

PROGETTO BIOLFISH

Sperimentazione degli effetti di diverse densità di allevamento sul benessere dei pesci e sulla qualità del prodotto in un modulo di acquacoltura biologica

Relazione Sintetica

Responsabile: G.B. Palmegiano CNR ISPA

La qualità delle carni di un pesce allevato è in stretta dipendenza con la qualità della filiera produttiva. La qualità e la composizione dell'alimentazione, la densità dei pesci in una vasca o in una gabbia, le modalità di uccisione ed il successivo trattamento di manipolazione e conservazione hanno influenza sulle caratteristiche organolettiche del pesce. Densità elevate e diete a consistente livello di proteina vegetale possono indurre uno stato di sofferenza di bassa intensità che non appare con i normali controlli zootecnici, ma che si manifesta nel lungo periodo sulla qualità del prodotto.

Il regolamento 710/2009 pone in modo insistente l'accento sul benessere in particolare l'articolo 25 septies, sulle Norme generali in materia di allevamento, afferma chiaramente che gli animali di acquacoltura devono disporre di spazio sufficiente e che per determinate i coefficienti di densità, indicati nell'allegato XIII bis, vanno determinati in funzione di alcuni parametri quali pinne danneggiate, altre lesioni, indice di crescita, comportamento manifestato e stato di salute generale. Inoltre al punto 10 dell'incipit del regolamento si dice che: "La produzione di animali di acquacoltura biologica deve garantire il rispetto delle esigenze proprie di ciascuna specie animale". Tuttavia, risultati contraddittori emergono nella review di Ellis e Glasscock nella quale alcuni autori britannici hanno esaminato numerosi studi sull'effetto della densità in allevamenti convenzionali e non convenzionali, hanno concluso che i risultati non sono risolutivi poiché tanti sono i parametri che influenzano il benessere. L'EFSA nella Scientific Opinion del 2008, dice che la densità di stoccaggio, il flusso di acqua e la distribuzione di cibo influenzano tutti le aggressioni e che non sono disponibili in letteratura strategie pratiche per minimizzare il problema.

Stevenson (2007) afferma che la densità è importante in quanto è uno dei fattori, tra cui la qualità dell'acqua, la portata di acqua in ingresso e tipo di alimentazione, che interagiscono per determinare la densità di allevamento e il benessere del salmone e delle trote di allevamento. Ellis e Glasscock (2004) concludono che la densità è "un fattore importante per il benessere dei pesci, ma non può essere considerata separatamente da altri fattori ambientali".

Inoltre, gli stessi autori ammettono che al crescere della densità, da 50 a 170 kg m⁻³, diminuiscono gli indici di crescita e resa, e aumentano le lesioni alle pinne.: "Intra-specific aggression is a cause of poor welfare, causing for example fin damage and reduced access to food and others".

Inoltre, al crescere della densità c'è un significativo aumento del cortisolo plasmatico (Mazur e Iwama (1993) ed una minore sopravvivenza (Sirakov and Ivancheva, 2008).

Nel Nord Europa vi è chi ritiene ammissibile l'uso dell'ossigeno liquido, necessario nei sistemi convenzionali a ricircolo; con questo supporto certamente si ottiene un'ottima ossigenazione delle acque pari a quella ottenibile con basse densità di stoccaggio. Tuttavia, gli studi che sostengono le alte densità fanno riferimento ad un momento storico in cui si privilegiava la quantità rispetto alla qualità e paradossalmente si tratta di lavori scientifici effettuati in quei paesi che non hanno mai avuto grandi produzioni di trote, ma che oggi sono tra i pionieri del biologico.

L'applicazione pratica dei principi e delle prescrizioni contenute nel Reg. CE 710/2009 all'acquacoltura biologica richiede uno specifico approfondimento dal punto di vista tecnico-scientifico, oggetto del presente studio. Infatti, mentre sui diversi aspetti relativi all'acquacoltura convenzionale esiste una copiosa letteratura scientifica, non esistono sufficienti informazioni relative all'impatto dell'applicazione di uno standard di produzione biologica in termini di qualità del processo, oltre che del prodotto.

Pertanto le principali tematiche di rilevanza strategica che sono state approfondite, in relazione allo sviluppo dell'acquacoltura biologica, possono essere sintetizzate come segue.

