



Giovedì 4 dicembre 2014

Seminario

“Produzioni semintensive di giovanili di specie ittiche marine per l’innovazione nelle produzioni biologiche”

CRA - Via del Caravita 7A - Roma



MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE
ALIMENTARI E FORESTALI



Il monitoraggio della qualità larvale e dei giovanili prodotti in condizioni biologiche

*Boglione C., Prestinicola L., Russo T.
Università di Roma ‘Tor Vergata’*

Hanno partecipato al programma di ricerca :

Univ. Tor Vergata

Stefano CATAUDELLA

Michele SCARDI

Clara BOGLIONE

Irene FERRANTE (ora *ARPA Lazio*)

Maurizio FRAZIANO

Emanuela GRECO

Tommaso RUSSO

Loredana PRESTINICOLA

Domitilla PULCINI (ora

CRA)

Valerio VITALINI (ora
Piscicoltura Golfo di Gaeta SCArI)

CRA

Elena ORBAN

Acquacoltura Lampedusa Srl

Andrea CONSIGLIO

Daniele CONSIGLIO

PROSEGAB

PROduzioni **SE**mintensive di
Giovanili di specie marine da
Acquacoltura **B**iologica (*Sparus
aurata* come caso di studio)

Responsabile scientifico:
Prof. S. Cataudella

Progetto finanziato nell'ambito del Programma di Azione Nazionale per l'Agricoltura Biologica e i prodotti biologici per l'anno 2008-2009. Asse 2, Azione 2.2.

Decreto Ministeriale n. 18518 del 25.11.10

Riferimenti legislativi

➤ **Reg. 834/2007 - agricoltura biologica**

norme attuative:

- **Reg. 889/2008 - agricoltura biologica** (*produzione biologica, etichettatura e controlli*)
 - **Reg. 710/2009 - acquacoltura biologica** (*mod. reg. 889*)
 - **Reg. 56/2013 - riammissione dell'utilizzo di PAP**
- in corso (o appena terminata) la raccolta da parte della Commissione delle proposte di modifica del Reg. 710

Reg. CE 710/2009: Riproduttori biologici

- **Punto 9:** *“Poiché la produzione di animali di acquacoltura biologica è appena agli esordi, non si dispone ancora di riproduttori biologici in quantità sufficiente. Si deve consentire, a determinate condizioni, l’introduzione di riproduttori e novellame non biologici.”*

- **Art. 25 sexies** (Origine e gestione degli animali di acquacoltura non biologici)
 - comma 1 recita: *“A fini riproduttivi o per migliorare il patrimonio genetico e in mancanza di animali di acquacoltura biologici, possono essere introdotti in un’azienda animali selvatici catturati o animali di acquacoltura non biologici. Questi animali sono allevati in regime di produzione biologica per almeno tre mesi prima di essere utilizzati per la riproduzione.”*

Reg. CE 710/2009: settore avannotteria

- **comma 2:** a fini di ingrasso e in mancanza di novellame biologico, può essere introdotto in un'azienda del *novellame non biologico*. Almeno gli ultimi due terzi del ciclo di produzione si svolgono in regime di produzione biologica.
- **comma 3:** la percentuale massima di novellame non biologico introdotto nell'allevamento è pari all'80 % entro il 31 dicembre 2011, al 50 % entro il 31 dicembre 2013 e allo **0 % entro il 31 dicembre 2015;**
- **comma 4:** la raccolta di novellame selvatico a fini di ingrasso è tassativamente limitata ai seguenti casi:
 - a) immissione spontanea di larve e di avannotti di pesci o di crostacei **al momento del riempimento** degli stagni, degli impianti di contenimento e dei recinti;
 - b) **anguilla ceca europea**, a condizione che sia stato approvato un piano di gestione dell'anguilla per il sito interessato e che la riproduzione artificiale dell'anguilla rimanga impraticabile

Schema sperimentale



riproduttori convenzionali

uova convenzionali



campionamento



riproduttori biologici

uova biologiche



Vasca 8 GV



Vasca P4 intensivo



Vasca P7 intensivo



Vasca 4: GV

campionamento

Giovanili svezzati: fine della sperimentazione

campionamento

giovanili convenzionali
grandi volumi intensivi

giovanili biologici
intensivi grandi volumi

Con lo scopo di

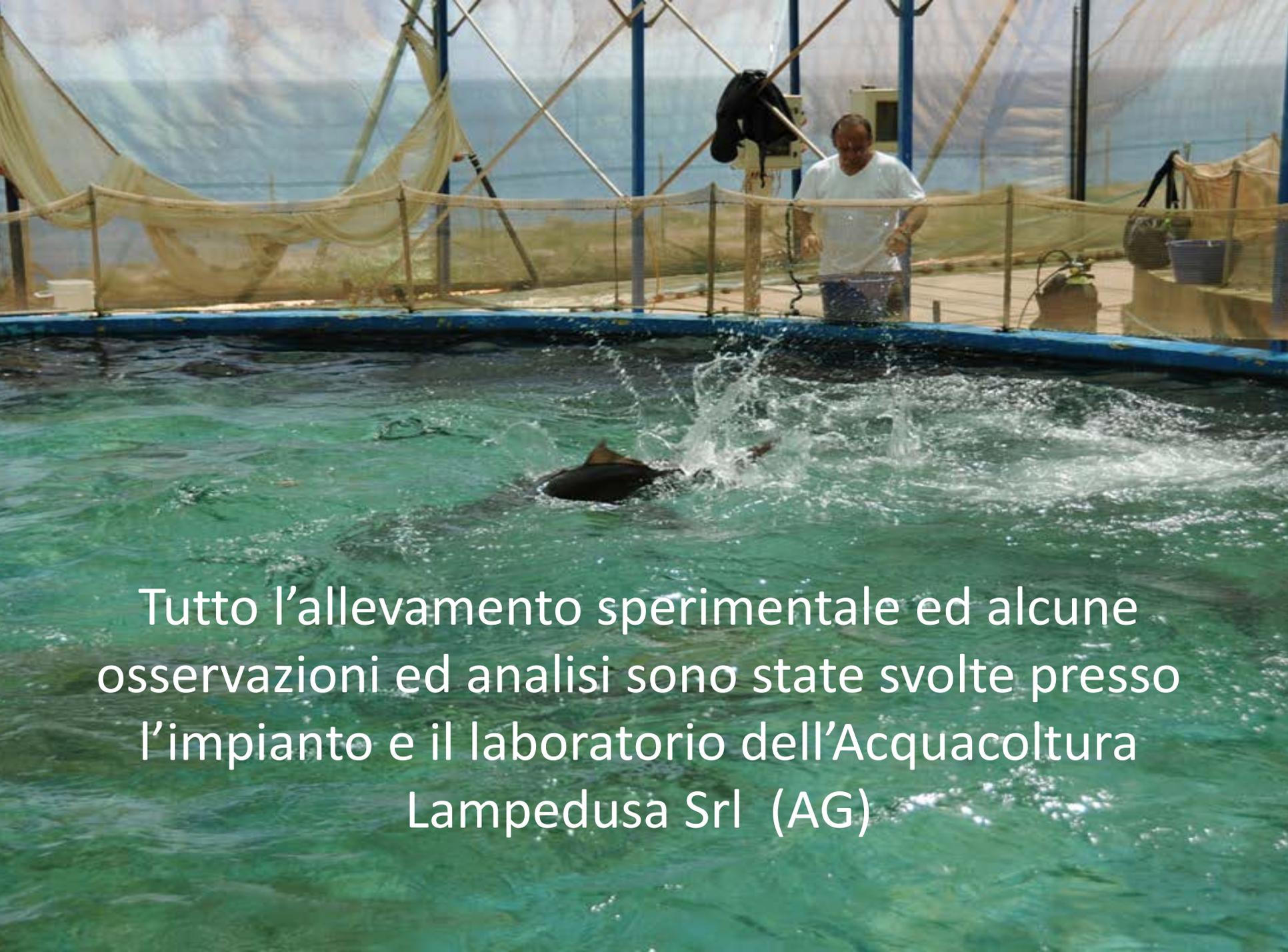
disporre di un set di dati relativi ad allevamento intensivo e semi-intensivo di larve e giovanili di orata per valutare gli effetti

1. **dell'alimentazione biologica dei riproduttori**
2. **dei volumi e della densità durante l'allevamento larvale utilizzando un monitoraggio "multicriterio" di controllo**

al fine di

- a) contribuire alla **costruzione di un protocollo per le avannotterie biologiche** di specie ittiche marine
- b) chiarire, con un caso di studio, **l'applicazione dei principi del biologico sulla produzione di novellame**, capitolo ancora incerto del regolamento, suscettibile di evoluzione nei prossimi anni

1. Ottenimento di uova
“biologiche” di orata (*Sparus
aurata*) e rilevamento e analisi
della qualità ‘produttiva’, fisiologica
e morfologica



Tutto l'allevamento sperimentale ed alcune osservazioni ed analisi sono state svolte presso l'impianto e il laboratorio dell'Acquacoltura Lampedusa Srl (AG)

Alimentazione "biologica" e convenzionale dei riproduttori: inizio della sperimentazione



OC1: riproduttori convenzionali



OB1: riproduttori biologici

34 **individui** (peso medio 2 kg) /vasca
2 vasche 3mx7mx1,5m (30 m³)

Densità 2,7 kg/m³ (densità massima Reg. CE 710/09: 15 kg/m³)

sex ratio 1:1

Ricambio: >100% con acqua di mare (stessa **temperatura**)

