





ACCADEMIA  
DEI GEORGOFILI



MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE  
ALIMENTARI E FORESTALI



MISURARE LA QUALITÀ IN ACQUACOLTURA.  
UN APPROCCIO SCIENTIFICO  
A SERVIZIO DELLE AZIENDE  
E DEI CONSUMATORI

I GEORGOFILI  
Quaderni 2010-IV

Firenze, 4 marzo 2010



EDIZIONI POLISTAMPA

*Programma di ricerca realizzato con il contributo del*



**MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE  
ALIMENTARI E FORESTALI**



Copyright © 2011  
Accademia dei Georgofili  
Firenze  
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»  
Anno 2010 - Serie VIII - Vol. 7 (186° dall'inizio)

Direttore responsabile: Paolo Nanni

Edizioni Polistampa  
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze  
Tel. 055 737871 (15 linee)  
[info@polistampa.com](mailto:info@polistampa.com) - [www.polistampa.com](http://www.polistampa.com)  
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-0905-6

Servizi redazionali, grafica e impaginazione  
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

## INDICE

BIANCA MARIA POLI <i>Benvenuto del moderatore e presentazione della problematica</i>	7
MARIA SEVERINA LIBERATI <i>Evoluzione del contesto normativo in materia d'acquacoltura</i>	II
CLARA BOGLIONE, ELISA PALAMARA, TOMMASO RUSSO, CORRADO COSTA, FRANCESCA ANTONUCCI, STEFANO CATAUDELLA <i>L'analisi della qualità morfologica di orate lungo la filiera produttiva</i>	27
ELENA ORBAN, GABRIELLA DI LENA, TERESINA NEVIGATO <i>Il pesce di acquacoltura nella moderna alimentazione</i>	35
GIOVANNI B. PALMEGIANO <i>Formulazioni di diete biologiche, esperienze realizzate</i>	39
GIUSEPPE LEMBO, WALTER ZUPA <i>Il benessere dei pesci in allevamento</i>	51
GIOVANNA MARINO, PATRIZIA DI MARCO, TOMMASO PETOCHI <i>Il benessere animale negli schemi di certificazione per l'acquacoltura, biologica inclusa</i>	67
MARCO GALEOTTI, CHIARA BULFON, DONATELLA VOLPATTI, EMILIO TIBALDI, JOSÉ MALVISI <i>Fitoterapici: prospettive di utilizzo in acquacoltura</i>	93

GIOVANNI BERNARDINI, ROSALBA GORNATI, GENCIANA TEROVA, MARCO SAROGLIA <i>Approccio molecolare per misurare la qualità in acquacoltura</i>	123
BIANCA MARIA POLI, GIULIA ZAMPACAVALLLO, GIANLUCA GIORGI <i>Standard di qualità per l'acquacoltura, biologica inclusa</i>	131
PIERANTONIO SALVADOR <i>Problematiche relative alla produzione di acquacoltura</i>	153
MARCO SCOLARI <i>Problematiche relative alla produzione di mangimi per acquacoltura biologica</i>	155
RENATO PALAZZI <i>Produzione semi-intensiva di spigola, secondo il metodo biologico, in ambiente vallivo</i>	157
STEFANO CATAUDELLA <i>Considerazioni conclusive</i>	159
Premio Giancarlo Geri 2009	165

BIANCA MARIA POLI\*

## Benvenuto del moderatore e presentazione della problematica

Ringrazio l'Accademia – di cui mi onoro far parte – dell'accoglienza al convegno *Misurare la qualità in acquacoltura. Un approccio scientifico a servizio delle aziende e dei consumatori* in questa sede prestigiosa. Si tratta di una ulteriore conferma del suo ruolo indiscusso nel facilitare la sintesi tra gruppi di ricerca e mondo produttivo e amministrativo nel settore agricolo. Particolare attenzione viene rivolta in questo caso a promuovere vicinanza tra i processi conoscitivi e la crescita di un settore emergente, la produzione di prodotti ittici da acquacoltura, produzione biologica inclusa, ormai accolta a pieno titolo fra gli ambiti di interesse di questa Accademia.

Il contributo della ricerca scientifica è stato fondamentale nell'accelerazione dello sviluppo della moderna acquacoltura, come peraltro avvenuto negli altri settori industriali. I diversi sistemi della produzione utilizzati hanno tratto beneficio dai supporti della ricerca, soprattutto per quanto attiene alla comprensione dei meccanismi di base, a vari livelli a seconda delle differenti discipline coinvolte, rispetto ai precedenti modelli di crescita basati esclusivamente su approcci empirici. Nelle aziende produttive si è sviluppata una mentalità scientifica anche grazie alle numerose collaborazioni con il mondo della ricerca pubblica e privata che programmi nazionali e internazionali hanno consentito di sviluppare. Anche la ricerca pubblica, finalizzata a ottimizzare le politiche di controllo (ambientale, igienico-sanitario, alimentare, benessere, ecc.), ha consentito la crescita di sistemi appropriati di “controllo” dello sviluppo dell'acquacoltura per indirizzarlo verso modelli sostenibili. In questo quadro lo sforzo per “misurare la qualità” con approcci scientifici, capaci di mettere in rete le conoscenze e le informazioni disponibili, insieme

\* Dipartimento di Biotecnologie agrarie, Sezione Scienze animali, Università degli Studi di Firenze

allo sviluppo di sistemi di certificazione sempre più affidabili, appare uno dei compiti più difficili da svolgere. La sfida tuttavia pare entusiasmante, in particolare per il gruppo di ricerca dell'Università di Firenze, cui appartengo, che lavora per la misura della qualità e dei cambiamenti della qualità ormai da una ventina di anni e che è particolarmente sensibile a questa prospettiva.

I contenuti della giornata di studio sono più ampi del messaggio sintetizzato nel titolo *Misurare la qualità in acquacoltura. Un approccio scientifico a servizio delle aziende e dei consumatori*. Sarà infatti anche l'occasione per riportare i risultati e lo stato di avanzamento di progetti coordinati finanziati dal MIPAAF sulla qualità totale e sulle basi scientifiche della acquacoltura biologica e saranno affrontati aspetti relativi ai sistemi di certificazione e ai protocolli per l'acquacoltura biologica, per i quali la centralità di un approccio scientifico per valutare i sistemi risulta essenziale.

TITOLO DEL PROGETTO COORDINATO: Qualità totale in acquacoltura per l'innovazione strategica e per il recupero della competitività: descrittori tecnico-economici e linee guida		
U.O.	DENOMINAZIONE	TITOLO
1	Coordinamento Università di Roma Tor Vergata (Stefano Cataudella)	Validazione di indicatori morfo-fisiologici della filiera produttiva di spigola ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) ed orata ( <i>Sparus aurata</i> ) e modello di riferimento (su base coordinata) per la costruzione di un sistema esperto
2	INRAN – Roma (Elena Orban)	Identificazione di descrittori chimico-nutrizionali e sensoriali per la costruzione di un “sistema qualità” per le principali specie ittiche dell’acquacoltura italiana
3	Università di Padova (Vasco Boatto)	Aspetti socio-economici della qualità integrata: la certificazione come strategia competitiva
4	Università di Siena (Silvano Focardi)	Sicurezza e salute del prodotto ittico di acquacoltura in funzione della dieta e dell’ambiente di allevamento
5	Università dell’Insubria (Marco Saroglia)	Indicatori molecolari di stress, welfare e qualità della filiera in acquacoltura
6	IZS-Roma (Teresa Bossù)	Indicatori di qualità igienico-sanitaria della filiera di spigola ed orata allevate
7	Università di Palermo (Antonio Mazzola)	Validazione sperimentale di descrittori per la messa a punto di protocolli di qualità ambientale per impianti di maricoltura
8	Università di Firenze (Bianca Maria Poli)	Studio degli indicatori post mortem della qualità del pesce in relazione allo stress alla morte e alle procedure post raccolta
9	ICRAM – Roma (Giovanna Marino)	Validazione di indicatori di benessere in spigola ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) ed orata ( <i>Sparus aurata</i> ) per modelli innovativi di qualità in acquicoltura

<b>TITOLO DEL PROGETTO COORDINATO:</b>		
Azione concertata per l'identificazione di contributi scientifici per lo sviluppo dell'acquacoltura biologica in Italia		
U.O.	DENOMINAZIONE	TITOLO
1	Coordinamento INRAN – Roma (Elena Orban)	Qualità nutrizionale, organolettica ed alcuni aspetti della sicurezza d'uso del prodotto
2	ISPA-CNR - Torino (Giovanni Palmegiano)	Caratterizzazione della filiera di produzione dei mangimi biologici in relazione ai fabbisogni dietetici dei pesci
3	ISPRA - Roma (Giovanna Marino)	Sviluppo di standard per il benessere animale in schemi di certificazione d'acquacoltura biologica
4	COISPA – Bari, API (Giuseppe Lembo)	Descrittori del benessere animale: capacità funzionale e risposta fisiologica integrata
5	Università di Roma Tor Vergata (Stefano Cataudella)	Stress e forma nella fasi di riproduzione ed allevamento
6	Università di Firenze (Bianca Maria Poli)	Stress alla morte e conservabilità del prodotto
7	Università dell'Insubria (Marco Saroglia)	Approccio molecolare di identificazione di descrittori precoci degli standard nutrizionali e di benessere del pesce
8	Università di Palermo (Antonio Mazzola)	Messa a punto di descrittori di qualità del prodotto e dell'ambiente
9	Università di Udine (Marco Galeotti)	Aspetti alimentari e di prevenzione e cura delle malattie nelle specie allevate
10	UNIMAR –Roma (Adriano Mariani)	Analisi del settore dell'acquacoltura

## Evoluzione del contesto normativo in materia d'acquacoltura

### INTRODUZIONE

Nell'economia di differenti civiltà, i Fenici, gli Etruschi e i Romani, l'allevamento dei pesci ha rivestito un ruolo di rilievo; i Romani in particolare allevavano le murene, le anguille in apposite vasche sulla costa laziale e sulle isole dell'arcipelago Toscano (come l'Isola del Giglio, o Ponza); in sostanza la pratica dell'acquacoltura è stata accertata fin da tempi molto antichi nel I secolo a.C. (Maar et al., 2007).