1. *Performance zootecniche.*
2. *Alimentazione dei pesci. .*
3. *Risposta fisiologica integrata e benessere nei pesci.*
4. *Impatto ambientale.*
5. *Qualità nutrizionale e organolettica. .*

La sperimentazione si è svolta in due impianti, il primo presso l'Azienda agricola Caio di proprietà del dott. Pier Antonio Salvador di Porcia (PN), azienda che ha già deciso di avviare le procedure per la produzione biologica; il secondo presso l'impianto sperimentale della Facoltà di Agraria dell'Università di Torino.



Fig. 1. Impianto Azienda Agricola Caio, Sacile (PN); Vasche di allevamento situate nell'impianto dell'Azienda Agraria Sperimentale dell'Università di Torino (Carmagnola), in alto e in basso, rispettivamente

La parte sperimentale del progetto Biofish consiste nel seguire due lotti di produzione paralleli di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), dalla fase di trotelle alla taglia commerciale, a cui è stato somministrato un mangime biologico con ridotto contenuto in farine di pesce. I lotti hanno avuto una densità di allevamento pari a 10 e 15 kgm⁻³, allo scopo di verificare l'influenza sul risultato finale della diversa alimentazione, in assenza di altre possibili interferenze dovute ad altri fattori. L'attività svolta e coordinata tra tutte le Unità Operative partecipanti al progetto e, in funzione delle prove di allevamento, è stata focalizzata sullo studio della risposta complessiva delle trote allevate a diverse densità ed alimentate con mangime biologico a ridotto contenuto in farine di pesce.

RISULTATI

L'attività coordinata tra le varie Unità Operative ha rappresentato un importante momento di confronto sulle problematiche emerse dalle varie ricerche specifiche ed ha posto le basi per interazioni fruttuose.

Dall'insieme quindi di questi risultati si può affermare che le due densità di allevamento sperimentate non hanno alterato lo stato morfologico dell'intestino e di conseguenza l'assorbimento delle sostanze nutritive, confermando in questo modo i dati relativi alle crescite ed ai parametri zootecnici registrati durante la sperimentazione.

Parametri zootecnici della sperimentazione

	Bassa Densità	Alta densità
Peso medio (g)		
Prima iniziale	401± 9	374± 9
Pesata finale	683±74	673±15
SGR (%) della biomassa	0,65±0,12	0,69±0,04
FCR della biomassa	0,75±0,01	1,16±0,01
PER della biomassa	3,22±0,53	3,13±0,23
FR (%) della biomassa	0,20±0,01	0,22±0,01

Le trote alimentate con l'alimento biologico non presentavano alcuna alterazione vuoi per effetto della formulazione alimentare vuoi per effetto di una corretta gestione. In altre sperimentazioni in condizioni simili a quelle produttive alcune alterazioni si presentavano con un numero di campioni inferiori alla presente sperimentazione. Dall'analisi autoptica anche lo stato dei fegati era ottimale rendendo superflua ogni altra analisi istologica.



Figura 2. Intestino prossimale; nella prima immagine è riportato il lume intestinale e nella seconda a maggior ingrandimento il dettaglio dei villi.

I pesci, contrariamente alla maggior parte degli animali superiori, vivono e si muovono in un mezzo tridimensionale. Questo particolare mezzo è “vitale” per la loro sopravvivenza e per l’espressione della loro completa gamma di comportamenti naturali. Per questa ragione, il concetto di spazio minimo per i pesci risulta sicuramente più complesso rispetto agli animali terrestri e ciò rende ancor più delicate le implicazioni circa le densità di allevamento. Inoltre, tra i pesci, esistono marcate differenze interspecifiche ed intraspecifiche in merito alle necessità di spazio e tolleranza della densità di allevamento.

In generale, le alte densità di allevamento portano ad un aumento dell’attività di nuoto e delle interazioni con gli altri pesci, il che comporta un incremento della spesa energetica fino a livelli che possono rivelarsi nocivi per i processi fisiologici. In particolar modo, una più elevata attività muscolare può risolversi in un più elevato consumo del metabolismo anaerobio. Questo, a sua volta, rappresenta l’energia di riserva impiegata per far fronte a situazioni di stress. Una minore

disponibilità di queste riserve può essere causa di una riduzione delle capacità del pesce di reagire ad altri eventi di stress nel proprio ambiente. I fenomeni generalmente associati alle alte densità (diminuzione dei tassi di crescita, compromesso stato nutrizionale, incremento del tasso di conversione degli alimenti, erosione delle pinne e mortalità) sono causati dal deterioramento del comportamento (aumento di competizione, aggressione, danni fisici e cannibalismo) e della qualità dell'acqua

