



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

**PRODUZIONE SEMINTENSIVE DI GIOVANILI DI SPECIE MARINE DA ACQUACOLTURA BIOLOGICA  
(*Sparus aurata* come caso di studio).**

Acronimo: PROSEGAB

**I Relazione semestrale**

**MONITORAGGIO DELLE ATTIVITÀ**

**WP5: Attività di coordinamento del programma**

**Definizione della fase operativa con l'impianto Acquacoltura Lampedusa**

Sono intercorsi incontri a Roma, scambi telefonici e mail, due missioni a Lampedusa del responsabile scientifico, per definire le modalità operative nella esecuzione del programma.

Nei vari contatti sono state comunicate le finalità del programma ai responsabili dell'impianto, spiegando anche i principi e le "regole" delle produzioni biologiche e la delicatezza che caratterizza alcune delle prove sperimentali.

Lo svolgimento di fasi sperimentali presso impianti produttivi, invece che in moduli sperimentali, è largamente utilizzata in acquacoltura, essendo i costi delle strutture di allevamento elevati, soprattutto per l'allevamento delle specie marine. Inoltre la mancanza di stazioni sperimentali pubbliche, sufficientemente strutturate per garantirne l'affidabilità, impone di rivolgersi ad unità produttive private ritenute affidabili ed appropriate per i protocolli che si intende applicare. Questo aspetto, poco valutato dai gruppi di ricerca, impone al contrario un lavoro attento in fase di preparazione e di sviluppo del progetto dato che le modalità operative in unità produttive sono in alcuni casi poco compatibili con la corretta applicazione dei protocolli. In particolare, gli esperimenti sono per lo più effettuati in spazi produttivi dove si procede con pragmatismo produttivo senza il necessario rispetto di un protocollo sperimentale (è questo è stato il contenuto degli incontri con il responsabile della Acquacoltura Lampedusa). Inoltre, negli impianti produttivi si opera generalmente con fasi di attenzione variabile ai moduli di allevamento: ad esempio, se il personale è impegnato in una spedizione, o se tutta l'attenzione è posta ad una emergenza, o se c'è necessità di ricambio degli addetti su determinati moduli di allevamento, molte delle richieste dei ricercatori sono ritenute poco credibili dai produttori data la loro conoscenza acquisita per "prove ed errori" e la difficoltà di accettare modalità esecutive differenti dalle proprie. Questi temi sono stati ampiamente dibattuti e ribaditi proprio per evitare debolezze esecutive alle fasi sperimentali che possono fortemente alterare i risultati.

Proprio per questo, nella scelta dell'Acquacoltura Lampedusa ha pesato fortemente la filosofia e la struttura dell'impresa. La filosofia dell'impresa è del tutto coerente con le finalità del Biologico, essendo questa avannotteria basata sull'uso di grandi volumi per scelta della proprietà tra le differenti tecnologie di allevamento disponibili. L'Acquacoltura Lampedusa applica nei suoi cicli produttivi la tecnica dei Grandi Volumi (*sensu* Cataudella *et al.*, 2002), utilizzando 10 vasche circolari di 64 m<sup>3</sup>, dotate di idrodinamismo (vedere oltre l'importanza di questo aspetto fisico relativo alle condizioni di allevamento in Grandi Volumi), con uso di acque verdi e di basse densità

larvali. L'Avannotteria della Acquacoltura Lampedusa è anche dotata di "piccoli volumi" per effettuare le prove comparative di densità di allevamento e degli effetti del protocollo biologico.



Vasche utilizzate per l'allevamento in Grandi Volumi presso l'Acquacoltura Lampedusa s.r.l.



Vasche utilizzate per l'allevamento in intensivo (convenzionale) presso l'Acquacoltura Lampedusa s.r.l.