Fotoperiodo naturale

O₂: 6 - 8 ppm

A PARTIRE DAL 17/10/2011

3 -5 % biomassa

gamberi ed alacce
decongelati e sminuzzati

mangime biologico
specifico per l'ingrasso
dell'orata: Ecolife Pearl
864 6,5 mm (Biomar)*

16 dicembre 2011: **inizio riproduzione SPONTANEA** →: 17,5°C < T acqua > 18°C

Fine riproduzione: marzo 2012

60 kg ← ← ← ← ← ← **Totale uova emesse** → → → → → → **48 kg**

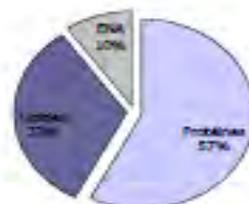
*certificazione biologica ISO, GLOBALG.A.P., e QUALITÉ-FRANCE (attualmente fuori produzione)

DECLARATION	1.9 mm	3.0 mm	4.5mm	6.5mm
Protéines brutes (%)	48,0	48,0	46,0	46,0
Lipides bruts (%)	15,0	15,0	15,0	15,0
Extrait non azoté (%)	14,5	14,5	17,0	17,0
Cellulose brute (%)	1,4	1,4	1,4	1,4
Cendres (%)	12,2	12,2	11,6	11,6
Phosphore total (%)	1,7	1,7	1,6	1,6
Energie brute (MJ/kg)	19,8	19,8	19,7	19,7
Energie digestible (MJ/kg)*	17,1	17,1	17,0	17,0
Protéines Digestibles/Energie Digestible (g/MJ)	25,3	25,3	24,3	24,3
Vitamine A - ajoutée (U.I./kg)	7500	7500	7500	7500
Vitamine D3 - ajoutée (U.I./kg)	1500	1500	1500	1500
Vitamine E - ajoutée (mg/kg)	270	270	270	270
Vitamine C - ajoutée (mg/kg)	530	530	530	530
Nombre de granulés par kg - indicatif	125000	35000	12500	4200

*ED calculée sur protéines, lipides et amidon

Caractéristiques produit: **4.5mm**

Distribution énergie digestible

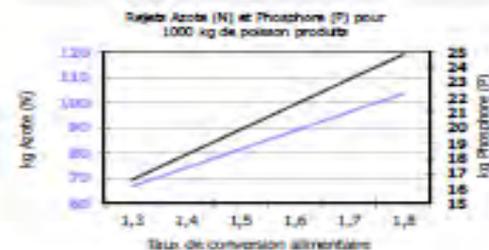


Composition

Farine de poisson
Pois biologique
Tourteau de soja bio
Huile de poisson
Vitamines et minéraux

OGM inférieurs à 0,5%

Déclaration écologique



En fonction de l'usine de production et des variations naturelles dans les matières premières, les informations sur les hydrates de carbone, les fibres, les cendres et la composition peuvent varier. Conserver dans un endroit aéré, frais et sec. **Voir l'étiquette pour plus d'information et composition exacte.**

Cet aliment est certifié conforme aux Règlements Européens (EC) no. 854/2007 et 883/2008 et règlements liés, par QUALITE FRANCE (FR-820 10)

Table de Nourrissage Indicative (kg aliment par jour pour 100 kg de poisson)

deposizione: 29 febbraio 2012

Valutazione della qualità morfologica delle uova alla deposizione

Dati morfometrici

Lotto	Peso medio (mg)	Diametro medio uovo (mm)	Diametro medio tuorlo (mm)	Spazio perivitellino (media ± err. st; mm)
OC1	1,15	1,1	0,8	0,4±0,3
OB1	0,96	1,0	0,7	0,3±0,2

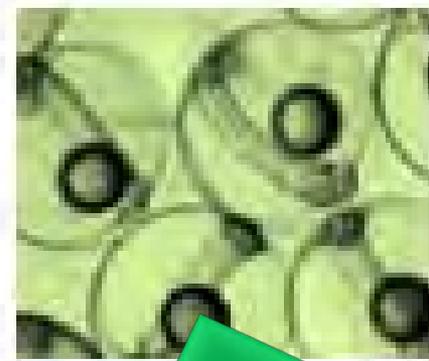
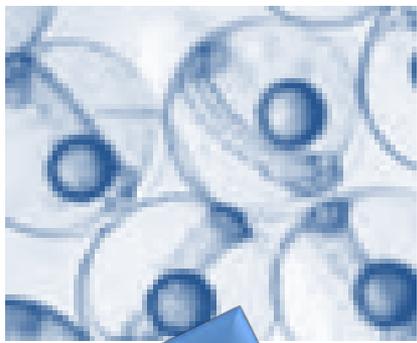
Stadiazione ontogenetica

Lotto	Stadio non identificabile (%)	Blastula (%)	Morula (%)	Embriogenesi avanzata (%)
OC1	27,1	0	71,2	1,7
OB1	10,1	30,3	23,2	37,4

Dati relativi alle gocce lipidiche

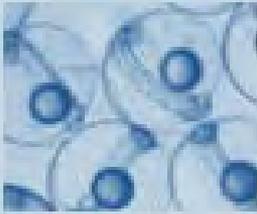
Lotto	Mediana n. gocce	Media diametro maggiore goccia (mm)
OC1	1	0,2
OB1	1	0,2

deposizione: 29 febbraio 2012



Valutazione della qualità “fisiologica” delle uova

- ❑ *Misura del contenuto nelle uova di alcuni metaboliti principali: contenuto di trigliceridi più che doppio nelle uova provenienti da riproduttori convenzionali*
- ❑ *Misura della frazione lipidica nelle uova: nelle uova biologiche contenuto più elevato per lipidi (colesterolo, squalene ed α -tocoferolo), C22:1 n-11 (ac. cetoleico), C18:2 n-6 (ac. linoleico), C18:3 n-3 (ac. α -linolenico) e C20:4 n-6 (ac. arachidonico)*



Embrioschiuditoi da
520 litri ciascuno



SCHIUSA: 2 marzo 2012

schioditoio	% di schiusa
S5	87,7
S6	88,9

uova convenzionali

schioditoio	% di schiusa
S7	86,9
S8	85,2

uova biologiche

Differenze nella qualità delle uova ottenute: sintesi

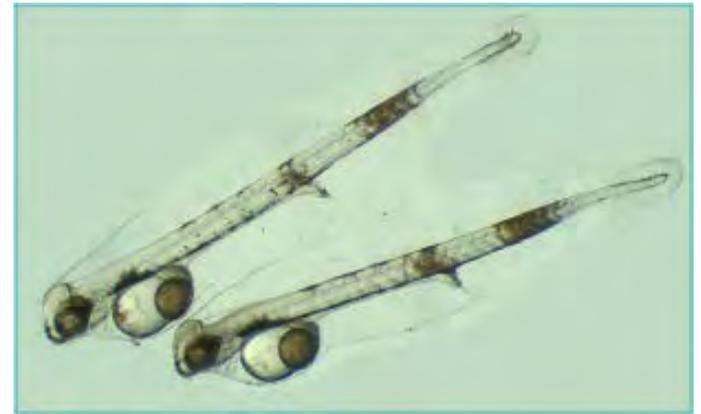
Uova da riproduttori biologici vs riproduttori convenzionali

- inferiore tasso di fertilità
- inferiore qualità morfologica
- carenze nel contenuto di alcuni acidi grassi insaturi essenziali nel tuorlo
- inferiore tasso di schiusa

?

carezza sul mercato di mangimi per riproduttori marini in regime biologico

necessità di riformulare l'elenco delle materie prime utilizzabili in regime biologico tenendo conto delle diverse peculiarità nutrizionali tra Teleostei d'acqua dolce e marini



2. Allevamento larvale in regime biologico di orata: analisi degli effetti del volume delle vasche e della densità di stoccaggio sulla qualità delle larve

SCHIUSA: 2 marzo 2012

INIZIO ALLEVAMENTO LARVALE: 4 marzo 2012



grandi volumi	intensivo	Tipologia	intensivo	grandi volumi
70	8	Volume (m³)	8	70
S5	S6	Origine	S7	S8
20	142	Densità (larve/lt)	142	20

postlarve convenzionali

postlarve biologiche

fine aprile → → → → → → → → inizio maggio

Rotiferi → → → → → → → → Artemia sp.



FINE DELLA FASE DI ALLEVAMENTO LARVALE



Vasca 8 GV



Vasca P4 intensivo



Vasca P7 intensivo



Vasca 4: GV

grandi volumi
14,9 %

intensivo
14,4 %

survival
rate

intensivo
15 %

grandi volumi
14,4 %

Assenza di differenze nel tasso di sopravvivenza larvale

postlarve convenzionali
grandi volumi intensivi

postlarve biologiche
intensivi grandi volumi

3. Allevamento larvale in regime
biologico di orata:
svezzamento al mangime artificiale

postlarve convenzionali
grandi volumi



intensivo



postlarve biologiche
grandi volumi

intensivo



grandi volumi



Raceways



SL6 terra grandi volumi	SL6 mare "intensivo"	Vasca	SC8 "intensivo"	SL6 centro grandi volumi
20	20	Volume (m ³)	13	20
V8	VP4	Origine	VP7	V4
0,3	1,25	Densità (larve/lt)	1,75	0,3

Il giorno 20 di giugno, fine del periodo di svezzamento, è finito l'allevamento sperimentale



giovani convenzionali
grandi volumi

"intensivo"

giovani biologici
"intensivo"

grandi volumi

Dati relativi alla crescita (media ± er. st.)