L'acquacoltura nasce come attività di supporto alla pesca e a partire dagli anni '70 si è organizzata su scala industriale registrando tassi di sviluppo elevati. Costituisce oggi un settore economico molto importante della produzione alimentare: nel 2003 ha contribuito per circa il 31% (41,9 milioni di tonnellate) su un totale di circa 132,2 milioni di tonnellate di pesce pescato. La sua crescita nel mondo è molto rapida, per molte specie oltre il 10% annuo, mentre al contrario il contributo della pesca tradizionale è rimasto costante, se non in diminuzione nell'ultimo decennio.

Tra i prodotti da acquacoltura più diffusi, troviamo: il salmone, la carpa, la tilapia, il pesce latte, il pangasio, l'orata, il branzino o spigola, la trota iridea, i peneidi o mazzancolle (*Peneus spp.*).

Per motivi ambientali e di sostenibilità, la FAO indica l'acquacoltura come una fondamentale opportunità per fornire risorse alimentari alla popolazione mondiale, soprattutto per una maggiore diversificazione della dieta, non solo a beneficio dei paesi più poveri, ma anche per sostenere i consumi dei paesi occidentali, in considerazione della costante riduzione degli stock ittici naturali.

\* *Direzione Generale della Pesca Marittima e dell'Acquacoltura, PEMAC IV, Roma*

Altri aspetti interessanti del prodotto proveniente da acquacoltura sono la rintracciabilità e la sua sicurezza alimentare, soprattutto per quanto riguarda il rischio di bioaccumulo di alcuni contaminanti ambientali quali i metalli pesanti, i policlorobifenili (PCB) e le diossine, che tendono a concentrarsi attraverso la catena alimentare acquatica, particolarmente nelle specie ittiche bentoniche e pelagiche di grandi dimensioni quali ad esempio i tonni, i pesci spada, la rana pescatrice, alcuni squali e razze.

#### CARATTERISTICHE DEL SETTORE ITTICO E DELL'ACQUACOLTURA

Ha fatto segnare un incremento che già nel 2005 era pari a 516,5 mila tonnellate, per un ricavo complessivo di 1.976 milioni di euro, ha fatto registrare un calo del 4,3% in volume e un aumento dello 0,7% in valore rispetto all'anno precedente. Nonostante la flessione della produzione interna, le esportazioni in quantità di pesci, molluschi e crostacei hanno evidenziato una significativa crescita percentuale (+7,8%). Dal lato del valore l'aumento è risultato dell'11,3%.

In particolare, l'export italiano di pesci, che dall'anno in esame ha inciso, sia in volume sia in valore, per oltre due terzi sulle spedizioni totali all'estero di prodotti ittici (esclusi gli oli e i grassi, le farine e altri prodotti non destinati all'alimentazione umana), ha fatto segnare già dal 2005 un incremento delle quantità vendute del 7,4%, accompagnato da un +14,8% delle entrate monetarie; le vendite di molluschi (che hanno inciso all'incirca per un quarto sull'export italiano di prodotti ittici) sono cresciute del 9,4% in quantità e del 5,4% in valore, quelle di crostacei rispettivamente del 3% e del 3,8%.

L'incidenza del settore è di grande rilevanza sull'intero comparto, l'acquacoltura si può definire il volano per la crescita dell'intera produzione ittica nazionale a fronte della flessione produttiva del comparto pesca negli ultimi anni. In sostanza pone un freno alla dipendenza del mercato italiano dagli acquisti oltre frontiera ponendosi come elemento di competitività nella capacità di diversificare l'offerta con l'introduzione di nuove specie e taglie.

L'indotto dell'acquacoltura convoglia in sé poco meno di 8000 addetti; circa 800 impianti dislocati soprattutto nelle regioni del Veneto, Emilia Romagna, seguite da Liguria, Lombardia, Friuli Venezia Giulia e Lombardia.

La produzione ittica italiana si compone percentualmente da un 55% pescato e un 45% allevato in linea generale; dal 2006 la produzione acquicola

è tornata a crescere confermando il nostro paese tra i principali produttori europei insieme a Spagna, Francia, Regno Unito e Grecia.

L'evoluzione del contesto normativo accompagna l'evoluzione delle dinamiche socio-economiche e delle tecnologie produttive, infatti il settore dell'acquacoltura rappresenta oggi un elemento di estrema attualità sia in ambito comunitario che nazionale. Il settore della pesca è stato oggetto, nel corso degli anni, di crescente attenzione e interesse da parte del legislatore. Ai fini di una armonizzazione e razionalizzazione delle disposizioni normative in materia nonché di modernizzazione del settore stesso in effetti tale normativa è frutto di molteplici provvedimenti emanati in periodi anche molto lontani e diversi tra loro, per cui si è giunti alla coesistenza di disposizioni cui sottendono concezioni del tutto eterogenee e, addirittura, in qualche caso, disomogenee. Ciò rende difficile l'individuazione dei beni giuridici protetti poiché, nel corso degli anni, diversi sono stati gli interessi considerati meritevoli di tutela da parte dei vari legislatori. Accanto a disposizioni rivolte alla protezione della pesca intesa quale esercizio di una situazione giuridica soggettiva sussistono altre dirette a tutelare, in via prioritaria, le risorse biologiche del mare e l'ambiente marino.

Lo stato della normativa di settore appena descritto, in ragione dei diversi interessi tutelati ha dato vita a un sistema per certi versi in precario equilibrio, costringendo l'interprete a un lavoro di coordinamento fra le numerose disposizioni succedutesi nel tempo che hanno richiesto e richiedono ancora un intervento politico-legislativo coordinato e continuativo.

Nel corso degli ultimi anni il legislatore ha risposto un quesito importante inquadrando giuridicamente, con chiarezza, il ruolo dell'imprenditore ittico che viene equiparato all'imprenditore agricolo e infatti così come dal codice civile: «Sono imprenditori agricoli ai sensi dell'art. 2135 del c.c. i soggetti, persone fisiche o giuridiche, singoli o associati, che esercitano l'acquacoltura e le connesse attività di prelievo sia in acque dolci, sia in acque salmastre e marine»<sup>1</sup> e ancora: «È imprenditore agricolo chi esercita una delle seguenti attività: coltivazione del fondo, selvicoltura, allevamento di animali e attività connesse. Per coltivazione del fondo, per selvicoltura e per allevamento di animali si intendono le attività dirette alla cura e allo sviluppo di un ciclo biologico o di una fase necessaria del ciclo stesso, di carattere vegetale o animale, che utilizzano o possono utilizzare il fondo, il bosco o le acque dolci, salmastre o marine»<sup>2</sup>

<sup>1</sup> L. 102/92 integrata da L. 122/01.

<sup>2</sup> Art. 1 D.lgs. 228/01.

## L'EVOLUZIONE NORMATIVA NEGLI ULTIMI DIECI ANNI DEL COMPARTO ITTICO

La produzione di acquacoltura ha continuato a giocare un ruolo centrale anche a seguito dell'emanazione del regolamento n. 104/2000/CE<sup>3</sup>, con il quale si è provveduto a riorganizzare l'architettura del mercato di riferimento nel contesto comunitario sulla base delle rinnovate caratteristiche del sistema produttivo della pesca e dell'acquacoltura europee.

In particolare, le esigenze di garantire al contempo uno sfruttamento sostenibile della risorsa, un congruo reddito agli operatori nonché un'offerta soddisfacente ai consumatori in termini di quantità e qualità hanno rafforzato le produzioni di acquacoltura laddove hanno previsto l'applicazione di norme comuni di commercializzazione e di conseguenti misure di controllo su tali produzioni. Produzioni che vengono annoverate tra i prodotti della pesca, intesi come «i prodotti delle catture in mare o nelle acque interne e i prodotti dell'acquacoltura»<sup>4</sup>, per i quali il regolamento fornisce la specifica designazione merceologica e la relativa codifica. Successivamente vengono fornite le disposizioni relative alle norme di commercializzazione e informazione dei consumatori<sup>5</sup>, alle organizzazioni dei produttori e agli accordi interprofessionali<sup>6</sup>, a prezzi e interventi finanziari<sup>7</sup> nonché agli scambi con i Paesi terzi<sup>8</sup>.

Il regolamento 104/2000/CE pone delle basi che verranno però sviluppate appieno soltanto con la nuova programmazione relativa al periodo 2007-2013, la cui finalità principale sarà la garanzia della sostenibilità economica, ambientale e sociale del settore pesca e acquacoltura al fine di ridurre lo sforzo di pesca e proteggere l'ambiente marino.

La Politica comune della pesca (PCP), attraverso queste priorità strategiche, conferisce quindi un ruolo centrale al sistema produttivo dell'acquacoltura e al relativo quadro politico-legislativo, prevedendo appositi strumenti a sostegno del settore.

Il regolamento 1198/2006/CE<sup>9</sup>, che sostituisce i regolamenti 1263/99/CE<sup>10</sup> e 2792/99/CE<sup>11</sup>, definisce a tale scopo il nuovo quadro normativo di

<sup>3</sup> «relativo all'Organizzazione comune dei mercati nel settore dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura» – GUCE L 17 del 21/01/2000.

<sup>4</sup> Reg. 104/2000/CE art. 1 par. 2.

<sup>5</sup> Titolo I del Reg. 104/2000/CE.

<sup>6</sup> Titoli II e III del Reg. 104/2000/CE.

<sup>7</sup> Titolo IV del Reg. 104/2000/CE.

<sup>8</sup> Titolo V del Reg. 104/2000/CE.

<sup>9</sup> «relativo al Fondo europeo per la pesca» – GUCE L 223 del 15/08/2006.

<sup>10</sup> «relativo allo strumento finanziario di orientamento della pesca» – GUCE L 161 del 26/06/1999.

<sup>11</sup> «che definisce modalità e condizioni delle azioni strutturali nel settore della pesca» – GUCE L 337 del 30/12/1999.

base per l'elaborazione dei documenti di programmazione relativi al periodo di riferimento.

Il Fondo europeo per la pesca (FEP), le cui modalità applicative sono disposte dal regolamento 498/07/CE<sup>12</sup>, tiene conto dei nuovi sviluppi nel campo della pesca e dell'acquacoltura e definisce tre obiettivi principali: facilitare l'attuazione della Politica Comune della Pesca promuovendo un equilibrio sostenibile tra le risorse e la capacità di pesca della flotta, aiutare le comunità dei pescatori a diversificare la loro economia e compensare i soggetti per la fuoriuscita dal settore, accrescere la sussidiarietà attraverso una gestione concorrente efficiente e condivisa. A tal fine il Reg. 1198/06/CE individua cinque assi prioritari del FEP verso cui indirizzare le risorse comunitarie:

- adeguamento della flotta da pesca comunitaria;
- acquacoltura, pesca in acque interne, trasformazione e commercializzazione;
- misure di interesse comune;
- sviluppo sostenibile delle zone di pesca;
- assistenza tecnica.