### **WP1: Impostazione delle modalità sperimentali**

### **WP2: Verifica dell'applicabilità di un protocollo di alimentazione biologica a riproduttori di specie ittiche marine eurialine**

### **Programmazione delle attività relative alle condizioni in cui mantenere i riproduttori secondo il protocollo del biologico (Regolamento CE 710/2009)**

L'Allegato XIII *bis* Sezione 3 del Reg. CE 710/99 definisce che i pesci (e quindi anche i riproduttori) devono essere prodotti in sistemi di contenimento in acque aperte (recinti di rete/gabbie) con velocità minima della corrente marina per un benessere ottimale dei pesci o *in sistemi aperti sulla terraferma* ad un coefficiente di densità massimo (per i pesci diversi dal rombo – e quindi per l'orata, specie utilizzata in questa sperimentazione) pari a  $15 \text{ kg/m}^3$ . Nel corso della sperimentazione, quindi, ai riproduttori biologici verranno assegnate 2 Vasche da  $15 \text{ m}^3$ , a circuito aperto, dove verranno stabulati ad una densità di  $8\text{-}10 \text{ kg/m}^3$ .

Inoltre, il Par. 12 delle considerazioni iniziali dello stesso Regolamento precisa che: "A questo scopo occorre chiarire che l'uso di ormoni e di derivati ormonali per stimolare artificialmente la riproduzione degli animali d'acquacoltura è incompatibile con il concetto di produzione biologica e con la percezione che ne hanno i consumatori e che pertanto tali sostanze non devono essere utilizzate nell'acquacoltura biologica". In questo programma di ricerca, quindi, non verranno applicate stimolazioni ormonali di alcun genere.

### **Regime alimentare nel protocollo biologico**

E' stata effettuata una ricerca bibliografica di riferimento, al fine di individuare i regimi alimentari biologici ottimali per riproduttori e per il preingrasso dei giovanili di orata.

Come risulta evidente dall'analisi della legislazione regolativa, non viene effettuata alcuna distinzione tra alimentazione biologica destinata a pesci nella fase in ingrasso e quella per i riproduttori nel periodo a stretto ridosso del periodo riproduttivo. Inoltre, la regolamentazione in materia di mangimi per il protocollo biologico non tiene conto della specificità dell'allevamento di pesci ma si basa soprattutto sul disciplinare relativo al bestiame e all'agricoltura.

L'orata è una specie caratterizzata da riproduzione continua con breve periodo vitellogenico nella quale è possibile modulare la qualità della riproduzione attraverso modifiche della qualità nutrizionale della dieta fornita ai riproduttori, anche durante la stagione riproduttiva. In particolare in orata, ad esempio, è stato dimostrato (Harel *et al.*, 1992) che la composizione in

lipidi dei tessuti dei riproduttori raggiunge l'equilibrio con quella presente nella dieta dopo solo 15 giorni di somministrazione. E' inoltre evidente che, come per gli umani o in altri animali da allevamento, le richieste nutrizionali dei riproduttori sono diverse da quelle di altre fasi vitali, quali i giovanili, e che molti dei problemi che si incontrano durante l'allevamento delle larve subito dopo la schiusa siano direttamente legati al regime alimentare (livelli nutrizionali e durata) dei riproduttori.

Nei Pesci, come nei Mammiferi terrestri, l'acido docosaesanoico (DHA), l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido arachidonico (AA) sono coinvolti nel mantenimento della struttura e funzione delle membrane cellulari. Nei Pesci, a differenza dei Mammiferi terrestri, sono il DHA e l'EPA (generalmente indicati come n-3 HUFA, acidi grassi altamente insaturi), e non l'AA, i principali acidi grassi poliinsaturi (PUFA) delle membrane cellulari. Ciò implica che i Pesci abbiano richiesta di elevate quantità di n-3 HUFA nella dieta. I pesci di acqua dolce sono in grado di produrre DHA e EPA dall'acido linolenico (di origine vegetale, LNA, 18:3n-3) e l'AA dall'acido linoleico (anch'esso di origine vegetale, LA, 18:2n-6) ma ad un tasso di produzione troppo lento, quasi del tutto trascurabile, al punto che DHA, EPA e AA sono considerati acidi grassi essenziali nella dieta. Va inoltre considerato che LA e LNA nella dieta possono interferire con le funzioni cellulari di AA, EPA e DHA (Sargent *et al.*, 1999).

