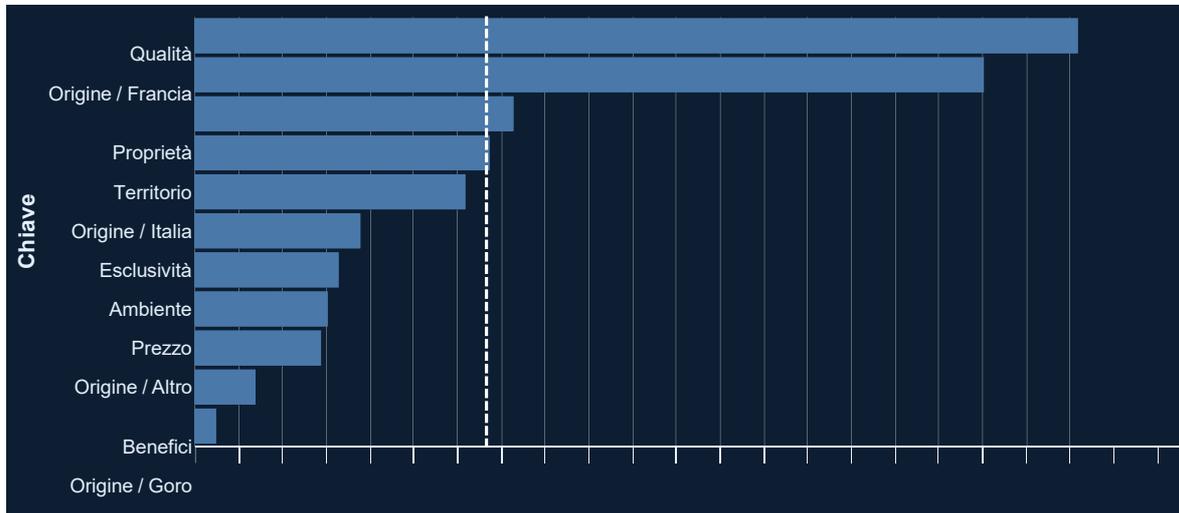
La specificità è confermata dall'analisi degli hashtag, che evidenzia l'importanza di "deltadelpo", "ostrichefrancesi", "ostricaitaliana" e "tarbouriech".

Da valutare anche il dato relativo alle emoji più frequenti.



Le emoji più grandi sono quelle più frequenti. Il word cloud ci suggerisce una forte presenza dell'emoji dell'ostrica, del gambero e del pesce. Questo conferma, anche sotto forma di emoji, oltreché di hashtag, un utilizzo delle ostriche come mezzo per intercettare gli appassionati di piatti pesce e di pesce crudo. La presenza dell'emoji con icolici rimanda all'abbinamento più

Di seguito una tabella che riepiloga la distribuzione degli argomenti su tutte le fonti considerate.



Si osserva che le ostriche vengono spesso menzionate, soprattutto negli hashtag, quando si parla di qualsiasi tipo di pesce crudo. Si può ipotizzare che la menzione abbia la funzione di intercettare chiunque cerchi prodotti ittici, anche più economici: chipromuove le ostriche da un lato spinge sulle eccellenti qualità che vengono attribuite alle ostriche dagli appassionati di prodotti ittici; dall'altro assume che tali appassionati possano essere interessati sia a prodotti di lusso sia a prodotti più economici. Il ristorante include le ostriche nel mercato di massa.

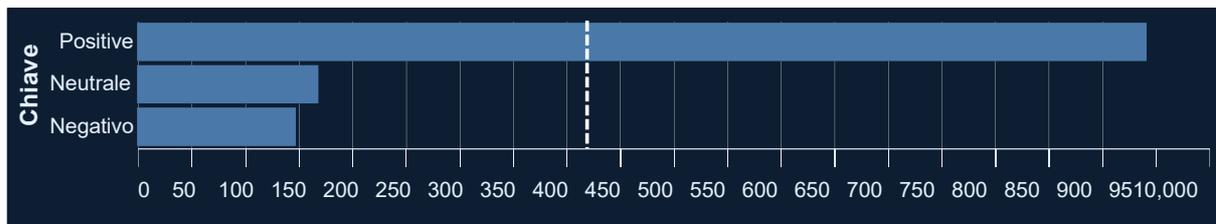
Su Twitter, come vedremo, le menzioni delle ostriche vanno invece ricondotte allo stereotipo dell'ostrica come prodotto di lusso per eccellenza (ostriche e champagne).

Si osserva che nelle menzioni qualificate e rilevanti emerge un legame tra le keyword relative alle qualità organolettiche delle ostriche e quelle relative al territorio e alla produzione. Ciò conferma la consapevolezza che le caratteristiche dell'ambiente hanno un'influenza diretta sul gusto delle ostriche.

Si annota, infine, che l'ostrica di Goro compare complessivamente in tutto il dataset 10 volte. A scopo di confronto, le ostriche francesi sono menzionate 361 volte mentre quelle italiane 126. Le menzioni dell'ostrica di Goro sono contenute prevalentemente in annunci pubblicitari, "Il tuo prodotto perfetto per il tuo ristorante e pescheria?"

OSTRICA CONCAVA allevata a GORO 🛒" e in siti d'informazione enogastronomica "L'Emilia-Romagna, territorio dalle forti radici contadine, offre, però, anche ottimi pro-dotti di mare come vongole veraci, cozze e ostriche, che si potranno conoscere da vicino grazie al consorzio pescatori di Goro".

Sentiment ed emozioni



L'analisi del sentiment segnala una larghissima prevalenza delle menzioni positive, sia rispetto al sentiment sia rispetto alle emozioni.

In particolare tutti i post delle aziende, coerentemente con la loro finalità promozionale, hanno un sentiment positivo e veicolano gioia. Spesso veicolano anche emozioni legate all'anticipazione (i lettori sono invitati a pregustare l'esperienza del consumo delle ostriche) e alla sorpresa (ai lettori si preannuncia la scoperta di nuovi sapori).

I post dei consumatori sulle piattaforme diverse da Twitter sono anch'essi positivi e mostrano di recepire l'invito delle aziende: esprimono gioia ed emozioni quali la trepidazione e la meraviglia.

Su Twitter la situazione è diversa. Il riferimento allo stereotipo dell'ostrica è solitamente strumentale: serve a polemizzare con politici, imprenditori, influencer e ad accusarli di vivere enfatizzando continuamente il loro status privilegiato, caratterizzato appunto da ostriche e champagne. Il sentiment è di conseguenza negativo e tra le emozioni prevale la rabbia.

Influencer

La tabella seguente riporta gli utenti autori di più contenuti tra quelli raccolti.

Fonte	1°	2°	3°
Instagram	Giuseppe Catalano	Paolo Grando	Carlo Ledda
Facebook	Oyster Oasis	Co.Pe.Go	Finittica
Twitter	Graziella C.	Pesceinrete	Report Gourmet
Web	tellaroitaly	iloveostrica	horecanews

Si osserva che su Instagram gli utenti più attivi sono ristoratori e cuochi. I secondi, pur pubblicando nell'interesse delle loro attività, si presentano come individui.



Su Facebook e sul web gli utenti più rappresentanti sono produttori e distributori di ostriche. Twitter, infine, tra gli autori più attivi si trovano due organi d'informazione.

Ferrara, 31 gennaio 2023

Firma del Responsabile scientifico

Prof.ssa Elena Tamburini

Firma del Legale Rappresentante

Prof.ssa Olga Bortolini

(Firmato digitalmente)