		LS (mm)	W (g)	K (medio)	AGR
60 gds	gen BIO - GV	13,6±1,4	0,03±0,01^a	1,75^a	
	gen BIO - intens	13,9±1,3	0,05±0,02^b	1,89^b	
	gen conv - GV	17,2±1,7^a	0,08±0,1	2,82	
	gen conv - intens	14,4±1,3^b	0,04±0,01	1,80	
111 gds	gen BIO-GV	31,1±5,9	0,75±0,43	2,26^a	1,41
	gen BIO - intens	30,8±5,8	0,78±0,48	2,15^b	1,31
	gen conv - GV	32,9±5,6	0,88±0,45	2,27^a	1,57
	gds gen conv - intens	28,9±6,4	0,62±0,51	2,19^b	1,13

Lettere diverse indicano la presenza di differenze significative ($p < 0.01$) in alcuni parametri tra coppie di lotti provenienti dallo stesso lotto di uova. Ai dati con distribuzione normale è stato applicato il t-test per campioni indipendenti, mentre ai dati con distribuzione non parametrica il Mann-Whitney U test

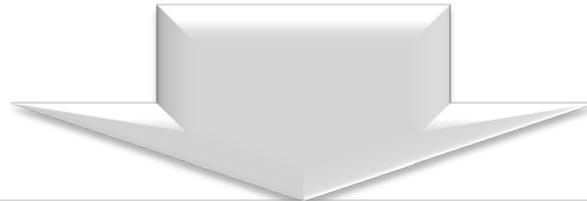
Differenze significative per il fattore K e LS tra i gruppi convenzionali alla fine dell'allevamento larvale

Dati “fisiologici”

- **Cortisolo:** le **uova biologiche ne presentavano un livello doppio** di quello rilevato nelle convenzionali, ma questo effetto materno non è stato più osservato nelle larve o nei giovanili → **effetto della dieta** sul livello nel siero di trigliceridi e colesterolo (Sandnes et al., 1988).
- **Glucosio: valore più basso** (29,62 vs \approx 43 mg/dL degli altri lotti) nelle postlarve convenzionali ed **allevate in Grandi Volumi**.
- **Livello di proteine totali nel plasma: più elevato** alla fine della fase sperimentale in tutti i **lotti intensivi**, a prescindere dall'alimentazione somministrata ai riproduttori
- → presenti a elevati livelli in condizioni di **stress cronico** (Wendelaar Bonga, 1997)

Valutazione dello stato di immunocompetenza (60 gds)

- contenuto in ROIs (*Reactive Oxygen Intermediates*) significativamente **più elevato ($p < 0.05$) nel gruppo di postlarve allevate con la tecnica dei grandi volumi, a prescindere dal regime alimentare dei riproduttori**
- non sono state riscontrate differenze tra i due lotti allevati con la tecnica dei grandi volumi, quali che fossero i riproduttori.



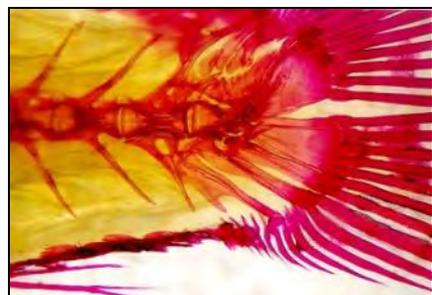
caratteristica benefica: la sostituzione di grassi di origine animale con olii di origine vegetale contenenti livelli elevati di acidi grassi n-6 può indurre degli squilibri nella risposta immunitaria nei pesci, abbassandone il potenziale di risposta ad infezioni (Montero et al., 2010).

Valutazione dell'incidenza delle anomalie scheletriche (a 60 e 110 gds)

L. Prestinicola



Gli stress ambientali durante i processi di sviluppo ontogenetici possono superare la capacità omeoretica dell'individuo di tamponare l'instabilità di sviluppo



Traiettorie di sviluppo anomale

Lo sviluppo di caratteri morfologici anomali (deformazioni scheletriche, caratteri meristici alterati, ...) ha una base genetica, ma può anche essere una conseguenza di condizioni ambientali differenti da quelle ottimali stadio- e specie-specifiche.

Le anomalie scheletriche nei giovanili

rappresentano uno dei 'colli di bottiglia' maggiormente ricorrenti nelle produzioni ittiche.

Nei pesci, le anomalie scheletriche possono insorgere durante l'intero ciclo vitale degli individui.

La loro insorgenza è molto spesso 'mascherata': lievi aberrazioni degli elementi interni possono trasformarsi nel tempo in anomalie più gravi, che in alcuni casi modificano anche la forma del corpo.

Conseguenze economiche:

- ✓ I pesci deformati inducono diffidenza da parte dei consumatori verso i prodotti da acquacoltura.
- ✓ I pesci devono essere periodicamente monitorati per rimuovere gli individui anomali (60% nelle produzioni intensive – *dati FEAP*).
- ✓ La perdita annuale stimata per l'Acquacoltura europea è più di € 50,000,000 / anno (*Hough, 2009*)
- ✓ I pesci deformati hanno una crescita più lenta e sono maggiormente sensibili ai patogeni.

Conseguenze etiche: Benessere degli animali allevati (*CCRF, FAO 1995*)

Situazione attuale

- ✓ Dagli anni '70, le stesse anomalie sono osservate in giovanili.
- ✓ Nessuna filiera produttiva può vantare l'assenza di individui anomali.
- ✓ L'incidenza delle anomalie scheletriche è altamente variabile: le frequenze di pesci con anomalie più o meno gravi fluttua tra il 15 e il 100%.



Stato dell'arte

I gruppi di controllo hanno sempre un'elevata presenza di individui anomali

FATTORI AMBIENTALI DIVERSI

stessa anomalia in differenti
coorti della stessa specie
(Kause et al., 2007)

stessa anomalia in
differenti specie

effetto sinergico
(Sfakianakis et al., 2006)

STESSO FATTORE AMBIENTALE

differenti malformazioni in differenti specie
(Boglione and Costa, 2011)

SENSIBILITA' DEI PESCI AI FATTORI AMBIENTALI

Varia:

Fasi dell'ontogenesi
(Mazurais et al., 2009)

Elementi ossei uguali e con gli
stessi processi di ossificazione
(Fernández and Gisbert, 2011)

Regioni del corpo
(Koumoundouros, 2010)

Lo sviluppo scheletrico è controllato da diversi fattori:

✓ Genetici

per es. ormoni (ormone tiroideo, paratiroideo, calcitonina, ...), fattori di crescita, (BMPs),

✓ Ambientali

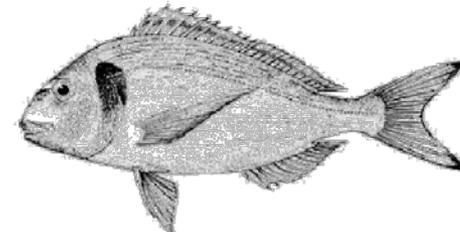
- interni

pathway meccano-regolatori (*Prendergast et al., 2007*) (vescica natatoria, muscolatura, condizioni di crescita rapida ...)

- esterni

fattori biotici e abiotici (temperatura, ossigeno, nutrizione, parassiti, densità, ...)

✓ **Totale individui osservati:**



**Campioni al termine
dell'allevamento
larvale**

Vasca	GDS	n. individui
intensivo – gen. conv	60	100
intensivo – gen. biol.	60	100
GV – gen. conv.	61	100
GV – gen. biol.	61	100

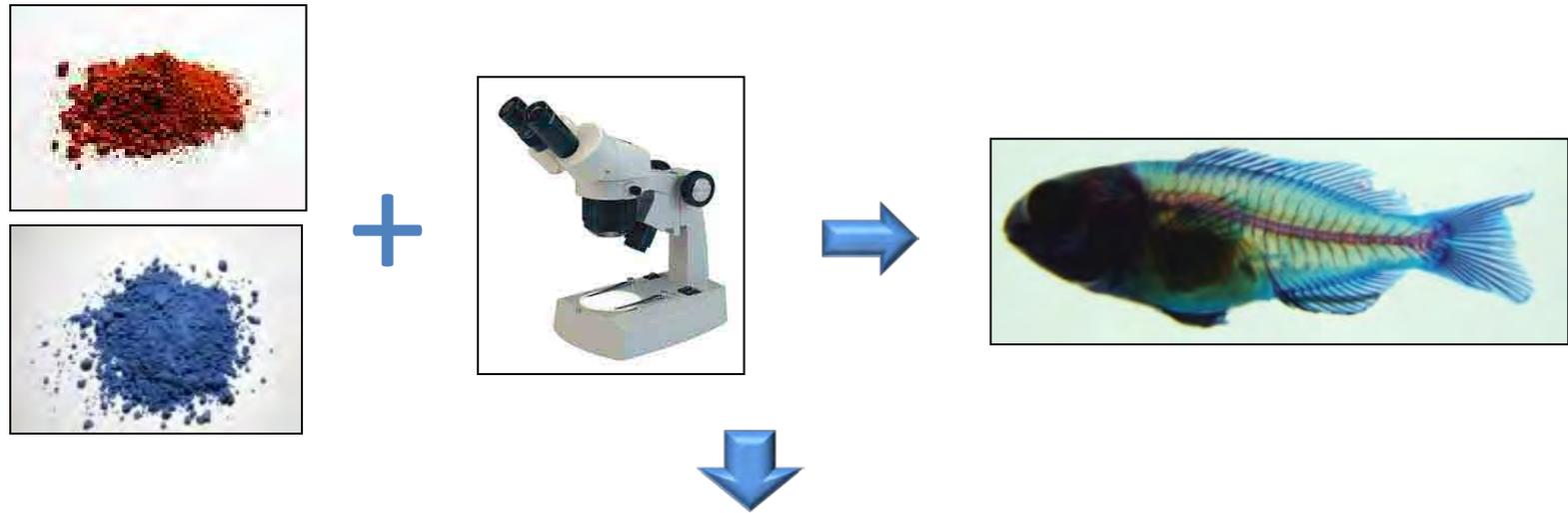
**Campioni al termine
della fase di
svezzamento**