Nell'ambito dell'asse 2 assumono particolare rilievo le misure per gli investimenti produttivi nel settore dell'acquacoltura<sup>13</sup>: tali investimenti sono destinati alla costruzione, all'ampliamento e all'ammodernamento di impianti per la diversificazione verso nuove specie<sup>14</sup>, al sostegno di metodi di allevamento rispettosi dell'ambiente<sup>15</sup> e di forme di acquacoltura tradizionale<sup>16</sup> nonché al miglioramento delle condizioni di lavoro e di sicurezza. L'asse 2 del FEP sostiene anche l'attuazione di misure idro-ambientali<sup>17</sup> attraverso forme di allevamento che abbiano un impatto positivo sull'ambiente, la partecipazione a programmi EMAS<sup>18</sup>, l'attuazione di metodi di produzione biologica

<sup>12</sup> «recante modalità di applicazione del Reg. 1198/06/CE relativo al Fondo europeo per la pesca» – GUCE L 120 del 10/05/2007.

<sup>13</sup> Reg. 1198/06/CE art. 29.

<sup>14</sup> Si intendono tali quelle la cui produzione è scarsa o inesistente e per le quali esistono buone prospettive di mercato.

<sup>15</sup> Come l'allevamento off-shore (in zone marine non protette) e l'allevamento con ricircolo idrico.

<sup>16</sup> Ovvero con pratiche consolidate nel tempo, correlate al contesto sociale e al patrimonio culturale di una determinata zona.

<sup>17</sup> Reg. 1198/06/CE art. 30.

<sup>18</sup> Eco-Management and Audit Scheme: strumento volontario per valutare e migliorare le proprie prestazioni ambientali e fornire informazioni sulla propria gestione ambientale (Reg. 1221/09/CE – GUCE L 342 del 22/12/2009).

e di pratiche di acquacoltura sostenibile compatibili con i vincoli delle zone appartenenti alla Rete Natura 2000<sup>19</sup>.

Un'altra linea di intervento importante all'interno di questo asse del FEP riguarda il sostegno alla trasformazione e commercializzazione<sup>20</sup>, finalizzato a interventi aziendali per migliorare le condizioni di lavoro, l'igiene, la qualità dei prodotti, per ridurre l'impatto ambientale, commercializzare nuove produzioni e migliorare l'uso di specie poco diffuse.

Nell'ambito delle misure di interesse comune<sup>21</sup>, tra le altre, i finanziamenti comunitari possono altresì essere indirizzati verso azioni collettive (promozione di metodi di pesca selettivi, rimozione attrezzi da pesca dai fondali, elaborazione di piani locali di gestione), misure per la preservazione di fauna e flora selvatiche (recupero di acque interne quali zone di riproduzione e di rotte utilizzate da specie migratorie) nonché verso progetti pilota per la sperimentazione di tecnologie innovative, per la ripartizione dello sforzo di pesca e per l'elaborazione di metodi di miglioramento della selettività degli attrezzi e di riduzione dell'impatto ambientale dell'attività di acquacoltura.

Il contesto normativo nazionale ha visto certamente uno snodo importante nell'emanazione del decreto legislativo 26 maggio 2004 n. 154<sup>22</sup>, con il quale si è provveduto a riorganizzare l'architettura tecnico-istituzionale per dare maggiore organicità al processo di attuazione degli indirizzi politici in materia di pesca e acquacoltura. A tal fine il decreto prevede l'istituzione del Tavolo azzurro<sup>23</sup>, per la definizione degli obiettivi e per le finalità di concertazione, e della Commissione consultiva centrale per la pesca e l'acquacoltura<sup>24</sup>, organo chiamato a dare pareri sui decreti del Ministero finalizzati alla tutela e gestione delle risorse ittiche.

In termini di programmazione, viene posto un tassello fondamentale con la previsione di un Programma nazionale che tenga conto degli indirizzi comunitari e degli accordi internazionali, del riconoscimento delle risorse ittiche come bene comune rinnovabile ed essenziale alla sicurezza alimentare mondiale. In tale ambito, la linea di indirizzo strategico della pesca e dell'acquacoltura viene chiaramente individuata nel perseguimento dello sviluppo sostenibile e della valorizzazione delle rispettive produzioni e delle attività

<sup>19</sup> Zone designate ai sensi della direttiva 92/43/CEE s.m.i.

<sup>20</sup> Reg. 1198/06/CE artt. 34-35.

<sup>21</sup> Reg. 1198/06/CE art. 36 ss.

<sup>22</sup> «modernizzazione del settore della pesca e dell'acquacoltura, a norma dell'articolo 1, comma 2, della legge 7 marzo 2003 n. 38».

<sup>23</sup> D.lgs. 154/2004 art. 2.

<sup>24</sup> D.lgs. 154/2004 art. 3.

connesse, anche attraverso la promozione dei piani di gestione delle risorse ittiche e dei programmi di sviluppo dell'acquacoltura adottati dalle associazioni, organizzazioni di produttori e consorzi riconosciuti<sup>25</sup>. Al riguardo, il decreto legislativo 154/2004 dà anche un nuovo impulso alle attività di ricerca scientifica e tecnologica applicata<sup>26</sup>, legandole in maniera diretta al conseguimento degli obiettivi previsti dal Programma nazionale.

Oltre alla regolamentazione del Fondo di solidarietà nazionale della pesca e dell'acquacoltura<sup>27</sup>, importante strumento di sostegno agli eredi diretti dei marittimi e agli imprenditori ittici che abbiano subito gravi danni conseguenti a calamità, il decreto pone l'accento sull'importanza di promuovere politiche che mirino all'aggiornamento professionale e alla formazione permanente degli operatori del settore.

#### L'EVOLUZIONE DELLA SICUREZZA ALIMENTARE PER IL SETTORE ITTICO

Come è noto, l'ultimo decennio ha visto le tematiche sanitarie e di sicurezza alimentare al centro della politica e della legislazione relative alla produzione e commercializzazione dei prodotti alimentari.

A partire dal Libro Bianco del 2000<sup>28</sup>, per passare al regolamento 178/2002/CE<sup>29</sup> e ai regolamenti meglio noti come "pacchetto igiene"<sup>30</sup>, l'obiettivo del legislatore comunitario è stato di responsabilizzare gli operatori dell'intera filiera al fine di tutelare i consumatori con la somministrazione di prodotti salubri che garantissero al contempo il reddito di chi li produceva.

I regolamenti sull'igiene applicato al settore della pesca e dell'acquacoltura hanno ridefinito un ambito prima frastagliato, con numerose norme riguardanti le autorizzazioni sanitarie e le registrazioni, l'utilizzo dei medicinali

<sup>25</sup> Cfr. D.lgs. 154/2004 art. 4 c. 1 b).

<sup>26</sup> D.lgs. 154/2004 art. 9.

<sup>27</sup> D.lgs. 154/2004 art. 14.

<sup>28</sup> COM(1999) 719.

<sup>29</sup> «che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare» – GUCE L 31 del 01/02/2002.

<sup>30</sup> Regg. 852/04/CE «sull'igiene dei prodotti alimentari» (GUCE L 226 del 25/06/2004), 853/04/CE «che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale» (GUCE L 226 del 25/06/2004), 854/2004/CE «che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano» (GUCE L 226 del 25/06/2004), 882/2004/CE «relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare le conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali» (GUCE L 191 del 28/05/2004).

veterinari, il trasporto degli animali vivi, le buone pratiche di allevamento e l'alimentazione, le misure di polizia veterinaria e le misure relative all'importazione e all'esportazione.

Con l'emanazione della direttiva 2006/88/CE<sup>31</sup> si è cercato di integrare i nuovi adempimenti di polizia sanitaria con le disposizioni del "pacchetto igiene"; il recepimento nazionale, affidato al decreto legislativo 4 agosto 2008 n. 148<sup>32</sup> ha altresì trasposto le norme nel contesto nazionale cercando di non danneggiare il sistema produttivo italiano e armonizzando il delicato ambito dell'attività di controllo in materia di polizia sanitaria, sotto la competenza del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali.

L'ambito di applicazione del decreto concerne le norme di polizia sanitaria relative all'immissione sul mercato, all'importazione e al transito degli animali d'acquacoltura, le misure di prevenzione a carico degli operatori nei confronti delle relative malattie nonché le misure di lotta da applicarsi in caso di presenza sospetta o conclamata di un focolaio di talune malattie degli animali acquatici<sup>33</sup>.

Le disposizioni più rilevanti, oggetto attualmente di decretazione di dettaglio, riguardano la necessità di armonizzare e semplificare le modalità di autorizzazione delle imprese di acquacoltura e degli stabilimenti di trasformazione da parte delle Regioni e Province Autonome, evitando sovrapposizioni con le disposizioni di cui all'articolo 4<sup>34</sup> del regolamento 853/2004/CE.

Al fine di migliorare l'attività di monitoraggio e controllo sulle imprese di acquacoltura, l'articolo 5<sup>35</sup> dispone la creazione di un'apposita sezione nell'ambito della banca dati nazionale delle anagrafi zootecniche del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali, anche al fine di garantire le opportune misure di protezione relative all'allevamento di specie sensibili alle malattie esotiche e non esotiche di cui agli allegati<sup>36</sup> al decreto.

Ulteriori criticità connesse agli adempimenti del decreto 148/2008 riguardano il sistema di registrazione e rintracciabilità degli animali e dei relativi

<sup>31</sup> «relativa alle condizioni di polizia sanitaria applicabili alle specie animali d'acquacoltura e ai relativi prodotti, nonché alla prevenzione di talune malattie degli animali acquatici e alle misure di lotta contro tali malattie» – GUCE L 328 del 24/11/2006.

<sup>32</sup> «attuazione della direttiva 2006/88/CE relativa alle condizioni di polizia sanitaria applicabili alle specie animali d'acquacoltura e ai relativi prodotti, nonché alla prevenzione di talune malattie degli animali acquatici e alle misure di lotta contro tali malattie» – GURI n. 225 del 25/09/2008.