Studi più mirati sugli effetti della dieta fornita ai riproduttori di orata sulla capacità riproduttiva, la qualità delle uova prodotte, la qualità delle larve (Izquierdo *et al.*, 2001) evidenziano le seguenti necessità nutrizionali:

1) è necessaria una quantità sufficiente (superiore a 250 mg/kg) di Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferolo, indicato come E307 quando aggiunto agli alimenti) nella dieta per riproduttori di orata al fine di ridurre la percentuale di uova anormali, aumentare la fecondità media e la vitalità delle uova. La Vitamina E svolge un ruolo antiossidante inter- e intracellulare;

2) negli Sparidi, come l'orata, la composizione in acidi grassi della gonade femminile è fortemente influenzata dal contenuto nella dieta in acidi grassi, che, a sua volta, influenza la qualità delle uova in un breve periodo di tempo. Quindi, in orata, la composizione in acidi grassi nelle uova (indispensabili per i processi ontogenetici) è direttamente correlata al contenuto di n-3HUFA nella dieta somministrata ai riproduttori, soprattutto rispetto agli EPA 18:n-3, 18:4n-3 e 20:5n-3, più che al DHA. I livelli presenti nella dieta di EPA e AA sono direttamente correlati con il tasso di fecondazione: questo sembra dovuto al fatto che i livelli di acidi grassi negli spermatozoi sono dipendenti dai livelli di questi forniti con la dieta ai riproduttori. Una loro deficienza sembra quindi influenzare la motilità degli spermatozoi e quindi anche il tasso di fecondazione. Un aumento dei livelli di HUFA n-3 nella dieta dei riproduttori, induce un aumento dell'incorporazione degli HUFA nelle uova e, di conseguenza, un aumento della percentuale di uova normali morfologicamente, parametro utilizzato per determinare la vitalità delle uova. Un aumento dei livelli di HUFA n-3 nella dieta dei riproduttori aumenta in modo significativo la percentuale di sopravvivenza delle larve al riassorbimento del tuorlo;

3) un eccesso di EFA può provocare effetti negativi sulle performance produttive dell'orata, quali la riduzione della quantità di uova emesse. Ciò sembra collegato agli effetti dell'eccesso di HUFA n-3 sull'asse endocrino ipotalamo-ipofisi-gonade, in quanto è stato dimostrato *in vitro* una riduzione dell'azione steroidogenica della gonatropina sull'ovario dei Teleostei. Livelli di HUFA n-3 superiori al 2% causano ipertrofia del sacco del tuorlo nelle larve di orata e diminuzione dei tassi di sopravvivenza larvale;

4) una dieta caratterizzata da basso livello di proteine (dal 51 al 34%) – alto livello di calorie (livelli di carboidrati portati dal 10 al 32%) provoca ridotte performance riproduttive, ed una ridotta vitalità delle uova;

5) una dieta ben bilanciata in amminoacidi essenziali migliora la sintesi vitellogenica (che produce la vitellogenina (una glicolipoproteina precorritrice delle lipoproteine e fosfoproteine che costituiscono la maggior parte del tuorlo presente nelle uova dei pesci);

6) le proteine della soia sono considerate una fonte potenziale di proteine ai fini della parziale sostituzione di farine di pesce nei mangimi per l'orata, ma contengono diversi fattori antinutrizionali che ne limitano l'utilizzo. La crescita, la sopravvivenza e la percentuale di larve con vescica natatoria insufflata diminuisce quando l'olio di pesce nella dieta fornita ai riproduttori di orata viene sostituito con olio di soia. Ciò sembra dovuto alla carenza indotta di nutrienti antiossidanti, poiché se tale sostituzione viene effettuata in concomitanza con un aumento da 125 a 190 mg/kg di  $\alpha$ -tocoferolo, non si osserva né l'ipertrofia del sacco del tuorlo né la mortalità larvale. La sostituzione di proteine o lipidi estratti da calamari con proteine o lipidi estratti da soia nella dieta per riproduttori di orata provoca una ridotta percentuale di schiusa e sopravvivenza larvale a 3 giorni dalla schiusa.