Vasca	GDS	n. individui
intensivo – gen. conv	111	100
intensivo – gen. biol.	111	100
GV – gen. conv.	111	100
GV – gen. biol.	111	100

✓ **Caratteristiche lotti selvatici di riferimento:**

	wild1	wild2	wild3	wild4
n. individui	72	88	41	60
media	19,9	19,8	38,1	58,1
min	9,5	11,5	25	52
max	49	44	43	70
err. st.	8,06	7,17	3,52	4,10

- ✓ I campioni sono stati fissati in formalina 10% in tampone fosfato (pH 7.2, 0.15 M)
- ✓ Colorati *in toto* per tessuto osseo (rosso alizarina) e cartilagineo (blu alcian)(*Dingerkus e Uhler, 1977*)



Conte meristiche

(vertebre, raggi e supporti degli elementi delle pinne, ossa predorsale)

Anomalie scheletriche

(*Harder, 1975; Matsuoka, 1987; Schultze and Arrantia, 1989*)

Analisi delle corrispondenze
(12 lotti X 50 anomalie)

				P. caudale		P. anale		P. dorsale				P. pettorale				P. pelvica		Raggi dx		
<i>60/61 gds</i>		Variazioni delle CM indotte da condizioni di allevamento larvale (fine della fase di avannotteria)																		
BIOLOGICO	GV - gen bio	Mediana	24	6	4	9	8	13	15	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	3	8	7	12	14	3	9	10	12	12	13	14	3	4	5	5
		Max	25	6	5	9	9	15	17	3	12	13	14	15	16	16	5	5	6	6
	int- gen bio	Mediana	24	6	5	9	8	13	15	3	10	11	13	14	14	14	4	4	6	6
		Min	23	4	3	8	7	13	14	2	8	9	12	13	14	13	4	4	6	6
		Max	25	6	6	9	9	14	16	3	11	12	14	15	16	15	4	4	6	6
CONVENZIONALE	GV - gen conv	Mediana	24	6	5	9	8	13	15	3	10	11	12	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	3	9	7	8	12	2	4	5	9	11	11	7	4	4	5	5
		Max	25	6	6	10	9	15	17	4	11	11	14	16	16	16	5	5	6	6
	int- gen conv	Mediana	25	6	4	9	8	14	16	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	3	8	7	13	15	3	9	10	12	13	14	14	4	4	6	5
		Max	25	6	6	9	9	15	17	4	10	11	15	16	15	15	4	4	6	6

				Pinna caudale		P. anale		Pinna dorsale				Pinna pettorale				P. pelvica		Raggi dx		
<i>111 gds</i>		Maggiori variazioni nei valori di mediana all'interno del protocollo convenzionale piuttosto che in quello biologico.																		
BIOLOGICO	GV - gen bio	Mediana	24	6	3	9	8	13	15	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	2	9	8	13	15	2	9	11	12	13	14	14	4	3	6	6
		Max	25	7	5	9	8	15	17	5	12	13	14	15	16	16	4	4	6	6
	int - gen bio	Mediana	24	6	4	9	8	13	15	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	2	8	7	12	15	3	8	4	12	13	13	14	4	4	6	6
		Max	25	7	6	9	9	15	16	4	11	12	14	15	16	16	4	4	6	6
CONVENZIONALE	GV - gen conv	Mediana	24	6	4	9	8	13	15	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	23	4	2	8	7	13	14	3	9	10	11	13	14	14	3	3	6	6
		Max	25	6	5	9	8	15	17	3	11	12	14	15	16	16	4	4	6	6
	Int - gen conv	Mediana	24	6	4	9	8	14	16	3	10	11	13	14	15	15	4	4	6	6
		Min	24	4	2	8	8	13	14	3	9	10	12	13	14	14	4	4	6	6
		Max	25	6	6	10	9	16	18	3	11	13	14	15	16	16	4	4	8	6

Risultati generali del monitoraggio delle anomalie alla fine dell'allevamento larvale (60/61 gds)

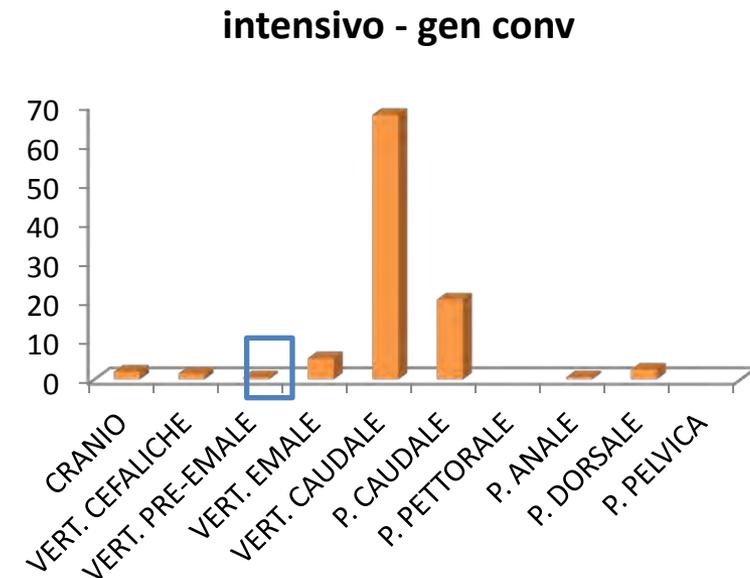
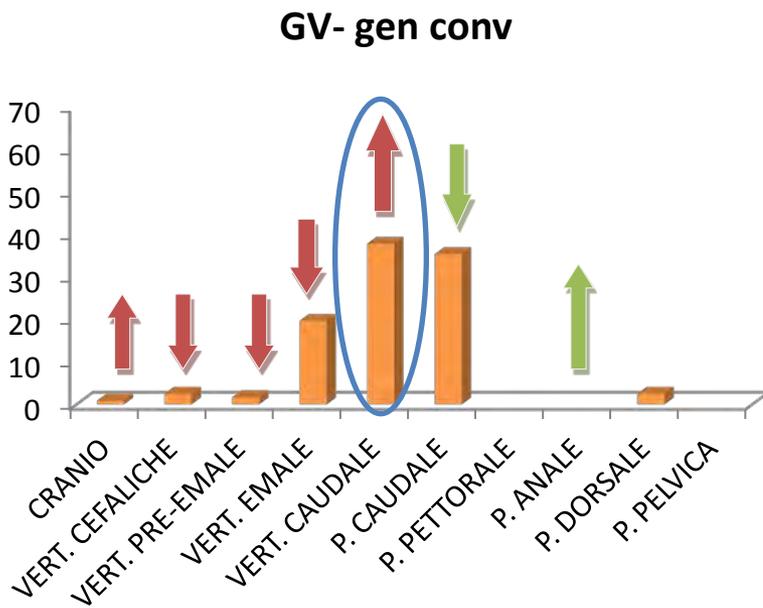
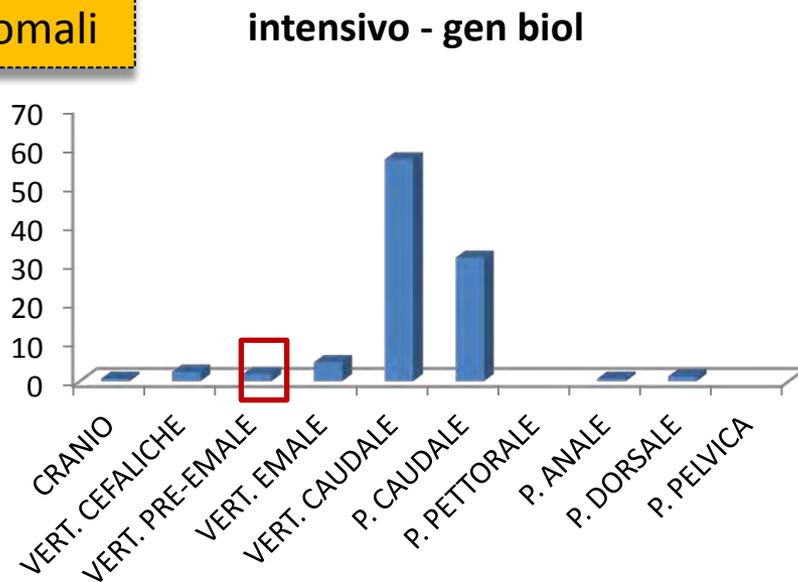
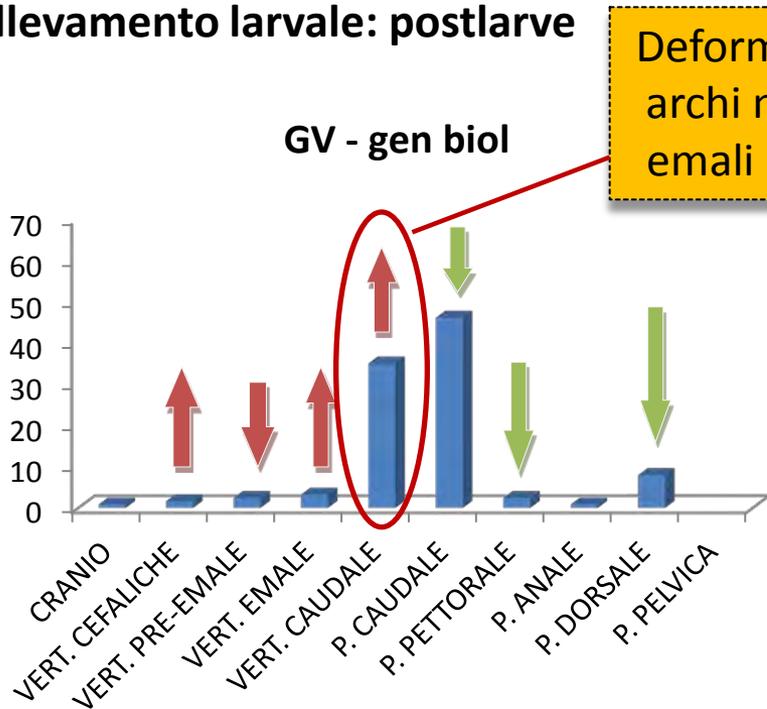
	Broodstock Biologico		Broodstock Convenzionale	
	GV - gen bio	int – gen bio	GV – gen conv	int – gen conv
Individui osservati	100	100	100	100
% Individui malformati	65	79	58	75
Indice malformativo	1,9	2,1	2,1	2,7
Numero tipologie osservate	22	21	20	23
Anomalie gravi/Anomalie totali	0,2	0,2	0,2	0,4
% individui con anomalie gravi	17	31	16	47
Indice anomalie gravi	1,7	1,3	1,4	1,9