<sup>33</sup> Cfr. D.lgs. 148/2008 art. 1.

<sup>34</sup> «Registrazione e riconoscimento degli stabilimenti».

<sup>35</sup> «Anagrafe informatizzata delle imprese di acquacoltura».

<sup>36</sup> In particolare allegato IV parte II «Elenco malattie».

prodotti, nonché le modalità di applicazione dei programmi di sorveglianza sanitaria in base a un'opportuna analisi del rischio.

#### SICUREZZA PER IL CONSUMATORE:

##### L'ETICHETTATURA DEI PRODOTTI DELLA PESCA

L'etichettatura dei prodotti della pesca ha una normativa relativamente recente, trae origine dal Regolamento n. 104/2000/CE del Consiglio<sup>37</sup>, che all'art. 4 prevede che sia fornita un'adeguata informazione ai consumatori. Il successivo Regolamento 2065/2001/CE della Commissione ne ha stabilito le modalità di applicazione e nello specifico rappresentando lo strumento per tutelare i consumatori e agevolare la scelta consapevole da parte del "consumatore informato" prevede l'apposizione sui prodotti ittici di un'etichetta riportante la denominazione commerciale della specie, l'indicazione del metodo di produzione: «prodotto della pesca» o «prodotto della pesca in acque dolci» o «prodotto di acquacoltura»; l'indicazione della zona di cattura FAO<sup>38</sup> e non ultima la possibilità di menzionare una zona di cattura più precisa.

In successiva applicazione dell'art. 9 dello stesso Regolamento n. 2065/2001/CE<sup>39</sup> c'è il Decreto 27 marzo 2002 del Ministero delle politiche agricole e forestali: "Etichettatura dei prodotti ittici e sistema di controllo". Tale D.M. 27 marzo 2002 prevede requisiti obbligatori di etichettatura riferiti ai prodotti della pesca e dell'acquacoltura inclusi nel Cap. 3 del regolamento (CE) 2031/2001 della Commissione relativo alla nomenclatura tariffaria e statistica e alla tariffa doganale comune; e ancora le informazioni obbligatorie nella vendita al dettaglio dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura come la denominazione commerciale, secondo l'elenco richiamato nel successivo art. 3 decreto. Lasciando facoltà all'operatore di indicare anche la denominazione scientifica; il metodo di produzione, come definito dall'art. 4 del regolamento (CE) 2065/2001; c) la zona di cattura, come definita dall'art. 5 del regolamento (CE) 2065/2001.

Il Decreto 27 marzo 2002 è stato successivamente aggiornato da altri due Decreti aventi per titolo "Denominazione in lingua italiana delle specie ittiche di interesse commerciale", datati rispettivamente 21 gennaio 2004 e 20

<sup>37</sup> G.U. n. 24 del 27/03/00 – 2° serie.

<sup>38</sup> Per cattura in acque dolci il nome dello Stato membro o del Paese terzo, per l'allevato il nome dello Stato membro o del Paese terzo in cui si è svolta la fase finale di sviluppo del prodotto.

<sup>39</sup> Pubblicato sulla G.U. n. 84 del 10/04/02

luglio 2004. Il Ministero delle politiche agricole e forestali ha inoltre emanato la Circolare esplicativa n. 21329 del 27 maggio 2002.

In merito alla normativa sull'etichettatura dei prodotti della pesca assume notevole significato anche il Regolamento 178/2002/CE che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare e che prevede espressamente la tutela degli interessi dei consumatori: infatti l'articolo 8 recita: «1. La legislazione alimentare si prefigge di tutelare l'interesse dei consumatori e di costituire una base per consentire ai consumatori di compiere scelte consapevoli in relazione agli alimenti che consumano. Essa mira a prevenire le seguenti pratiche:

- a) Le pratiche fraudolente e ingannevoli
- b) L'adulterazione degli alimenti
- c) Ogni altro tipo di pratica in grado di indurre in errore il consumatore».

Successivamente con Legge 99/2009 "Disposizioni per lo sviluppo e l'internazionalizzazione delle imprese, nonché in materia di energia" (art. 18 c. 1) il legislatore al fine di rafforzare le azioni volte a tutelare la qualità delle produzioni agroalimentari, della pesca e dell'acquacoltura e a contrastare le frodi in campo agroalimentare e nella filiera ittica e inoltre la commercializzazione di specie ittiche protette ovvero prive delle informazioni obbligatorie a tutela del consumatore, il Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali promuove le iniziative necessarie per assicurare la qualità delle produzioni e dei prodotti immessi al consumo nel territorio nazionale.

Al fine di garantire la qualità e una migliore valorizzazione commerciale dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura italiani prevede un sistema specifico di marcatura ed etichettatura in cui devono essere riportate le informazioni relative a:

- il numero di identificazione di ogni partita;
- il nome commerciale e il nome scientifico di ogni specie;
- il peso vivo espresso in chilogrammi;
- la data della cattura, della raccolta ovvero la data d'asta del prodotto;
- il nome del peschereccio ovvero il sito di acquacoltura;
- il nome e l'indirizzo dei fornitori;
- l'attrezzo da pesca.

L'etichetta, così come concepita, oltre a valorizzare il prodotto, costituisce una garanzia per il consumatore, in quanto non solo identifica la lavorazione del pescato, dalla cattura del pesce fino al suo carico, garantendone la qualità attraverso il controllo sanitario, la certificazione di origine e del processo di lavorazione a bordo delle navi da parte dell'Asl, e la tracciabilità attraverso l'identificazione di ogni partita con il codice di riferimento della barca, che

viene conservato fino alla vendita, ma vengono inoltre indicati il nome del pesce, la zona di pesca, il metodo e la data di cattura.

Il Sistema specifico di marcatura ed etichettatura sarà individuato con successivo D.M.

#### IL PERCORSO NORMATIVO DEL BIOLOGICO

Il regolamento CEE 2092/91 lo si può definire come il pilastro dell'era biologica e di tutti i prodotti biologici che sono venduti sul mercato generalmente a un prezzo più elevato, in quanto il metodo di produzione richiede un impiego meno intensivo della terra e tale metodo può quindi svolgere non solo una funzione nel quadro del ri-orientamento della politica agricola comune per quanto attiene alla realizzazione di un migliore equilibrio tra l'offerta e la domanda di prodotti agricoli, ma abbraccia anche la tutela dell'ambiente e la conservazione dello spazio rurale.

Il regolamento 1804/99/CE affianca e completa, per le produzioni animali, il regolamento (CEE) n. 2092/91 relativo al metodo di produzione biologico di prodotti agricoli e alla indicazione di tale metodo sui prodotti agricoli e sulle derrate alimentari e insieme aprono la strada al Reg. 834/07/CE.

L'ormai datato Reg. CEE 2092/91 è stato abrogato dal Reg. CE 834/07 a sua volta seguito da Reg. 889/08/CE recante modalità di applicazione del Reg. 834/07/CE nonché dal Reg. 710/09/CE attinente la produzione di animali e alghe marine dell'acquacoltura biologica. Il regolamento 710/09/CE del 5 agosto 2009 recante introduzione di modalità di applicazione relative alla produzione di animali e di alghe marine dell'acquacoltura biologica. In tale contesto il Reg. CE 834/07 costituisce, quindi, l'ossatura del nuovo quadro legislativo; stabilisce i principi e i criteri generali dell'agricoltura biologica, il funzionamento del sistema di controllo, le modalità di etichettatura e le regole per l'importazione da Paesi Terzi.

A partire dal 1 gennaio 2009 il quadro normativo comunitario relativo alle produzioni agro-alimentari ottenute con metodo biologico è mutato profondamente, ricordiamo che il Reg. 2092/91/CEE è abrogato e sostituito dal nuovo regolamento Reg. 834/07/CE che prevede molte novità, tra cui quelle relative alla etichettatura dei prodotti di agricoltura biologica. Questo regolamento è di grande interesse in quanto in esso c'è il primo riconoscimento esplicito dei prodotti ittici all'interno dei "regolamentati" a livello comunitario (Art. 15). Entrando nello specifico dell'articolo 15 relativo alle "Norme

di produzione per animali d'acquacoltura", oltre alle norme generali di produzione agricola previste dal regolamento prevede norme specifiche relative:

- all'origine degli animali d'acquacoltura;
- alle pratiche zootecniche specifiche;
- alla riproduzione;
- all'alimentazione dei pesci e dei crostacei ai molluschi bivalvi e alle altre specie che non sono alimentate dall'uomo ma si nutrono di plancton naturale;
- alla prevenzione delle malattie e alle cure veterinarie;
- alla pulizia e disinfezione degli specchi d'acqua e nelle gabbie, degli edifici e degli impianti adibiti all'acquacoltura.

Il cammino del biologico è stato contraddistinto da alcuni principi del Reg. 710/09/CE caratterizzanti le esigenze della produzione italiana quali la «tutela di alcune produzioni tipiche quali anguillicoltura e vallicoltura» in particolare relativamente all'origine degli animali d'acquacoltura, difatti «sono vietati gli impianti di acquacoltura a ricircolo chiuso per la produzione animale, eccetto negli incubatoi e nei vivai» (Articolo 25 octies) e ancora si è posta l'attenzione «sull'impiego di ossigeno è consentito solo per esigenze di salute degli animali e in periodi critici della produzione o del trasporto» (Articolo 25 nonies). Il regolamento 710/09/CE prevede non solo l'impiego del piano di gestione per la salute degli animali comprendente una convenzione di consulenza sanitaria con i servizi veterinari specializzati in animali d'acquacoltura (Art. 25 vices), si tiene conto dell'alimentazione di animali carnivori: mangimi bio di origine acquicola, farina/olio di pesce ricavati da sottoprodotti dell'acquacoltura bio e da scarti di pesci catturati per il consumo umano nell'ambito della pesca sostenibile (Art. 25 duodecies), è introdotto il rispetto di periodi di conversione che vanno da 3 a 24 mesi in base alla tipologia di impianto con indicazioni specifiche per le diverse specie ittiche allevate<sup>40</sup> che tengono conto delle peculiarità dell'acquacoltura italiana<sup>41</sup>.

È in corso di predisposizione il Decreto attuativo del Reg. (CE) n. 710/09, che riesamina diverse aree tematiche che spaziano dalla produzione alghe marine, produzione di animali di acquacoltura, percorrere le norme di conversione per animali di acquacoltura. I requisiti di controllo specifici per le alghe marine e per la produzione di animali di acquacoltura per concludere con le misure transitorie e finali.