Le prove di U_{crit} hanno confermato la descrizione della trota iridea come un buon nuotatore, in grado di raggiungere velocità fino a circa 1.28 m/s, in termini assoluti e 3.71 BL/s, in termini relativi. Anche per ciò che riguarda i risultati del consumo di ossigeno i valori di *standard metabolic rate* stimati nel presente lavoro sono compresi nel *range* dei valori riportati in letteratura per questa specie. Anche i valori di *active metabolic rate* stimati nel presente lavoro risultano compresi nel *range* dei valori riportati in letteratura per animali della stessa taglia.



Figura 3. Laboratorio di telemetria presso la COISPA Tecnologia & Ricerca (BA). A: Terminali per le connessioni dei wire; B: Camera di nuoto di Blažka; C: Centralina elettrica; D: Amplificatore

E' stato possibile appurare che già dalle velocità di nuoto più basse la spinta propulsiva è sempre più sostenuta dal muscolo rosso il cui ruolo, all'aumentare della velocità, diventa sempre più determinante. L'intervento del muscolo bianco, in termini di attivazione, è lento e non raggiunge, comunque, elevati livelli di coinvolgimento nella generazione della spinta, anche in prossimità dell' U_{crit} . La trota iridea appare, quindi, capace di affrontare il nuoto prolungato a velocità medio-basse, coinvolgendo maggiormente le fibre muscolari a contrazione lenta del muscolo rosso. Durante il nuoto, le fibre più profonde e più veloci sono sempre più coinvolte, così come dimostrato anche da Ellerby et al. (2001), ma non tanto da garantire una lunga resistenza in prossimità della velocità critica di nuoto.

La trota iridea si è, invece, confermata un nuotatore "generico" poiché non è specializzato né nel nuoto di resistenza né nel nuoto di accelerazione: espleta entrambi ragionevolmente bene. I livelli medi di attività diurna, nelle due densità sperimentali, sono stati rispettivamente di 56.62 ± 0.083 e 65.30 ± 0.098 , per la bassa e l'alta densità. Sebbene essi siano risultati significativamente differenti nelle due densità, corrispondono a livelli di consumo di ossigeno pari a 334.3 e 392.2 $\text{mgO}_2/\text{kg/h}$. Tali livelli di richiesta energetica sono abbondantemente al di sotto della soglia critica, identificata con il SFA (549.03 $\text{mgO}_2/\text{kg/h}$). Questo dato fa intendere che, sebbene siano state riscontrate significative differenze tra i gruppi sperimentali in termini di richiesta di ossigeno e di attività

muscolare, le densità raggiunte sono tali da non generare condizioni critiche per il benessere e la sopravvivenza della specie in allevamento. Viene, anzi, garantito un ampio margine di energia per il resto delle funzioni vitali non basali: riproduzione, crescita, difesa da stress di vario tipo.

Per quanto riguarda le analisi dei parametri ematologici, i risultati non mostrano evidenti differenze tra gli effetti causati dalla densità sui due gruppi sperimentali. Infatti, per la maggior parte dei parametri analizzati si riscontra, sia nel gruppo a bassa densità che nel gruppo ad alta densità, un significativo aumento dei valori dall'inizio della prova alla sua conclusione. Gli unici valori a non seguire questo andamento sono stati il lattato e il cortisolo, infatti, nel gruppo a bassa densità non è stata osservata alcuna variazione significativa nel tempo. Anche dal confronto dei risultati ottenuti alla fine del trattamento tra i due gruppi sperimentali non si sono evidenziate differenze significative se non nell'ematocrito e nella conta eritrocitaria, in cui si osservano valori più bassi nel gruppo ad alta densità

Le variazioni di ematocrito spesso riflettono un abbassamento della disponibilità di ossigeno o della qualità dell'acqua ed intervengono come strategia per contrastare questi fattori di stress: interviene il rilascio di epinefrina (catecolamina) al quale seguono contrazioni della milza, determinando un maggiore rilascio nel circolo ematico di eritrociti immaturi, di solito più efficienti nel trasporto di ossigeno. L'incremento dell'ematocrito è accompagnato dall'aumento della viscosità del sangue che, in ultima analisi, può causare un aumento dello sforzo cardiaco.. Le variazioni di Hct osservate nei due gruppi sperimentali sono state accompagnate dal significativo aumento della conta eritrocitaria, che, comunque, è rimasta entro i livelli fisiologici. I pesci hanno manifestato una risposta positiva alle condizioni sperimentali. L'aumento delle densità, probabilmente anche taglia-dipendente, ha stimolato nei due gruppi delle risposte fisiologiche tali da permettere il completo adattamento degli individui senza un eccessivo dispendio di energia metabolica. Infatti, proprio l'incremento dei valori plasmatici di lisozima dimostra come la risposta fisiologica sia stata orientata verso la compensazione e non ha raggiunto la condizione di deterioramento del benessere, e quindi della stessa risposta fisiologica di adattamento.