Risultati generali del monitoraggio delle anomalie alla fine della fase di svezzamento (111 gds).

	Broodstock Biologico		Broodstock Convenzionale	
	GV – gen bio	int – gen bio	GV – gen conv	int – gen conv
Individui osservati	100	100	100	100
% Individui malformati	92	94	89	99
Indice malformativo	4,2	3,6	3,9	5,8
Numero tipologie osservate	30	27	27	33
Anomalie gravi/Anomalie totali	0,05	0,1	0,04	0,1
% individui con anomalie gravi	13	22	11	34
Indice anomalie gravi	1,5	1,9	1,2	1,5

I lotti allevati in Grandi Volumi mostrano frequenze di individui malformati e frequenze di individui con anomalie gravi più basse, indipendentemente dalla dieta dei riproduttori e dall'età.

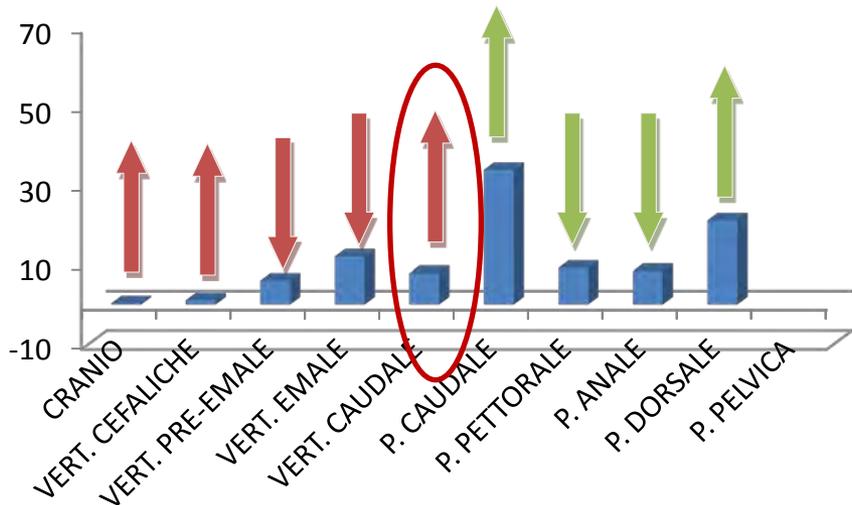
Fine allevamento larvale: postlarve



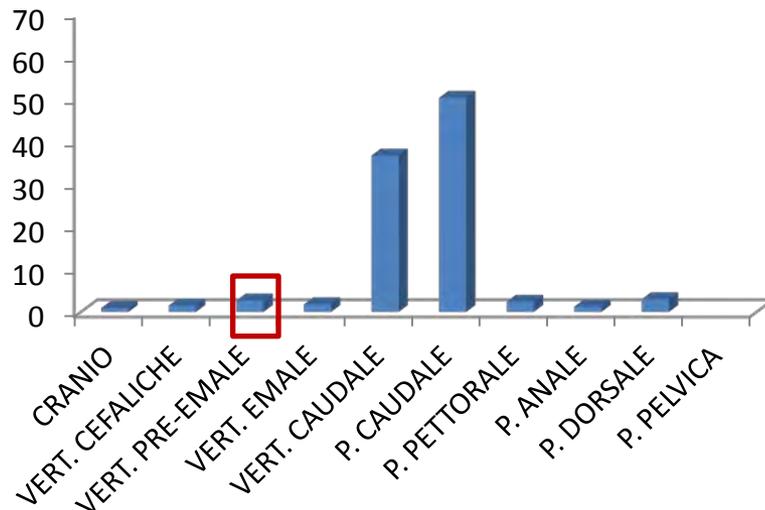
Deformazioni e archi neurali e emali anomali

Fine fase di svezzamento: giovanili

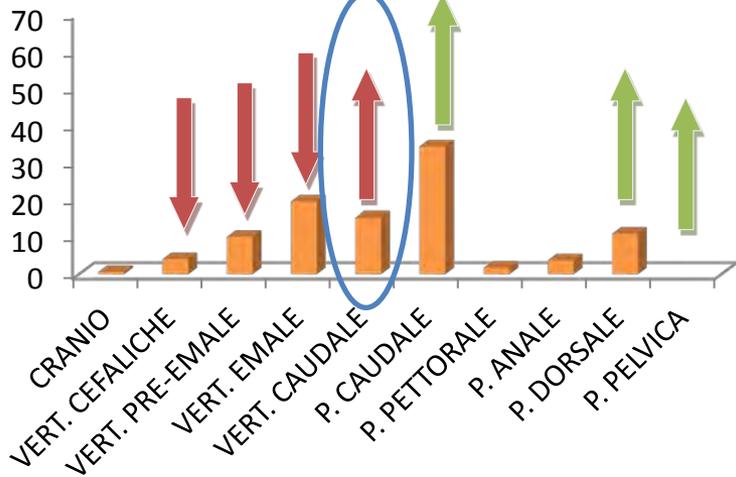
GV - gen biol



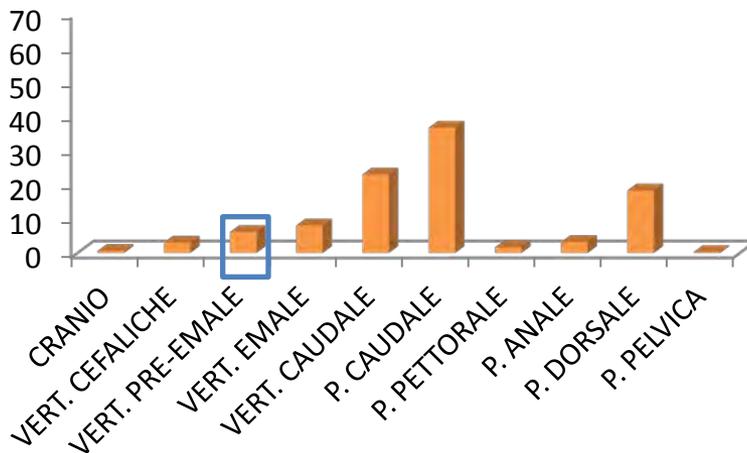
intensivo - gen biol



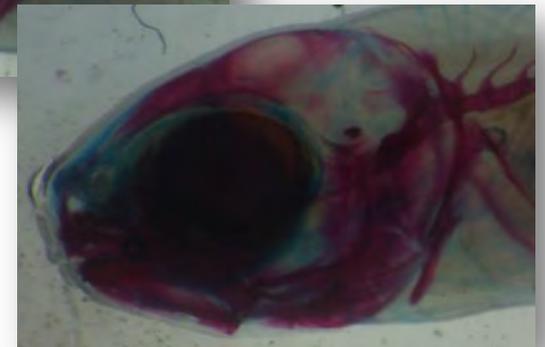
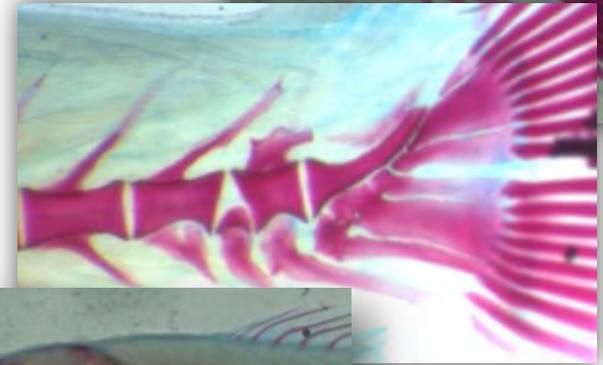
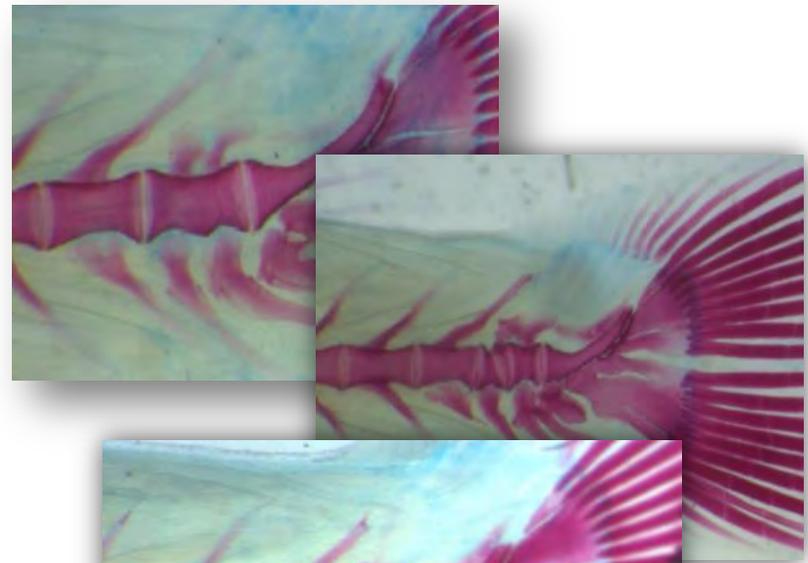
GV - gen conv



intensivo - gen conv



- ✓ I lotti allevati in Grandi Volumi mostrano una diminuzione dell'incidenza di anomalie a carico delle vertebre caudali indipendentemente dalla dieta dei riproduttori e dall'età.
- ✓ Le anomalie cefaliche o rimangono inalterate o aumentano l'incidenza negli allevamenti intensivi.
- ✓ Le anomalie a carico delle vertebre pre-emali diminuiscono sempre in condizioni intensive.