Le raccomandazioni nutrizionali appena riportate vanno considerate durante la scelta di un'alimentazione idonea per i riproduttori biologici, che tenga conto anche delle limitazioni riportate nell'Articolo 25 duodecies (Norme specifiche sull'alimentazione degli animali d'acquacoltura carnivori) del Reg. CE 710/2009. La sostituzione delle farine ed olio di pesce nei mangimi per le specie ittiche allevate con ingredienti vegetali è attualmente oggetto di numerose attività di ricerca che si basano su risorse alimentari alternative che cercano di raggiungere un delicato equilibrio tra performance di crescita, efficienza del tasso di conversione alimentare e, al contempo, massimizzare le proprietà salubri dei pesci come cibo (Dias *et al.*, 2009). Va ricordato che la capacità dei pesci marini di sintetizzare HUFAs a partire dai precursori a 18 atomi di Carbonio presenti negli olii vegetali è molto limitata, abbassando i livelli di sostituzione nelle diete con olii vegetali (Tocher, 2003): alcuni studi hanno mostrato che fino al 60% dell'olio di pesce può essere sostituito in orata con olii vegetali senza influenzarne la crescita (Izquierdo *et al.*, 2005), benché siano osservate alterazioni di numerosi parametri immunologici, della produzione del cortisolo conseguente ad uno stress (Montero *et al.*, 2003) ed alterazioni istologiche del tessuto epatico (Caballero *et al.*, 2004) che suggeriscono l'induzione di modificazioni di alcuni aspetti del metabolismo lipidico nei pesci (Menoyo *et al.*, 2004; Caballero *et al.*, 2006).

La scelta di mangimi che prevedano la sostituzione delle farine di pesce deve tenere conto anche della necessità che siano presenti miscele di fonti proteiche vegetali diverse affinché il profilo in amminoacidi essenziali sia il più bilanciato possibile, e che alcuni amminoacidi cristallini siano aggiunti per incontrare le richieste in aminoacidi delle varie specie (Dias *et al.*, 2009). Ulteriore attenzione va riposta nel verificare che quando alti livelli di alcune fonti proteiche vegetali sono presenti nella dieta, la frazione di carboidrati e/o la presenza di fattori antinutrizionali stabili al calore possano condizionarne il valore nutrizionale alterando la digestione e l'utilizzazione dei nutrienti (Storebakken *et al.*, 2000; Francis *et al.*, 2001).

Per quanto riguarda i sottoprodotti dell'acquacoltura non biologica o scarti di pesci catturati per il consumo umano, in Italia non sembra (allo stato attuale delle indagini che stiamo portando avanti) esserci disponibilità su base continua ed in quantità affidabili. Le conoscenze disponibili in letteratura evidenziano che riproduttori di orata alimentati con una dieta a base di calamari (che non sono certamente uno scarto dai consumi umani) sminuzzati o con un mangime commerciale integrato con calamari producono uova con una composizione in lipidi ed acidi grassi che corrisponde a quella presente nella dieta (Izquierdo *et al.*, 2001). Diete a base di seppie e calamari sono considerate essenziali per il successo riproduttivo dell'orata (Mourete *et al.*, 1989; Zohar *et al.*, 1995), grazie all'elevata frazione di grassi insolubili presente nella carne di seppia: sono stati

osservati un aumento del numero totale di uova deposte quotidianamente, per kg della femmina, e nella percentuale di uova fecondate e vitali (Fernández-Palacios *et al.*, 1997).