<sup>40</sup> Misure relative ai sistemi di produzione e densità di allevamento.

<sup>41</sup> Allegato XIII bis.

È giunto il momento di domandarsi quali sono le opportunità per l'acquacoltura biologica?

Esiste il crescente interesse del consumatore verso prodotti sicuri e certificati, oggi, è una realtà assodata, che si concretizza con produzioni sempre maggiori di prodotti bio che rispondono non solo a questa esigenza, ma rispettano i requisiti di sostenibilità in particolare nell'acquacoltura dove si riconduce all'habitat del pesce.

L'evoluzione dei consumi domestici in costante aumento è da inquadrare nel mutato stile di vita delle famiglie che ripongono maggior attenzione all'esigenza di coniugare le ridotte disponibilità di tempo con la garanzia di sicurezza e qualità dei prodotti ittici.

Il sistema distributivo moderno ha risposto a queste esigenze individuando nella crescente e rinnovata offerta dei prodotti ittici freschi il rafforzamento della grande distribuzione attraverso il prodotto allevato che consente flussi di approvvigionamento costanti nel tempo, quantità elevate, pezzatura e qualità standardizzati, prezzi non soggetti a forti oscillazioni. Tutte strategie che puntano sostanzialmente a fidelizzazione del consumatore al settore ittico.

Recentemente è stato inserito nel controllo della filiera art. 18 L. 99/09 che definisce un sistema di identificazione del prodotto ittico non destinato all'esportazione al fine di consentire al consumatore di effettuare scelte consapevoli sulla base di maggiori informazioni nonché al fine di contrastare la contraffazione dei prodotti agroalimentari e ittici. Quest'intervento è stato strategicamente pianificato al fine di consentire l'identificazione del prodotto ittico in tutte le fasi della filiera fino alla somministrazione, la documentazione relativa alle indicazioni obbligatorie deve essere resa disponibile agli organismi di controllo già individuati dal decreto 27 marzo 2002 ai sensi di quanto disposto dall'art. 21 della Legge 14 luglio 1965, n. 963. Hanno la possibilità gli organismi preposti alla sorveglianza sulla pesca e sul commercio dei prodotti di essa e per l'accertamento delle infrazioni alle leggi e ai regolamenti che li riguardano di operare sotto la direzione dei comandanti delle Capitanerie di porto locali.

«La pesca, compresa l'acquacoltura, fornisce una risorsa vitale di cibo, di attività lavorative, ricreative, commerciali e di benessere economico per le persone di tutto il mondo, per le generazioni presenti e future, e dovrebbe perciò essere condotta in modo responsabile» (FAO - Code of Conduct for Responsible Fisheries).

Per poter valutare le prospettive future bisogna ricordare che nel 2009 la Commissione Europea, nell'ambito di un'apposita Comunicazione, ha presentato linee guida per lo sviluppo dell'acquacoltura, con misure specifiche per l'insediamento dei giovani e norme per la copertura dei rischi.

In conclusione è di grande interesse ricordare che «un'acquacoltura adeguatamente sostenuta può incrementare le possibilità di lavoro nelle zone rurali, soddisfare la domanda crescente di prodotti ittici e aiutare a contenere lo sforzo di pesca» (Michel Barnier – Pres. Consiglio UE agricoltura e pesca) e in stretta connessione che in realtà non può sussistere una situazione di sicurezza alimentare se non c'è un'efficace sistema di controllo, monitoraggio e vigilanza.

#### RIASSUNTO

La normativa relativa al settore ittico caratterizzata da un'eterogeneità di interventi legislativi presenta una graduale evoluzione finalizzata al riordino dell'intero comparto di riferimento nel contesto nazionale sulla base delle rinnovate caratteristiche del sistema produttivo della pesca e dell'acquacoltura.

L'obiettivo anche in ambito comunitario dell'attuale normativa è focalizzato sull'esigenza di garantire la sostenibilità del settore come sostenibilità ambientale, economica e sociale, tutelando l'habitat naturale e lo sfruttamento responsabile degli stock ittici assicurando, nel contempo, un congruo reddito agli operatori e la certezza del prodotto ai consumatori.

Appare di tutta evidenza che in tale contesto le produzioni ittiche provenienti dall'acquacoltura costituiscono una risorsa vitale che oltre a fornire approvvigionamento sicuro di alimentazione costituisce volano di promozione del territorio contribuendo alla realizzazione dei sopracitati obiettivi di conservazione delle risorse fornendo altresì attività lavorative, ricreative, commerciali e di benessere economico per le persone di tutto il mondo, per le generazioni presenti e future.

#### ABSTRACT

The regulations on the fishing industry characterized by heterogeneity of legislative development and research show a gradual reorganization of the entire sector in the national framework on the basis of renewed features of the production system for fisheries and aquaculture.

The objective of the legislation in the EU framework is focused on the need to ensure the sustainability of the environmental, economic, and corporate sectors, as well as preserve the natural habitat and sustainable exploitation of fish stocks while ensuring at the same time, an adequate income for operators and the assurance of product to consumers.

It seems obvious that in this context, the fish production from aquaculture is a vital resource that in addition to providing a reliable supply of power, is the flywheel of promoting the region to help bring the above mentioned objectives of conservation. It also provides work activities, recreational, commercial and economic prosperity for people around the world for both present and future generations.

BIBLIOGRAFIA

MAAR A., MORTIMER M.A.E., VAN DER LINGEN I. (1966): *Fish culture in Central East Africa*, Rome, FAO.



CLARA BOGLIONE\*, ELISA PALAMARA\*, TOMMASO RUSSO\*, CORRADO COSTA\*\*,  
FRANCESCA ANTONUCCI\*\*, STEFANO CATAUDELLA\*

## L'analisi della qualità morfologica di orate lungo la filiera produttiva

### INTRODUZIONE

Nell'ambito del progetto "Qualità totale in acquacoltura per l'innovazione strategica e per il recupero della competitività: descrittori tecnico economici e linee guida", sottoprogetto "Validazione di indicatori morfo-fisiologici della filiera produttiva di spigola (*Dicentrarchus labrax*) ed orata (*Sparus aurata*) e modello di riferimento (su base coordinata) per la costruzione di un sistema esperto" (finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, L. 41/82) è stata analizzata, inter alia, la qualità morfologica di individui in diverse fasi della filiera produttiva e da diverse metodologie di allevamento. La qualità morfologica è stata valutata confrontando la frequenza e le tipologie di anomalie nel numero e nella forma degli elementi scheletrici tra spigole e orate da allevamento e selvatiche, agli stessi stadi di sviluppo. La forma e il numero degli elementi scheletrici osservati nei selvatici, quindi, sono stati scelti come riferimento qualitativo. La scelta di analizzare la presenza di deformazioni scheletriche o di conte meristiche alterate come indicatore della qualità morfologica dei pesci allevati si basa sulla considerazione che si tratta degli effetti, oltre che di alterazioni genetiche, di condizioni ambientali in allevamento così diverse da quelle considerate specie- o stadio-specifiche, da alterare la capacità omeostatica dell'individuo a esprimere un corretto fenotipo anche in presenza di stress ambientale o nutrizionale. I pesci di qualità morfologica elevata, con basse frequenze di anomalie di sviluppo, possono

\* Laboratorio di Ecologia Sperimentale ed Acquacoltura, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma 'Tor Vergata'

\*\* Laboratorio Agritech - CRA-ING

quindi essere considerati come quelli allevati in condizioni di conformità ambientale alle esigenze specie-specifiche e quindi di maggior benessere per la specie in oggetto.

Le anomalie scheletriche sono considerate tra gli indicatori della qualità del prodotto allevato anche in una logica di impatto sul mercato del prodotto da acquacoltura: pesci provenienti dagli allevamenti che presentano forme anormali, pigmentazioni alterate o teratologie visibili esternamente inducono nei consumatori una certa diffidenza nei prodotti da acquacoltura e vanno quindi selezionati ed eliminati prima della loro immissione sul mercato. Rappresentano quindi anche un fonte di perdita della profittabilità economica del processo produttivo.

In questo studio sono riportati i risultati ottenuti analizzando la presenza e la tipologia di anomalie scheletriche in orate provenienti da allevamenti diversi e a differenti stadi di sviluppo. I dati ottenuti sono stati quindi analizzati utilizzando una tecnica di intelligenza artificiale, le Kohonen's Self-Organising Maps (SOMs) (Dayhoff, 1990; Kohonen, 2001; Verbeek et al., 2003) la cui applicazione a set di dati inerenti le anomalie negli elementi scheletriche è stata recentemente proposta (Russo et al., 2009; Russo et al., 2010) in orata e in cernia di scoglio, e che permette l'integrazione e l'elaborazione di più set di dati (anomalie scheletriche, conte meristiche, metodologia di allevamento,...).

## MATERIALI E METODI

893 individui di orata appartenenti a 9 lotti diversi e campionati a diverse fasi della filiera produttiva sono stati sottoposti ad analisi. I dati relativi ai singoli lotti sono riportati in tabella 1. In particolare, sono stati analizzati:

- avannotti e giovanili provenienti da produzioni intensive nazionali (intensivo1 e intensivo2 in tabella 1) al termine dello svezzamento (S-I09) e del preingrasso (PRE\_ING3 e PRE\_ING);
- quattro diversi gruppi di giovanili provenienti da tre diversi lotti provenienti da un'avannotteria Croata (descritti in tabella 1 come CROAZIA 1, 2 e 3) e campionati alla fine dello svezzamento (FIN\_AVA1 e AVA2) o del pre-ingrasso (PRE\_ING1 e ING2);
- orate alla taglia commerciale da impianto intensivo a terra (COMM3) o in gabbie galleggianti (COMM1).

I giovanili sono stati fissati in Formalina al 10% in tampone fosfato (pH7,2; 0,13 M) mentre le orate a taglia commerciale sono state congelate.