I valori delle misure ottenuti nell'impianto friulano non si sono discostate da quanto previsto con le prime determinazioni e ovviamente i valori più alti si riscontrano nelle vasche a maggior densità: 0,250 ppm contro 0,344 ppm: con oscillazioni a seconda delle ore del giorno tra un minimo di 0,169 ppm ed un massimo di 0,348 ppm per la bassa densità e un minimo di 0,331 ppm ed un massimo di 0,356 ppm per la massima densità.

Nella situazione sperimentale dell'impianto l'azoto cresce dalle prime ore di luce dal minimo notturno, quando i pesci sono al minimo dell'attività, per giungere ad un massimo attorno alle 17. In questa condizione sperimentale si sono registrati un valor minimo a 0,35 ppm per la bassa densità e poco sotto gli 0,50 ppm per l'alta densità; con picchi sempre attorno alle 17 con valori che vanno dagli 0,75 ppm per la bassa Densità e gli 0,80 per l'alta densità.

Il fosforo ha variazioni più contenute, in impianto supera in un solo caso e sia pur di poco gli 0,12 ppm con il picco che si verifica tra 3 e le 4 ore dopo il pasto; poi cala rapidamente. Il fosforo, al contrario non segue lo stesso andamento non manifestando nelle vasche dell'impianto un incremento apprezzabile.

Dai risultati ottenuti é emerso come non sia significativo l'effetto della densità, comunque bassa, scelta per l'allevamento delle trote, sulla loro qualità chimico-nutrizionale. E' evidente invece il ruolo del mangime nel determinare la qualità nutrizionale del pesce in particolare influenzando il livello di acidi grassi polinsaturi n-3. Tali acidi grassi entrano nella costituzione delle nostre membrane cellulari, sono essenziali per lo sviluppo cerebrale e della retina, ma soprattutto sono precursori di eicosanoidi (prostaglandine, trombocani, leucotrieni) che migliorano la fluidità del sangue prevenendo la formazione di trombi, hanno importanti funzioni nelle reazioni infiammatorie ed in numerose altre funzioni.

Per la sostenibilità del sistema produttivo, la ricerca nel settore mangimistico si è sempre di più spostata verso formulazioni a basso impatto ambientale dove si valuta sempre di più la sostituzione di parte della farina di pesce e olio di pesce, elementi base dei mangimi per l'acquacoltura, con farine ed oli vegetali. Risulta quindi importante l'approfondimento delle attuali conoscenze

sull'impiego di fonti lipidiche e proteiche alternative non limitandosi solamente agli aspetti zootecnici ma anche studiando i possibili riflessi che questo impiego pone nei riguardi dello stato di salute, resistenza agli stress ambientali, qualità nutrizionale ed organolettica del prodotto. I valori della consistenza sono stati misurati attraverso la resistenza al taglio con strumento in figura



Figura 4. Probe per la misura della resistenza al taglio sui campioni di filetti del pesce crudo, spessore 1 mm, apertura taglio 6 cm.

Prolungando il tempo di conservazione a 4°C prima della cottura si osserva una diminuzione significativa della risposta dei sensori più affini ai composti aromatici, a composti aromatici alifatici e metano alifatici W3S, e un aumento significativo delle risposte dei sensori di più ampio spettro quali metano, alcool e composti solfurei clorurati. Questa evoluzione del pattern sensoristico è consistente con l'evoluzione dei composti volatili legati alla freschezza del pesce riportati in letteratura. Più precisamente è riportato che nei primi 3-4 giorni, quando comunque i pesci sono giudicati dal punto di vista organolettico con odore di pesce fresco, si assiste ad un notevole incremento di "fresh fish alcohols" accoppiato ad una diminuzione di "fresh fish carbonyls".