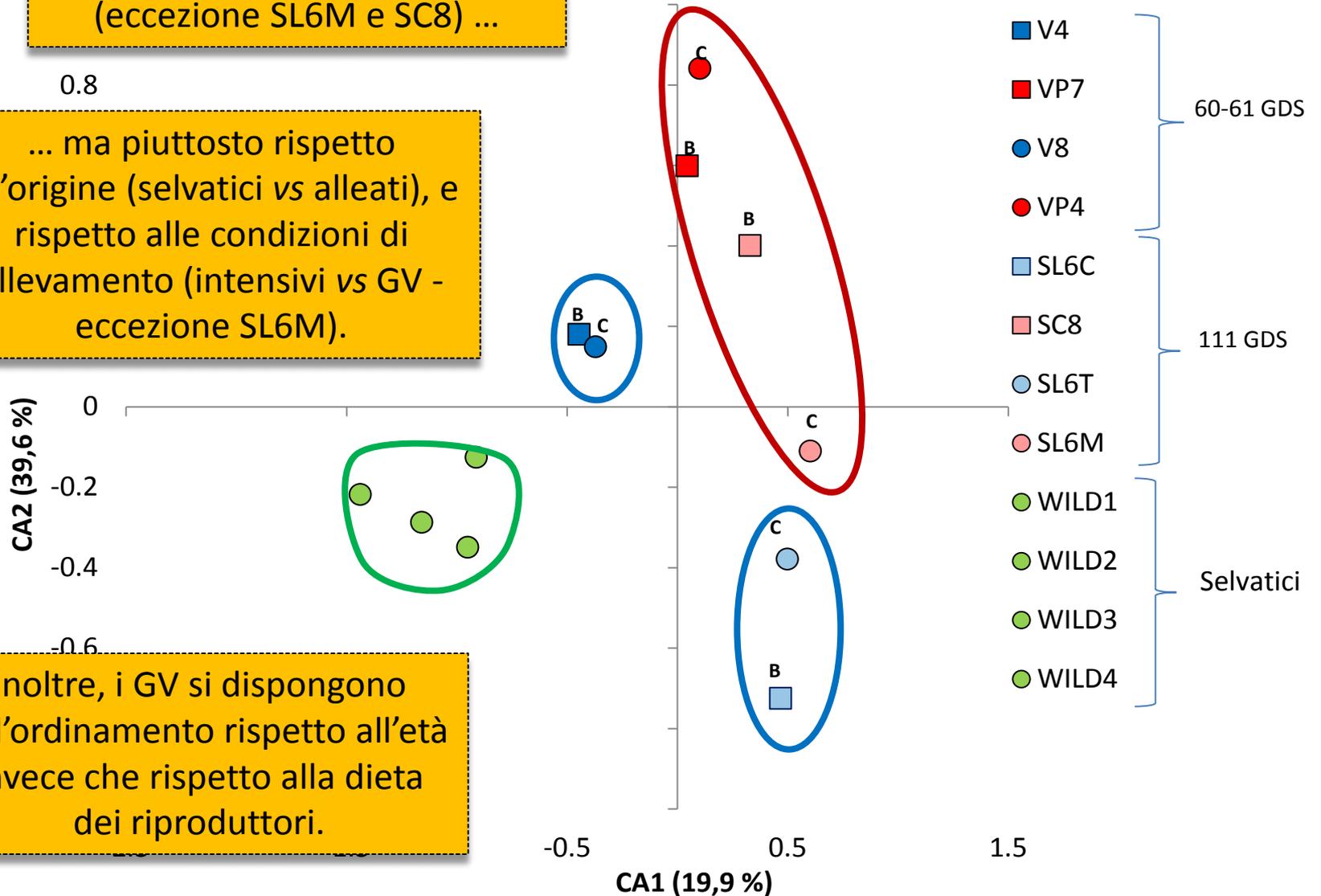
Risultati dell'Analisi delle Corrispondenze (CA)(5)

Sul I e II asse la CA non sembra discriminare i lotti rispetto alla dieta dei riproduttori (eccezione SL6M e SC8) ...

... ma piuttosto rispetto all'origine (selvatici vs alleati), e rispetto alle condizioni di allevamento (intensivi vs GV - eccezione SL6M).

Inoltre, i GV si dispongono sull'ordinamento rispetto all'età invece che rispetto alla dieta dei riproduttori.

C - genitori alimentati con dieta convenzionale
B - genitori alimentati con dieta biologica
Gradazioni di blu - Grandi Volumi
Gradazioni di rosso - Intensivo



L'instabilità di sviluppo causa l'insorgere di anomalie nel numero e nella forma degli elementi scheletrici
→ le anomalie scheletriche possono essere una misura indiretta del benessere delle larve durante l'allevamento.

La dieta utilizzata non sembra influenzare la scheletogenesi di orata, al contrario di densità e volumi

In conclusione i dati ottenuti hanno evidenziato come l'allevamento in Grandi Volumi mostri una qualità superiore rispetto all'allevamento intensivo indipendentemente dalla dieta somministrata ai riproduttori.

Analisi degli effetti dell'alimentazione (biologica vs. convenzionale) e delle condizioni di allevamento (biologiche vs. intensive) sulla forma

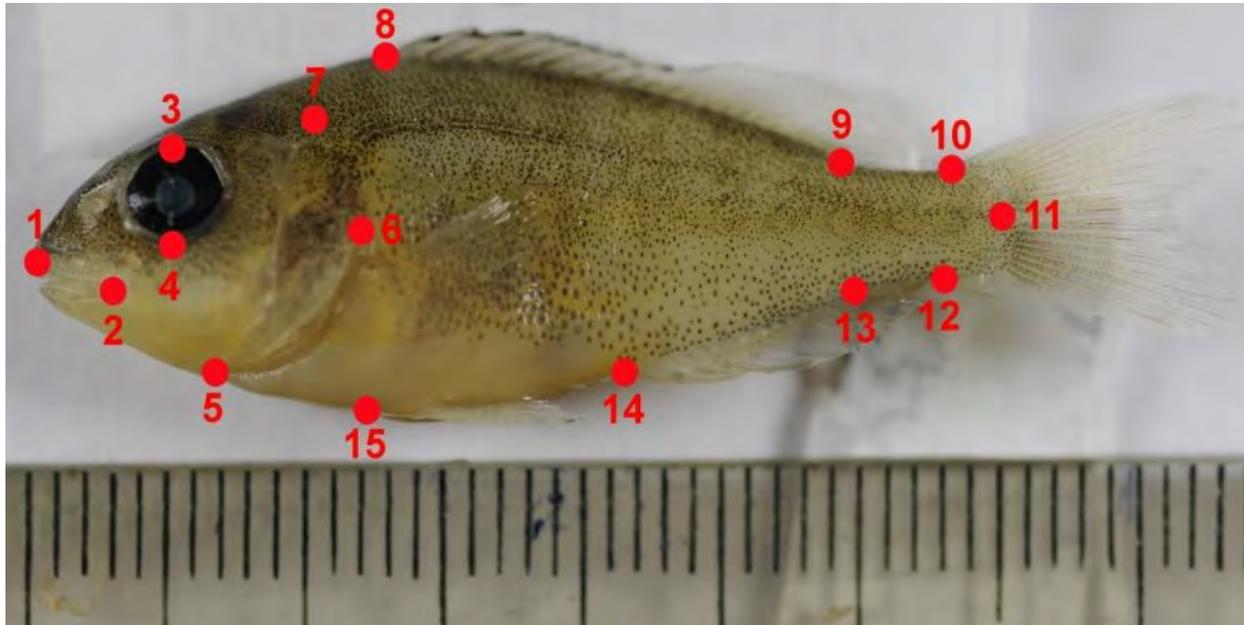
T. Russo

Materiali & Metodi

- Per quanto riguarda i campioni destinati allo studio della forma, tutti gli individui campionati sono stati trattati come segue:
 - ciascun individuo, precedentemente fissato in formalina al 5-10% (in tampone fosfato 0,1M, pH 7,5), è stato fotografato in aspetto laterale sinistro per mezzo di una Nikon D3X montata su uno stativo di precisione, ed etichettato;
 - su ciascun individuo sono state rilevate la lunghezza totale (LT) e standard (LS)

Materiali & Metodi

- L'analisi della forma ha previsto il rilevamento di 15 landmarks omologhi di I e II tipo (Bookstein, 1991) mediante il programma TpsDig 2.10 (Rohlf, 2006) su un totale di 285 individui.