CODICE IDENTIFICATIVO	DESCRIZIONE	N° INDIVIDUI	LT (mm)	LS (mm)
QT-PRE_ING1	fine preingrasso CROAZIA1	50	96.4	80.3
QT-PRE_ING2	fine preingrasso CROAZIA1	65	96.4	79.0
QT-FIN_AVA1	fine svezamento CROAZIA2	77	70	57
QT-FIN_AVA2	fine svezamento CROAZIA3	83	69	55
S-I09	fine svezamento intensivo1	299	38.1	31.7
QT-PRE_ING3	fine preingrasso intensivo1	19	216	180
QT-COMM3	commerciale intensivo1	40	276	228
QT-ING	fine preingrasso intensivo2 (impianto a terra – prima dell'ingrasso in gabbie galleg- gianti)	206	84.3	70.7
QT-COMM1	commerciale intensivo3 (gabbie galleggianti)	54	238	194

Tab. 1 *Descrizione dei campioni di orate analizzati*

Tutti gli individui sono stati radiografati (Picker X-Ray 6191 905-E control apparatus by Picker X-Ray Corp., Waite Manufacturing Division. Inc, Cleveland, Ohio, USA; 4min/5mAmp/80Kw, film AGFA Structurix D7 DW Ete).

Sulle lastre radiografiche sono state effettuate le conte meristiche e rilevata la presenza e la tipologia di eventuali deformazioni scheletriche, secondo il metodo illustrato in Russo et al., 2010. I dati ottenuti dai lotti di orate oggetto di questo studio sono stati quindi aggiunti a quelli analoghi contenuti nella banca dati del nostro Laboratorio e relativi ad altre 5.200 orate selvatiche e allevate, di diversa età, origine geografica e fase produttiva. È stata quindi creata una matrice dei dati binari (presenza: 1; assenza: 0) relativi alle deformazioni scheletriche e fornito un peso diverso alle deformazioni scheletriche: la frequenza di ogni anomalia è stata moltiplicata per 1 quando si trattava di anomalie gravi e 0.5 per le altre. Per anomalie gravi si intende qualsiasi deformazione scheletrica visibile all'osservazione esterna del pesce (scoliosi, cifosi, lordosi, deformazioni cefaliche). È stata quindi ricalcolata la frequenza di anomalie per ogni individuo e divisa per il valore massimo osservato: per ogni individuo si è ottenuto un punteggio standardizzato compreso tra 0 e 1. Quindi è stata costruita una matrice di valori medi delle frequenze di tutte le anomalie per ogni lotto. Questa matrice è stata utilizzata come input layer per addestrare una SOM (Kohonen's Self-Organising maps Kohonen, 2001) (per informazioni più dettagliate sulla modalità di applicazione delle SOMs ai dati relativi alle anomalie scheletriche, consultare Russo et al., 2010a; Russo et al., 2010b). Altre due matrici, contenenti i dati relativi alla metodologia di alleva-

mento utilizzata, e alle conte meristiche, sono state aggiunte successivamente come input layers aggiuntivi di informazione.

## RISULTATI E CONCLUSIONI

L'addestramento della SOM con i dati relativi alle anomalie scheletriche ha fornito lo stesso ordinamento di quello ottenuto utilizzando i dati relativi ai caratteri meristici. Considerando che le conte meristiche sono state effettuate contando solo le variazioni nel numero delle vertebre, dei raggi e dei pterigiofori "sani" (privi cioè di qualsiasi anomalia nella forma o di fusione con altri elementi, che venivano invece conteggiate tra le deformazioni scheletriche), questo risultato indica che la presenza di anomalie nella forma degli elementi scheletrici è strettamente associata anche a variazioni nelle conte meristiche. Pertanto, lotti di orata caratterizzati da elevate variazioni nelle conte meristiche presentano anche elevate frequenze di anomalie nella forma degli elementi scheletrici, anche di quelli non meristici. Per brevità di esposizione, vengono di seguito descritti i risultati relativi alle sole anomalie scheletriche. Il risultato dell'applicazione delle SOMs è riportato in figura 1, dove i diversi pattern mal formativi osservati sono stati assegnati a un esagono specifico.

Come si può osservare analizzando gli istogrammi sono visibili basse frequenze e un minor numero di tipologie malformative negli esagoni situati sul lato sinistro delle tre file centrali. Mano a mano che ci si sposta verso il lato sinistro o verso l'alto o il basso, aumentano sia le frequenze che le tipologie osservate.

Analizzando la figura 2, dove sono state rappresentate graficamente le localizzazioni delle tipologie malformative presenti in ogni esagono e la relativa frequenza con diverse intensità di grigio (più scuro indica frequenze più alte e viceversa), si può osservare quanto segue:

- 1) non esistono esagoni che contengano lotti di orata completamente privi di anomalie (in figura 2 non esistono silhouette completamente bianche). Esiste un solo esagono con un'unica regione corporea interessata da anomalie: è il primo a sinistra della quarta fila, dove sono presenti anomalie nella pinna caudale. Questo è dovuto al fatto che la fusione degli ipurali è l'anomalia più diffusa nelle orate, anche selvatiche: si tratta comunque di una anomalia lieve, non visibile esternamente, e che non inficia in alcun modo le performances dell'individuo;
- 2) nelle righe superiori sono presenti lotti caratterizzati da anomalie diverse, ma che non insistono mai sull'intero apparato scheletrico: si tratta di un

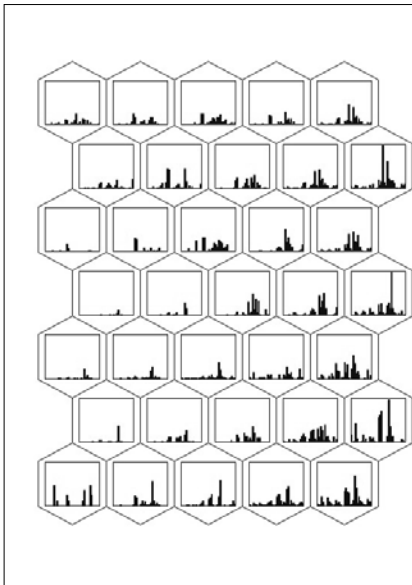


Fig. 1 Output dell'applicazione delle SOMs ai dati relativi alle anomalie scheletriche rilevate nelle orate oggetto di studio. Ogni esagono è caratterizzato da frequenze tipiche delle diverse anomalie. È possibile vedere come l'incidenza delle anomalie aumenti progressivamente a partire dagli esagoni posti nelle righe centrali della matrice e a sinistra (valori minimi) verso quelli situati nelle prime file di esagoni in alto e in basso e a destra

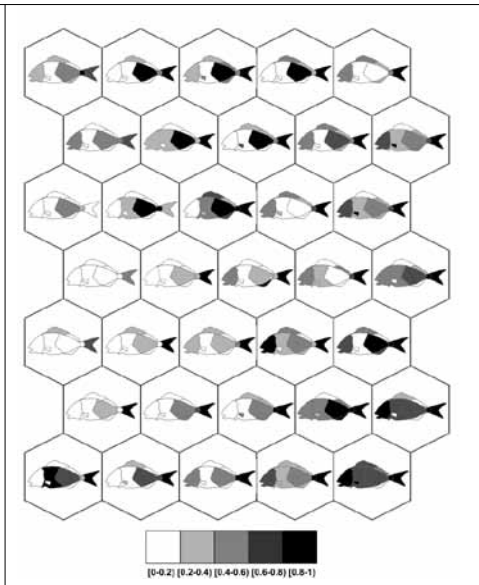


Fig. 2 Rappresentazione grafica dei risultati delle SOMs mostrati in figura 1. Invece degli istogrammi, sono state rappresentate con scale diverse di grigio la frequenza delle diverse anomalie nelle varie regioni del corpo

gruppo costituiti da lotti con pattern malformativi “misti” ma comunque abbastanza deformati;

- 3) l'ultima riga in basso e tutti gli esagoni situati nelle colonne di destra contengono individui con le incidenze più elevate di tutte (o quasi tutte) le tipologie osservate. In particolare, gli esagoni situati all'estremo destro inferiore contengono lotti che mostrano anomalie in tutte le regioni del corpo e con frequenze elevate. Si tratta dei lotti di peggiore qualità tra quelli analizzati in questo studio.

In figura 3 è riportata la stessa matrice di esagoni ottenuta dalla SOM ma con la localizzazione dei lotti di orata analizzati. Si può osservare che alcuni esagoni non contengono codici: ciò significa che le SOMs prevedono la possibilità di eventuali pattern malformativi non osservati però nei lotti in esame. I lotti

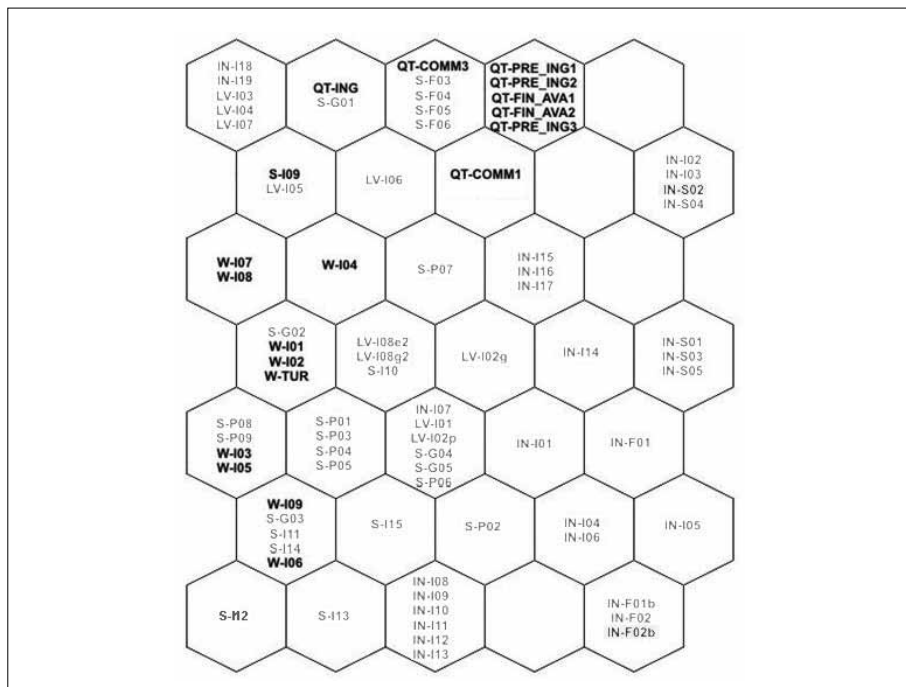


Fig. 3 Risultati dell'applicazione delle SOMs all'intero set di dati sulle anomalie scheletriche osservate in orate selvatiche (lotti in grassetto con codice che inizia con la lettera W) e in orate provenienti da diverse metodologie di allevamento e campionate durante diverse fasi della filiera produttiva. I codici in grassetto che non iniziano con la lettera W sono quelli oggetto di questo studio e descritti in tabella 1. Ulteriori spiegazioni sono riportate nel testo