La modalità di allevamento ha influenzato la risposta dei sensori metano, alcool e metano alifatici. Infatti i pesci allevati a Bassa Densità erano caratterizzati da risposte minori di questi sensori, rispetto a quelli tenuti ad Alta Densità, anche se la differenza è risultata statisticamente significativa solo per il sensore per i metano alifatici

I risultati indicano che al primo giorno non esiste una chiara differenza nel pattern sensoristico tra i due sistemi di allevamento.

Infine viene riportata la tabella relativa al contenuto in acidi grassi dei lipidi totali delle trote di Carmagnola al tempo T=0 in pools di pesci di diversa taglia (% degli acidi grassi totali).

	TEMPO T=0	
	Pool 1	Pool 2
	Taglia 220- 250 g	Taglia 320-370 g
	<i>Media ± ds</i>	<i>Media ± ds</i>
C 14:0	2.59±0,04	2.93±0,06
C 15:0	0.22±0,00	0.24±0,01
C 16:0	13.16±0,06	13.63±0,26
C 17:0	0.20±0,00	0.24±0,00
C 18:0	3.74±0,02	3.78±0,02
C 19:0	0.04±0,00	0.06±0,02
Saturi totali	20.15±0,03	21.05±0,37
C 16:1 n – 7	3.42±0,02	3.98±0,088
C 18:1 n – 9	20.93±0,08	17.49±0,02
C 18:1 n – 7	2.31±0,00	2.50±0,02
C 20:1 n – 9	1.66±0,02	1.04±0,03
C 20:1 n – 11	0.21±0,00	0.13±0,00
C 22:1 n – 9	0.19±0,01	0.12±0,00
C 22:1 n – 11	1.39±0,03	0.81±0,04
C 24:1 n – 9	0.22±0,00	0.19±0,01
Monoinsaturi tot	30.35±0,04	26.28±0,04
C 18:2 n – 6	19.74±0,04	23.84±0,01
C 18:3 n – 6	0.29±0,00	0.41±0,02
C 18:3 n – 3	3.91±0,02	2.72±0,07
C 18:4 n- 3	0.96±0,01	1.00±0,01
C 20:2 n – 6	0.70±0,01	0.66±0,01
C 20:4 n – 3	0.67±0,00	0.60±0,01
C 20:4 n – 6	0.64±0,00	0.64±0,01
C 20:5 n – 3	3.87±0,01	4.91±0,11
C 22:4 n – 6	0.03±0,00	0.07±0,01
C 22:5 n – 3	1.59±0,03	1.75±0,05
C 22:6 n – 3	11.72±0,15	10.63±0,33
Polinsaturi totali	44.46±0,07	47.63±0,41
<i>somma n – 3</i>	22.74±0,17	21.60±0,43
<i>somma n – 6</i>	21.41±0,09	25.61±0,01
<i>n – 3 / n-6</i>	1.06±0,01	0.84±0,02

Da questa tabella è evidente invece il ruolo del mangime nel determinare la qualità nutrizionale del pesce in particolare influenzando il livello di acidi grassi polinsaturi n-3. Tali acidi grassi entrano nella costituzione delle nostre membrane cellulari, sono essenziali per lo sviluppo cerebrale, ma soprattutto sono precursori di eicosanoidi (prostaglandine, trombossani, leucotrieni) che migliorano la fluidità del sangue prevenendo la formazione di trombi, hanno importanti funzioni nelle reazioni infiammatorie ed in numerose altre funzioni.

In **conclusione**, dai risultati ottenuti é emerso come non sia significativo l'effetto della densità, comunque bassa, scelta per l'allevamento delle trote, sulla loro qualità chimico-nutrizionale. E' evidente invece il ruolo del mangime nel determinare la qualità nutrizionale del pesce in particolare influenzando il livello di acidi grassi polinsaturi n-3.

Per la sostenibilità del sistema produttivo, la ricerca nel settore mangimistico si è sempre di più spostata verso formulazioni a basso impatto ambientale dove si valuta sempre di più la sostituzione di parte della farina di pesce e olio di pesce, elementi base dei mangimi per l'acquacoltura, con farine ed oli vegetali. Risulta quindi importante l'approfondimento delle attuali conoscenze sull'impiego di fonti lipidiche e proteiche alternative non limitandosi solamente agli aspetti zootecnici ma anche studiando i possibili riflessi che questo impiego pone nei riguardi dello stato di salute, resistenza agli stress ambientali, qualità nutrizionale ed organolettica del prodotto.