**WP4: Valutazione in *Sparus aurata* degli effetti della densità e volume di allevamento delle larve e dei giovanili, della qualità dell'alimentazione dei riproduttori sulla qualità e il benessere dei pesci**

**Messa a punto del monitoraggio “multidimensionale” di controllo: le anomalie scheletriche**

In questa fase della ricerca, sono stati analizzati altri 644 giovanili selvatici di orata (Tab. 1), di taglia comparabile a quella degli allevati all'uscita dall'incubatoio, da utilizzare come riferimento qualitativo.

*Tabella 1 – Numero di individui e lunghezza standard (mm) dei lotti selvatici analizzati*

| Codice identificativo | wild1 | wild2 | wild3 | wild4 | wild5 | wild6 | wild7 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| n. individui          | 72    | 88    | 41    | 60    | 16    | 316   | 51    |
| media                 | 19,9  | 19,8  | 38,1  | 58,1  | 20,1  | 19,3  | 17,9  |
| min                   | 9,5   | 11,5  | 25    | 52    | 17    | 16    | 16    |
| max                   | 49    | 44    | 43    | 70    | 22    | 30    | 20    |
| err. st.              | 8,06  | 7,17  | 3,52  | 4,10  | 1,59  | 1,92  | 1,08  |

Dopo essere stati colorati in toto con il metodo di Dingerkus e Uhler (1977) mod., ogni individuo è stato misurato (lunghezza standard, mm) ed osservato allo stereo microscopio (Wild) su entrambi i lati per conteggiare i caratteri meristici e le anomalie nella forma degli elementi scheletrici.

I caratteri meristici conteggiati sono le vertebre, incluso l'urostilo; gli elementi di sostegno all'interno delle pinne (epurali, ipurali, paraipurale, pterigiofori, radiali); i raggi delle pinne impari (dorsale, anale e caudale) e pari (pettorali e pelviche). I raggi duri o spine e i raggi morbidi della pinna dorsale, sono stati contati separatamente, mentre quelli della pinna anale sono stati contati insieme; per i raggi della pinna caudale sono stati considerati i raggi principali superiori ed inferiori. Nelle conte meristiche sono state considerate anche le ossa predorsali.

La presenza e la frequenza delle anomalie scheletriche sono state individuate utilizzando un riferimento dicotomico (vedi Tab. 2), nel quale la lettera indica la regione del corpo affetta da anomalie (dalla A ad L) ed il numero il tipo di anomalia (da 1 a 29). Le anomalie considerate gravi sono quelle la cui presenza altera la forma esterna del pesce e che possono compromettere le performances (alimentazione, nuoto).

*Tabella 2 - Legenda delle anomalie considerate. In grassetto sono evidenziate le anomalie gravi*

|         |                                     |   |
|---------|-------------------------------------|---|
| REGIONE | A                                   | Vertebre cefaliche (con coste epipleurali)  |
|         | B                                   | Vertebre pre-emali (con coste epipleurali e pleurali e con arco emale aperto, senza emaspina) |
|         | C                                   | Vertebre emali (con arco emale chiuso da emaspina)  |
|         | D                                   | Vertebre caudali (con spine modificate in palette natatorie)                                  |
|         | E                                   | Pinna pettorale   |
|         | F                                   | Pinna anale   |
|         | G                                   | Pinna caudale   |
|         | H                                   | Regione dei raggi duri (spine) della pinna dorsale  |
|         | I                                   | Regione dei raggi morbidi (lepidotrichi) della pinna dorsale                                  |
| L       | Pinna pelvica                       |   |
| TIPO    | <b>S</b>                            | <b>Scoliosi</b>   |
|         | <b>1</b>                            | <b>Lordosi</b>  |
|         | <b>2</b>                            | <b>Cifosi</b>   |
|         | <b>3</b>                            | <b>Parziale fusione vertebrale</b>  |
|         | <b>3*</b>                           | <b>Fusione vertebrale completa</b>  |
|         | <b>4</b>                            | <b>Deformazione corpo vertebrale</b>  |
| 5       | Arco neurale e/o neurospina anomala |   |