selvatici (il cui codice inizia con la lettera W) e quelli oggetto di questo studio (codificati come riportato in tabella 1) sono evidenziati in grassetto. Come si può osservare, 7 dei 9 lotti di orata sono posizionati negli esagoni situati nella riga superiore della matrice, in tre esagoni tra loro contigui: ciò significa che a prescindere dall'impianto di provenienza e della fase della filiera in cui sono stati campionati questi lotti presentano pattern malformativi molto simili tra loro. Tale somiglianza è maggiore tra i lotti campionati prima della fase di ingrasso, che si dispongono tutti nello stesso esagono in alto a sinistra. Questi lotti di giovanili sono caratterizzati dalla presenza di frequenze elevate (range compreso tra 0,8-1) di individui con anomalie nella regione delle vertebre caudali e nella pinna caudale e anomalie nelle pinne dorsali e nelle vertebre caudali. Tutte le regioni anteriori del corpo, compresa quella cefalica, sono prive di anomalie. Si tratta dei 4 lotti provenienti dalla Croazia e da un lotto italiano. Un altro lotto di giovanili campionati alla fine del preingrasso (QT-ING, origine Italia-

na, campionato prima di essere seminato in gabbie galleggiante per la fase di ingrasso) si colloca sempre nella prima riga ma nel secondo quadrante a sinistra: si differenzia dai 5 lotti di giovanili appena descritti per l'assenza di anomalie nella seconda pinna dorsale e nella pinna anale. Infine, il 7° lotto localizzato sulla prima riga della matrice, il lotto QT-COMM3, costituito da individui campionati alla fine della fase di ingrasso (taglia commerciale) attuata nello stesso impianto dove sono stati campionati i lotti PRE ING1, PRE ING2, FIN AVA1, FIN AVA2 e PRE ING3, situati nell'esagono a esso contiguo a destra, presenta anomalie nelle pinne pettorali, nella regione cefalica e nella pinna anale, oltre alle regioni risultate deformate negli altri lotti (vertebre emali, pinna caudale, pinne dorsali, vertebre caudali). In sostanza, tutti i lotti che sono stati campionati nello stesso impianto si collocano in esagoni vicini, mostrando un chiaro pattern impianto-specifico. La sola eccezione è il lotto S-I09, prodotto nello stesso impianto e campionato alla fine della fase di svezzamento, risultato dell'applicazione di una metodologia di allevamento larvale semi-intensiva, diversamente dagli altri lotti di giovanili allevati secondo la metodologia intensiva classica. Questo lotto è caratterizzato da una minore frequenza di anomalie nelle regioni delle vertebre emali e caudali ma dalla presenza di alcune malformazioni cefaliche (primo esagono a sinistra della seconda riga della matrice).

Infine, il lotto campionato al termine dell'ingrasso in gabbie galleggianti (lotto QT-COMM1) si colloca al centro della seconda riga ed è caratterizzato dalla presenza di anomalie nelle pinne pettorali e dorsali e nelle vertebre caudali e da elevate frequenze di anomalie nelle vertebre emali e nella pinna caudale. Sono completamente assenti deformazioni delle vertebre craniali e pre-emali e nella regione cefalica.

## CONCLUSIONI

In conclusione, i risultati di questo studio hanno permesso di evidenziare quanto segue:

- 1) lotti di orata caratterizzati da elevate variazioni nelle conte meristiche presentano anche elevate frequenze di anomalie nella forma degli elementi scheletrici, anche di quelli non meristici;
- 2) nei lotti selvatici non sono mai presenti anomalie nelle pinne pettorali, nella seconda pinna dorsale, nella pinna anale e nella regione cefalica, a qualsiasi taglia;
- 3) nell'impianto a terra campionato è stato osservato un pattern di anomalie scheletriche impianto-specifico, a prescindere dall'età o dalla provenienza dei campioni (Croazia o interna);

- 4) durante la fase di ingrasso in gabbie galleggianti si osserva la comparsa di anomalie in regioni del corpo (seconda pinna dorsale, pinne pettorali) precedentemente libere da anomalie;
- 5) la taglia commerciale da impianto intensivo è caratterizzata, nei due impianti utilizzati per i campionamenti, dalla presenza di anomalie nelle pinne pettorali;
- 6) i lotti campionati, pur presentando un carico maggiore e un numero maggiore di tipologie malformative di quelli osservati nei selvatici, sono risultati di qualità migliore rispetto a quella osservata in altri lotti di orata provenienti da allevamenti intensivi (localizzati negli esagoni posti in basso a destra nella matrice).

Infine, l'applicazione delle tecniche di intelligenza artificiale (SOMs) apre nuovi scenari nella comprensione delle interazioni tra ambiente di allevamento e fenomeni di instabilità di sviluppo rappresentati dall'insorgenza di anomalie scheletriche. Infatti, è stato possibile correlare dati qualitativi (morfologici) con dati produttivi, trovando associazioni tra metodiche di allevamento o origine dei campioni e qualità morfologica. Si tratta di una prima applicazione: il passo successivo, attualmente in corso, sarà quello di correlare questi dati a quelli relativi ad aspetti fisiologici (stress), nutrizionali e organolettici.

#### BIBLIOGRAFIA

- DAYHOFF J.E. (1990): *Neural network architectures – an introduction*, New York, Van Nostrand Reinhold.
- KOHONEN T. (2001): *Self-Organizing Maps*, 3rd, extended edition, Springer, Berlin, p. 501.
- RUSSO T., BOGLIONE C., DE MARZI P., CATAUDELLA S., (2009): *Feeding preferences of dusky grouper (Epinephelus marginatus, Lowe 1834) larvae in semi-intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species*, «Aquaculture», 289, pp. 289-296.
- RUSSO T., PRESTINICOLA L., SCARDI M., PALAMARA E., CATAUDELLA S., BOGLIONE C. (2010a): *Progress in modeling quality in aquaculture: an application of the Self-Organizing Map to the study of skeletal anomalies and meristic counts in gilthead seabream (Sparus aurata, L., 1758)*, «J. Appl. Ichtyol.», 26, pp. 306-365.
- RUSSO T., SCARDI M., BOGLIONE C., CATAUDELLA S. (2010b): *Rearing methodologies and morphological quality in aquaculture: an application of the Self-Organizing Map to the study of skeletal anomalies in dusky grouper (Epinephelus marginatus Lowe, 1834) juveniles reared under different methodologies*, «Aquaculture», in press.
- VERBEEK J.J., VLASSIS N., KROSE, B. (2003): *Efficient Greedy Learning of Gaussian Mixture Models*, «Neural Computation», 5 (2), pp. 469-485.

## Il pesce di acquacoltura nella moderna alimentazione

Il contributo dell'acquacoltura alla crescente domanda di prodotti ittici è divenuto sempre più significativo in quanto la presenza di prodotti allevati sui mercati, per alcune specie, prevale sul selvatico. Un prodotto di acquicoltura di qualità deve essere innanzitutto sicuro, assicurare credibilità al consumatore dando precise garanzie, compresa la tracciabilità della filiera produttiva in tutte le fasi, deve, per quanto possibile, mantenere le caratteristiche organolettiche proprie della specie e avere un valore nutrizionale elevato.

Lo studio del valore nutrizionale e sensoriale dei prodotti ittici deve essere considerato non come una semplice acquisizione di dati, bensì come la base per una corretta informazione del consumatore al fine di un suo orientamento nella scelta del prodotto.

Quest'ultimo aspetto è di estrema rilevanza in quanto il pesce rappresenta nella dieta dell'uomo un'importante fonte di elementi minerali, di proteine di elevato valore biologico ma soprattutto di acidi grassi polinsaturi, in particolare gli n-3, tra i quali l'EPA, acido eicosapentaenoico e il DHA, acido docosaesaenoico, sono contenuti in maniera significativa solo nei prodotti ittici (Børresen, 1992; Orban et al., 2002; Orban et al., 2003; Weaver et al., 2008). La quantità di tali acidi grassi è influenzata dall'alimentazione del pesce, come si evidenzia nelle figure 1 e 2 che riportano il profilo in acidi grassi di orate alimentate con mangimi di nuova formulazione e mangimi tradizionali.

Negli anni l'evoluzione verso un'acquacoltura sostenibile ha portato a una modifica degli aspetti nutrizionali, in particolare degli acidi grassi, delle specie allevate in conseguenza della variazione della composizione dei mangimi, in particolare l'aumento delle farine vegetali in parziale sostituzi-

\* *Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Roma*

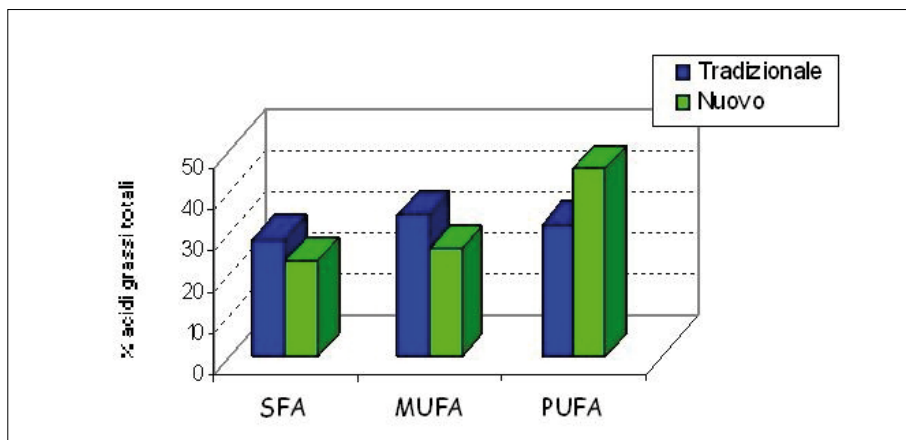


Fig. 1 *Classi di acidi grassi in orate alimentate con diverso mangime*

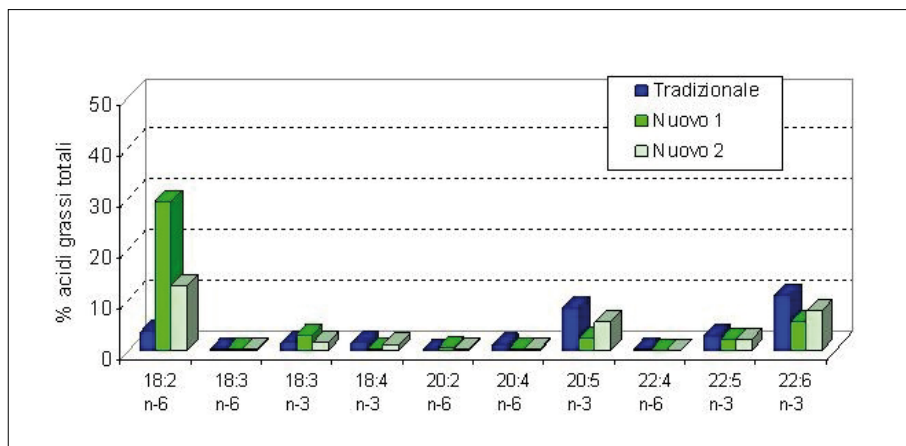


Fig. 2 *Acidi grassi polinsaturi in orate alimentate con diverso mangime*

one delle farine di pesce. Nella maggior parte dei casi da ricerche precedenti abbiamo evidenziato un aumento degli acidi grassi n-6, a scapito degli n-3 (fig. 3).