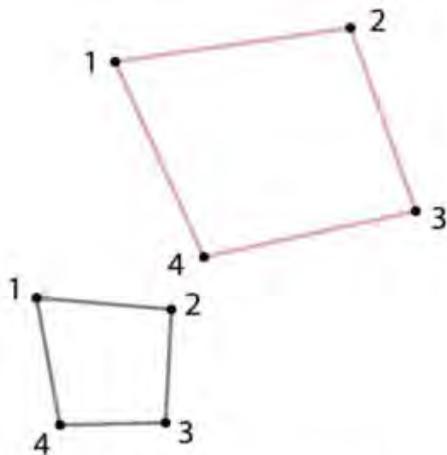


1: apice rostrale; **2:** estremità posteriore del premascellare; **3-4:** diametro dell'occhio; **5:** intersezione tra l'opercolo e il profilo ventrale del corpo; **6:** punto di maggiore estensione laterale dell'opercolo; **7:** estremità superiore dell'opercolo; **8-9:** punti di inserzione anteriore e posteriore della pinna dorsale; **10 e 12:** punti di inserzione superiore ed inferiore della pinna caudale; **11:** estremità posteriore del peduncolo; **13-14:** punti di inserzione posteriore ed anteriore della pinna anale; **15:** punto di inserzione della pinna pelvica

Materiali & Metodi

- I landmarks sono stati convertiti in coordinate della forma mediante una procedura iterativa detta General Procrustes. Le tecniche di *superimposition* realizzano una sovrapposizione iterativa ottimale di ogni individuo (target) su un altro individuo considerato di riferimento, in modo che i loro rispettivi landmarks si allineino il più possibile.

Passo #1



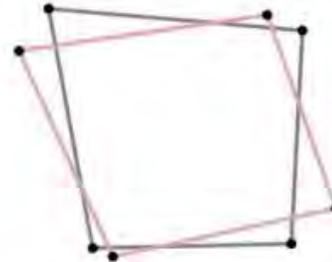
**Configurazioni
iniziali (4 landmark
per ogni individuo)**

Passo #2



**Landmark
centrati**

Passo #3



**Landmark
centrati e
scalati**

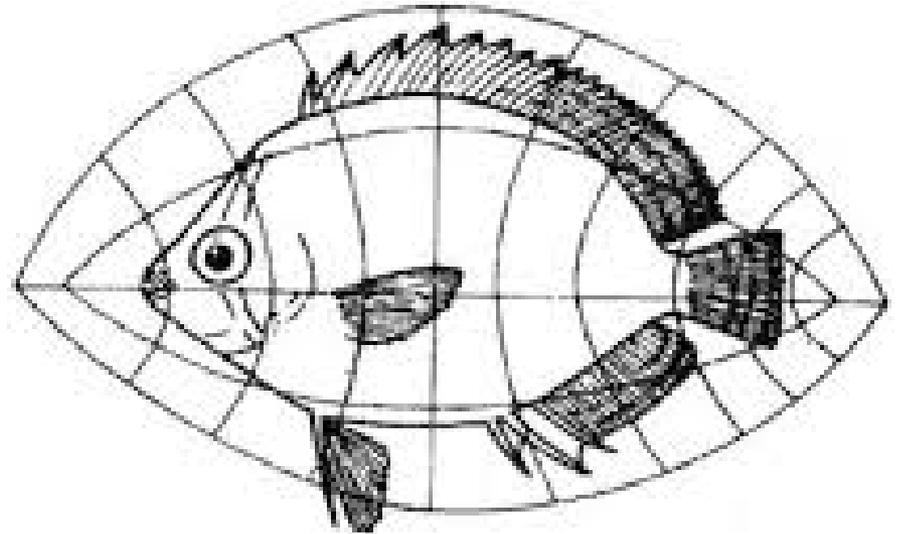
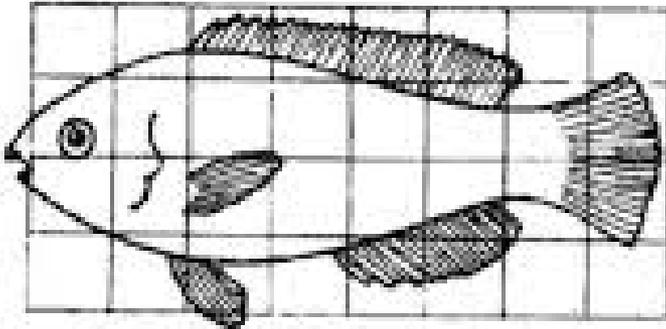
Passo #4



**Landmark
centrati,
ruotati e
scalati**

Materiali & Metodi

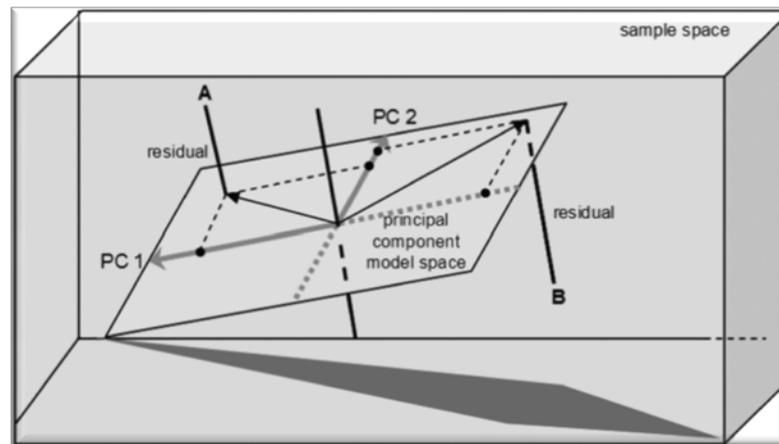
- I residui sono poi analizzati con la funzione di interpolazione ***Thin Plate Spline*** (TPS). Questa funzione minimizza l'energia richiesta per la deformazione (energia di curvatura o *bending energy*).



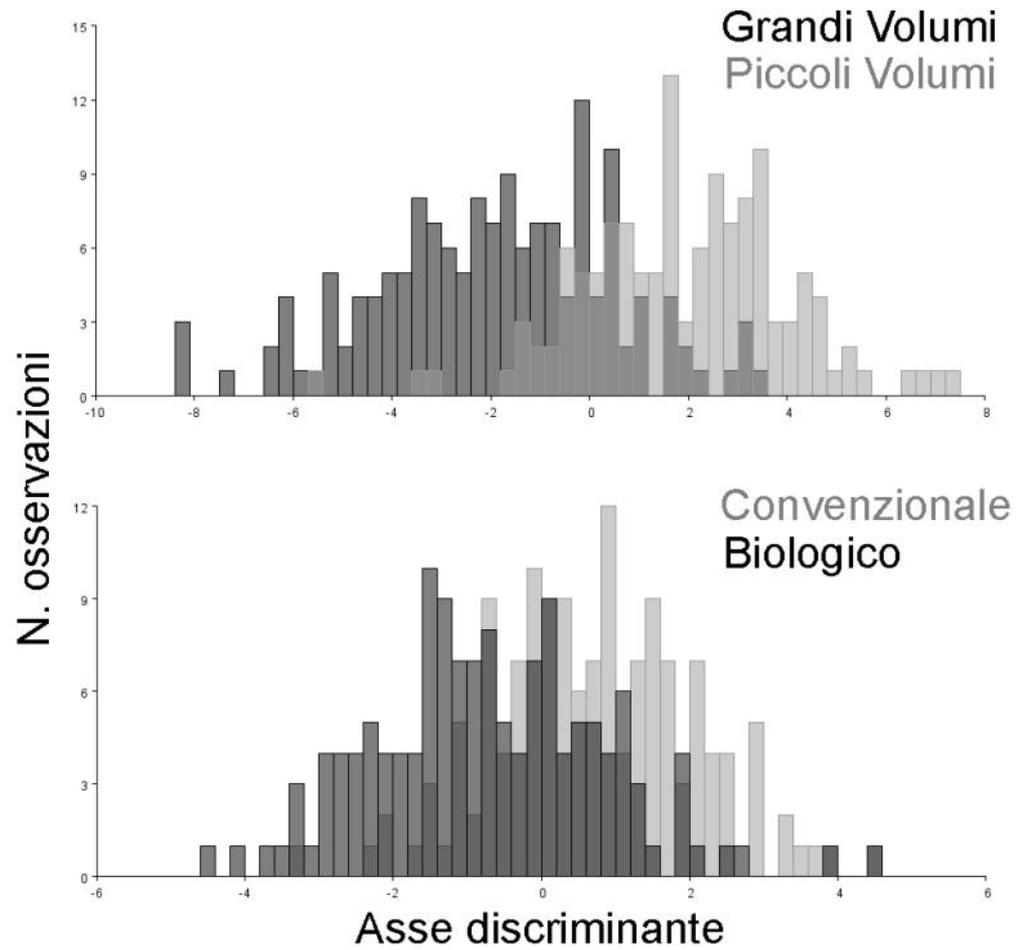
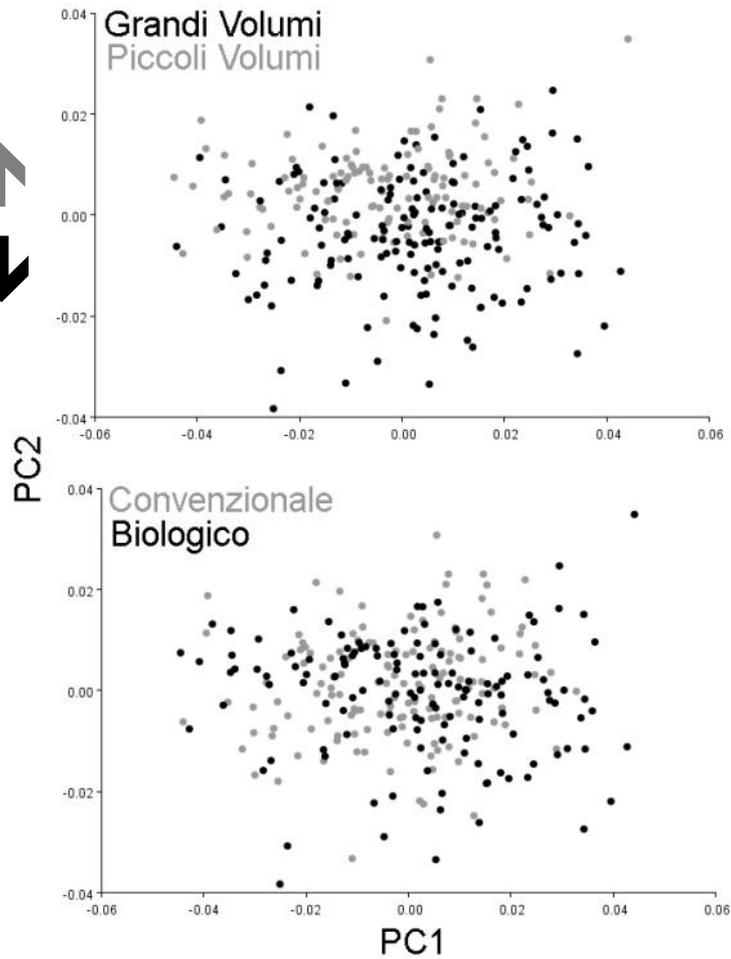
Materiali & Metodi