|             |  |
|-------------|--|
| 5*          | Arco neurale e/o neurospina soprannumeraria                                  |
| 6           | Arco emale e/o emaspina anomalo/a  |
| 6*          | Arco emale e/o emaspina soprannumeraria                                      |
| 7           | Costa pleurale deformata   |
| 7*          | Costa pleurale soprannumeraria   |
| 7           | Raggio anomalo (deformato, assente, fuso, soprannumerario)                   |
| 8           | Pterigioforo deformato (assente, fuso, soprannumerario)                      |
| 9           | Ipurale anomalo (deformato, assente, fuso, soprannumerario)                  |
| 9*          | Paraipurale anomalo o fuso oppure spezzato e fuso con ipurale o con emaspina |
| 10          | Epurale anomalo (deformato, assente, fuso, soprannumerario)                  |
| 11          | Raggio anomalo(deformato, assente, fuso, soprannumerario)                    |
| <b>12</b>   | <b>Assenza di vescica natatoria</b>  |
| <b>13</b>   | <b>Presenza di calcoli nei dotti urinari</b>                                 |
| <b>14</b>   | <b>Mascellare o premaxillare anomalo</b>                                     |
| <b>15</b>   | <b>Dentale anomalo</b>   |
| <b>16</b>   | <b>Altre anomalie craniali (glossoiale/neurocranio)</b>                      |
| <b>17sx</b> | <b>Opercolo sinistro deformato o ridotto</b>                                 |
| <b>17dx</b> | <b>Opercolo destro deformato o ridotto</b>                                   |
| 17*sx       | Raggi branchiostegi di sinistra deformati, assenti o fusi                    |
| 17*dx       | Raggi branchiostegi di destra deformati, assenti o fusi                      |
| 18          | Osso predorsale anomalo  |
| 19          | Ipurale con decalcificazioni   |
| 20          | Pterigiofori con decalcificazioni  |
| 21          | Setto intercostale   |
| 22          | Spine miosettali dorsali anomale   |
| 23          | Spine miosettali ventrali anomale  |
| 24sx        | Piastra opercolare sinistra con decalcificazioni                             |
| 24dx        | Piastra opercolare destra con decalcificazioni                               |
| 25          | Epurale decalcificato  |
| 26          | Ossificazione soprannumeraria  |
| 27          | Urostilo decalcificato   |
| 28          | Difetti di ossificazione di vertebre   |
| 29          | Post cleitro deformato   |
| Cl sx       | Cleitro sinistro anomalo   |
| Cl dx       | Cleitro destro anomalo   |
| Cor sx      | Coracoide sinistro anomalo   |
| Cor dx      | Coracoide destro anomalo   |

Nelle Tab. 3, 4 e 5 sono riportati i risultati dell'analisi a differente livello di dettaglio.

**Tabella 3 - Risultati generali del monitoraggio dei giovanili selvatici**

|                                 | wild1 | wild2 | wild3 | wild4 | wild5 | wild6 | wild7 |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Individui osservati (n)         | 72    | 88    | 41    | 60    | 16    | 316   | 51    |
| Individui malformati (n)        | 23    | 38    | 18    | 32    | 16    | 60    | 30    |
| Freq. indiv. malformati (%)     | 31,9  | 43,2  | 43,9  | 53,3  | 100   | 19,0  | 41,2  |
| Anomalie osservate (n)          | 33    | 62    | 20    | 50    | 101   | 110   | 69    |
| Indice malformativo             | 1,4   | 1,6   | 1,1   | 1,6   | 6,3   | 1,8   | 3,3   |
| Tipologie osservate (n)         | 14    | 15    | 6     | 7     | 13    | 13    | 12    |
| Anomalie gravi (n)              | 7     | 6     | 1     | 3     | 0     | 0     | 0     |
| Anom.gravi / anom tot           | 21,2  | 9,7   | 5,0   | 6,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| Indiv. con anom. gravi (n)      | 3     | 4     | 1     | 1     | 0     | 0     | 0     |
| Indice malformativo anom. gravi | 2,3   | 1,5   | 1,0   | 3,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| Indiv. con anom. gravi (%)      | 4,2   | 4,5   | 2,4   | 1,7   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |

**Tabella 4 - Frequenza (%) di individui affetti da ciascuna tipologia malformativa, per lotto.**

| codice | wild1 | wild2 | wild3 | wild4 | wild5 | wild6 | wild7 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| n. ind | 72    | 88    | 41    | 60    | 16    | 316   | 51    |
| A1     | 1,4   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| A5     | 1,4   | 5,7   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 2,2   | 5,9   |
| B5     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,9   | 5,9   |
| C1     | 1,4   | 0,0   | 2,4   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| C5     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,7   | 87,5  | 8,5   | 37,2  |
| C6     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,7   | 81,2  | 3,8   | 21,6  |
| D1     | 1,4   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D3     | 0,0   | 1,1   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D4     | 2,8   | 2,3   | 0,0   | 1,7   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D5     | 4,2   | 4,5   | 0,0   | 1,7   | 18,7  | 0,0   | 0,0   |
| D5*    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 0,0   | 2,0   |
| D6     | 1,4   | 1,1   | 4,9   | 1,7   | 0,0   | 0,0   | 2,0   |
| D6*    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 0,0   | 0,0   |
| D26    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 100,0 | 0,6   | 3,9   |
| E11sx  | 0,0   | 1,1   | 2,4   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| F8     | 1,4   | 1,1   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 0,0   | 0,0   |
| F11    | 0,0   | 4,5   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,9   | 2,0   |
| G9     | 18,1  | 17,0  | 29,3  | 50,0  | 31,2  | 2,2   | 0,0   |
| G10    | 2,4   | 3,4   | 4,9   | 3,3   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| G11    | 1,4   | 5,7   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 1,3   | 2,0   |
| L11    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| H8     | 1,4   | 4,5   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,9   | 9,8   |
| H11    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 0,3   | 0,0   |
| I8     | 0,0   | 1,1   | 2,4   | 0,0   | 6,2   | 0,3   | 3,9   |
| I11    | 0,0   | 1,1   | 0,0   | 0,0   | 25,0  | 2,8   | 0,0   |
| 16     | 1,4   | 2,3   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| 18     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 6,2   | 2,8   | 3,9   |
| 17sx   | 1,4   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |

**Tabella 5 - Frequenza (%) di ciascuna tipologia malformativa osservata in ogni lotto**

| codice | wild1 | wild2 | wild3 | wild4 | wild5 | wild6 | wild7 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A1     | 3,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| A5     | 3,0   | 8,1   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 6,4   | 4,3   |
| B5     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 3,6   | 8,7   |
| C1     | 3,0   | 0,0   | 5,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| C4     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| C5     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 2,0   | 37,6  | 36,3  | 42,0  |
| C6     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 2,0   | 25,7  | 12,7  | 20,3  |
| D1     | 3,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D3     | 0,0   | 1,6   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D4     | 6,1   | 4,8   | 0,0   | 6,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| D5     | 9,1   | 6,4   | 0,0   | 2,0   | 3,0   | 0,0   | 0,0   |
| D5*    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,0   | 0,0   | 1,4   |
| D6     | 3,0   | 1,6   | 10,0  | 2,0   | 0,0   | 0,0   | 1,4   |
| D6*    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,0   | 0,0   | 0,0   |
| D26    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 15,8  | 1,8   | 2,9   |
| E8sx   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| E8dx   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| E11    | 0,0   | 6,4   | 5,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| F8     | 3,0   | 1,6   | 0,0   | 0,0   | 1,0   | 0,0   | 0,0   |
| F11    | 0,0   | 12,9  | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 3,7   | 1,5   |
| G9     | 42,4  | 25,8  | 65,0  | 82,0  | 5,0   | 6,4   | 0,0   |
| G10    | 6,1   | 4,8   | 10,0  | 4,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| G11    | 9,1   | 12,9  | 0,0   | 0,0   | 1,0   | 4,5   | 2,9   |
| H8     | 3,0   | 6,5   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 5,5   | 7,3   |
| H11    | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 1,0   | 1,0   | 0,0   |
| I8     | 0,0   | 1,6   | 5,0   | 0,0   | 1,0   | 1,0   | 4,3   |
| I11    | 0,0   | 1,6   | 0,0   | 0,0   | 4,9   | 9,1   | 0,0   |
| 16     | 3,0   | 3,3   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| 17     | 3,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   |
| 18     | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 0,0   | 2,0   | 8,2   | 2,9   |

Sono inoltre in corso una serie di campionamenti di orate allevate in Grandi Volumi presso l'Acquacoltura Lampedusa, provenienti da uova deposte nel novembre 2010, da riproduttori mantenuti secondo il protocollo convenzionale. Si tratta di un'attività in più, utile per ottenere dati aggiuntivi sulla produzione in Grandi Volumi per incrementare il set di informazioni disponibili.

### Bibliografia citata

- Caballero, M.J., Izquierdo, M.S., Kjörsvik, E., Fernández, A.J., Rosenlund, G., 2004. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. *J. Fish Dis.* 27, 531–541.
- Caballero, M.J., Torstensen, B.E., Robaina, L., Montero, D., Izquierdo, M., 2006. Vegetable oils affect the composition of lipoproteins in sea bream (*Sparus aurata*). *Br. J. Nutr.* 96, 830–839.
- Cataudella, S., Russo, T., Lubrano, P., De Marzi, P., Spano, A., Fusari, A., Boglione, C., 2002. An ecological approach to produce "wild like" juveniles of sea bass and sea bream: trophic ecology in semi-intensive hatchery conditions. *Aquaculture Europe 2002 Conference, Trieste, Italy, October 16–19, 2002*, organised by the European Aquaculture Society (EAS). European Aquaculture Society, Extended Abstracts and Short Communications, Special Publication no. 32, Oostende, Belgium, pp. 177–178.
- Dias J., Conceição L. E.C., Ramalho Ribeiro A., Borges P., Valente L. M.P., Dinis M. T., 2009. Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the grow-out phase. *Aquaculture* 293, 255–262.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M., Montero, D., 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for Gilthead seabream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 148, 233–246.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197–227.
- Izquierdo M.S., Fernández-Palacios H., Tacon A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25–42.
- Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G., Ginés, R., 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250, 431–444.
- Menoyo, D., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Ginés, R., Lopez-Bote, C.J., Bautista, J.M., 2004. Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. *Br. J. Nutr.* 92, 41–52.

- Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M.J., Izquierdo, M.S., 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture* 225, 353–370.
- Mourente, G., Carrascosa, M.A., Velasco, C., Odriozola, J.M., 1989. Effect of gilthead sea bream, *Sparus aurata* L.. broodstock diets on egg lipid composition and spawning quality. *EAS Spec. Publ.* 10, 179–180.
- Storebakken, T., Refstie, S., Ruyter, B., 2000. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: Drackley, J.K. (Ed.), *Soy in Animal Nutrition*. Federation of Animal Science Societies, pp. 127–170.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Fish. Sci.* 11, 107–184.
- Zohar, Y., Harel, M., Hassin, S., Tandler, A., 1995. Gilthead seabream. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J., Eds., *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 424 pp.