L'analisi della matrice di energia è poi analizzata mediante:

- **Analisi delle Componenti Principali**, che permette di esplorare e di rappresentare la variabilità morfologica;
- **Analisi delle Variate Canoniche**, che consente di al fine di ottenere la migliore separazione dei quattro lotti analizzati sulla base del dato morfometrico e di validare statisticamente il risultato ottenuto nella PCA;
- **Analisi Discriminante**, eseguita sui lotti ripartiti in due categorie (Grandi Volumi e Piccoli Volumi – Convenzionale e Biologico).



Risultati



Risultati

Tab. WP4.1.2.5 Risultati della validazione incrociata tra lotti allevati in diverse condizioni indipendentemente dalla dieta dei genitori: percentuali di corretta attribuzione.

	Attribuito a		% corretta
	Grandi Volumi	Piccoli Volumi	
Grandi Volumi	128	27	82,6
Piccoli Volumi	17	113	86,9

Tab. WP4.1.2.6 Risultati della validazione incrociata tra lotti provenienti da genitori alimentati con diete diverse: percentuali di corretta attribuzione.

	Attribuito a		% corretta
	Genitori Convenzionali	Genitori Biologici	
Genitori Convenzionali	94	46	67,1
Genitori Biologici	46	99	68,3

Risultati

Ordinamento ottenuto
dall'Analisi delle
Variate Canoniche

**V4: Grande Volume –
genitori Biologici;**

**V8: Grande Volume –
genitori**

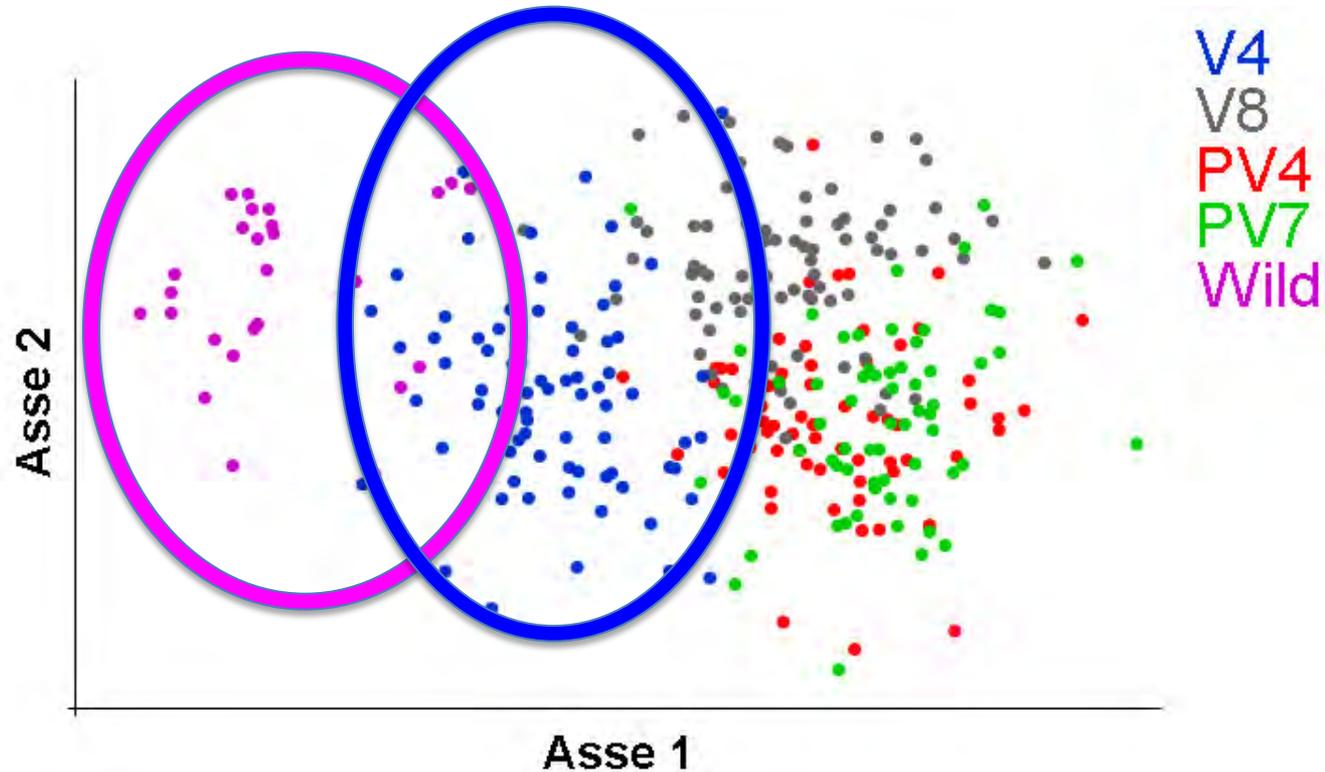
Convenzionali;

**PV4: Piccolo Volume –
genitori**

Convenzionali;

**PV7: Piccolo Volume –
genitori Biologici)**

Wild (Selvatici).



Conclusioni

Le basi tecnico-scientifiche necessarie per la revisione dei regolamenti dovrebbero riguardare almeno, secondo rilevanza:

- A) **Densità e condizioni fisiche dell'allevamento larvale e post larvale.** Per l'allevamento biologico di specie marine eurialine è necessario garantire “metodi biologici” lungo tutta la filiera “dalla culla alla tomba”; pertanto, l'allevamento biologico inizia con la riproduzione controllata basata sulla produzione di gameti di qualità. Le larve e le post larve debbono essere allevate in grandi volumi dotati di idrodinamismo al fine di garantire *ripartizione spaziale e attività motoria* continua alle larve, con modalità che ricordano quelle naturali (*dalla gabbia al cortile*). Il nuoto attivo è indispensabile nei pesci reofili fin dalle prime fasi vitali. **La raccomandazione sarebbe quella di imporre un protocollo che consideri una densità larvale massima (ad esempio, max 25 larve litro su volume da circa 60 m³), in presenza di idrodinamismo.** Comunque data la natura delle basi tecniche del biologico in acquacoltura, ancora fragili, sarebbe il caso di inserire almeno i principi per superare la fase transitoria ed entrare in una fase di biologico “di fatto”.

- B) **Alimentazione dei genitori.** L'alimentazione dei genitori è un tema da considerare con molta attenzione: se da un lato l'uso di prodotti freschi (pesci, molluschi, crostacei) è la pratica spesso usata dagli impianti per avere migliori risultati, dall'altro l'uso di mangimi biologici (per altro la cui messa a punto per le esigenze dei genitori è oggetto di discussione) coerente con i principi di tale allevamento pone molti limiti oggettivi. La dieta dei genitori dovrebbe prevedere, da protocollo, almeno il 50% di alimenti freschi, di origine naturale, certificati (origine, norme igienico sanitarie, natura della conservazione, ecc..). *E' anche conosciuta la relazione tra capacità di emissione spontanea delle uova e condizioni ambientali e dieta ottimale per i genitori.* **Pertanto, al biologico dovrebbero andare solo uova da emissione spontanea, almeno per l'orata (come di fatto avviene in gran parte delle attività produttive).** Non va dimenticato che l'emissione spontanea dei gameti è un indice integrato delle condizioni dei genitori in cattività.
- C) **Obbligo di monitoraggio morfologico larvale, prima della selezione dei malformati.** Il monitoraggio larvale, basato su descrittori morfologici (scheletro, forma, ad esempio) dovrebbe accompagnare il ciclo produttivo biologico poiché fornisce un'informazione integrata delle condizioni di allevamento. Tale monitoraggio dovrebbe essere effettuato da strutture indipendenti, con campionamenti che precedono la selezione morfologica dei malformati.