Lo sviluppo di protocolli di allevamento biologico, oltre a confermare l'incremento dell'uso delle farine vegetali, pone nuove problematiche sul rapporto fra le materie prime per la formulazione dei mangimi e aspetti di qualità e sicurezza d'uso del prodotto per il consumatore. Di conseguenza è necessario lo studio della qualità e sicurezza d'uso del pesce prodotto in

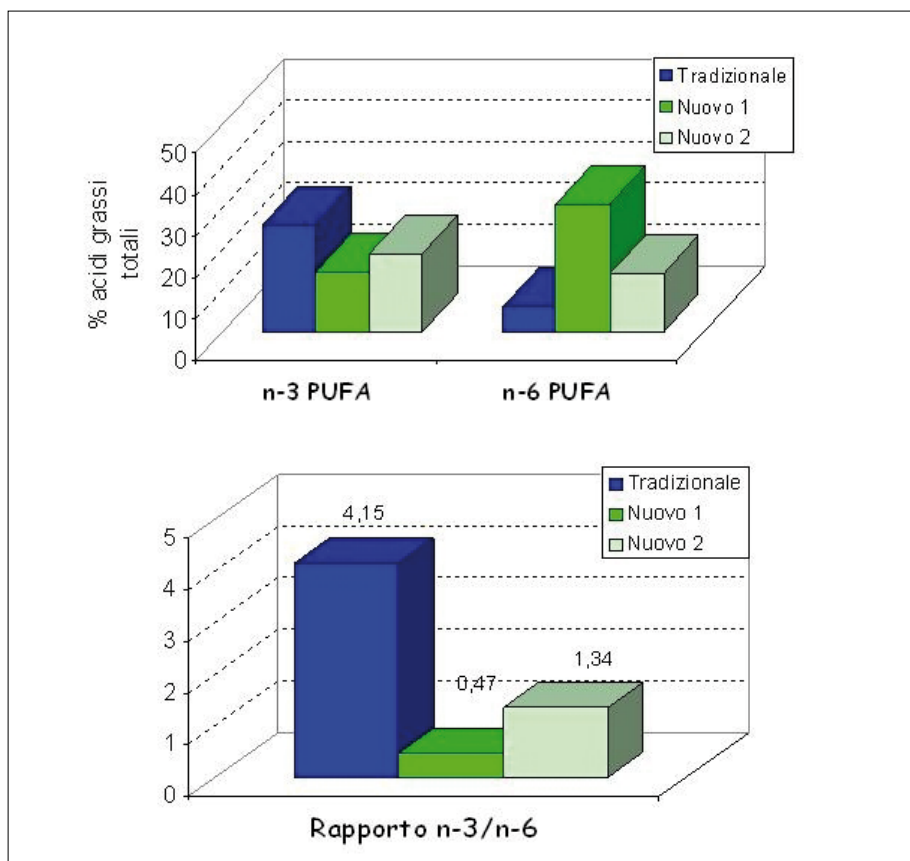


Fig. 3 Acidi grassi polinsaturi (PUFA) n-3 e n-6 e rapporto n-3/n-6 in orate alimentate con diverso mangime

relazione alle materie prime biologiche impiegate, ottimizzare le varie fasi delle filiere produttive, identificare un sistema di indicatori che a vari livelli definiscano la qualità del prodotto. Tali indicatori potranno costituire e definire un sistema di riferimento di “misure e regole” per la qualità totale. Grande attenzione deve essere quindi data allo studio dei mangimi e la scelta dei loro ingredienti che, formulati per le diverse fasi di crescita delle differenti specie, sono importanti per il loro sviluppo e il loro benessere, avendo quindi un’importanza economica per l’acquacoltore, ma sono altrettanto importanti nel contribuire al valore nutrizionale, al profilo aromatico e alla sicurezza d’uso dei prodotti (livello di contaminanti o sostanze indesiderate).

## ABSTRACT

The contribution of aquaculture to the demand of fish products is ever increasing. High quality products from aquaculture should warrant safety requisites to consumers, ensure the traceability of each step of the production chain and should, as far as possible, maintain the organoleptic and nutritional characteristics typical of any species.

The study of the nutritional and sensory profiles of fish products should be considered not like a mere acquisition of data but as the basis of a correct information to consumers. This latter aspect is particularly relevant since fish products represent in the human diet an important source of mineral elements, protein of high biological value and polyunsaturated fatty acids, mainly belonging to the n-3 series like the eicosapentaenoic acid (C 20:5) and docosahexaenoic acid (C22:6). The amount of these fatty acids in fish muscle is highly affected by its diet composition.

In the recent years the evolution towards a sustainable aquaculture has brought a deep modification to the chemical composition of reared fish. In particular the fatty acid profile of fish muscle has changed in response to the feed composition. In most cases our experimental studies have highlighted an increment of n-6 fatty acids at the expense of n-3 fatty acids. With the development of organic aquaculture protocols the increment of plant meals in feed formulations is confirmed and issues like consumers' safety and quality of products are becoming of growing interest. At present it becomes necessary to optimize the different production steps and to identify specific indicators of product quality able to define the "total quality" of fish products.

## BIBLIOGRAFIA

- BØRRESEN T. (1992): *Quality aspects of wild and reared fish*, in *Quality assurance in the food industry*, editori H.H. Huss, M. Jacobsen, J. Liston, Elsevier, Amsterdam, pp. 1-17.
- ORBAN E., DI LENA G., NEVIGATO T., CASINI I., SANTARONI G., MARZETTI A., CAPRONI R. (2002): *Quality characteristics of sea bass intensively reared and from lagoon as affected by growth conditions and the aquatic environment*, «J. Food Sci.», 67, pp. 542-546.
- ORBAN E., NEVIGATO T., DI LENA G., CASINI I., MARZETTI A. (2003): *Differentiation in the lipid quality of wild and farmed seabass (Dicentrarchus labrax) and gilthead sea bream (Sparus aurata)*, «J. Food Sci.», 68, pp. 128-132.
- WEAVER K.L., IVESTER P., CHILTON J.A., WILSON M.D., PANDEY P., CHILTON F.H. (2008): *The content of favorable and unfavorable polyunsaturated fatty acids found in commonly eaten fish*, «J. Am. Diet. Ass.», 108, pp. 1178-1185.

## Formulazioni di diete biologiche, esperienze realizzate

### INTRODUZIONE

Negli ultimi quindici anni sono state sperimentate numerose materie prime per gli alimenti per pesci, con attenzione crescente per quelle di origine vegetale. Questi prodotti garantiscono una maggiore sostenibilità delle produzioni perché riducono la pressione sugli stock ittici base per la produzione delle farine di pesce; inoltre, limitano la concorrenza con altre produzioni zootecniche che utilizzano la farina di pesce come alimento; infine permettono di ridurre i costi di produzione. Queste considerazioni valgono sia per gli alimenti per allevamenti convenzionali sia per quelli biologici. Oggi è difficile che si individui un nuovo alimento semplice e non ci sono più, in modo pressante rispetto al passato, né una domanda né un'offerta di ricerca perché le aziende produttrici sono perfettamente in grado di sperimentare una eventuale nuova fonte disponibile in un mercato ormai globale; i ricercatori non si possono mettere a fare ciò che le aziende fanno già bene.

Esiste una serie di settori di un certo interesse per l'individuazione di nuove fonti di nutrienti; il primo è il recupero degli scarti di macelleria delle aziende che sfilettano e toelettano il pesce che può rappresentare un nuovo ambito di ricerca. Tuttavia è emerso che già oggi quegli scarti sono raccolti da aziende che producono alimenti per animali da compagnia. Un'altra fonte meritevole di attenzione è il krill dei mari artici, il cui studio deve tener conto che è un elemento chiave della catena alimentare dei mammiferi marini e quindi richiede cautela. Forse si potrebbe dedicare un parte delle ricerche alla composizione chimico nutrizionale alle meduse che ormai dominano molti mari

\* *ISPA – CNR Torino*

freddi e alcune specie delle quali sono molto apprezzate da alcune popolazioni orientali. Infine vanno considerate le piante acquatiche e le alghe, micro e macro. Per queste ultima va risolto il problema dei costi di produzione in reattori, mentre una raccolta in mare aperto, dove hanno ciclicamente dei bloom, è sconsigliata per la presenza di tossine molto pericolose.

#### FARINE DI PESCE

Storicamente le acque del Pacifico centro orientale sono le aree a maggior vocazione per la pesca di specie ittiche che entrano nella produzione di farine destinate alla produzione di alimenti per l'acquacoltura. Dal Perù degli anni passati si è passati prima al "pesce bianco" del Mare del Nord per tornare nel Pacifico lungo le coste del Cile.

In passato non tutte le partite di farina di pesce avevano la stessa composizione chimica prossimale.

Nella tabella 1 è riportata, a mo' di esempio, la composizione chimica grezza di una serie di farine di pesce di varia provenienza (Anderson et al., 1997). Come si vede le variazioni possono essere anche importanti, la proteina grezza sul secco oscilla dai 657 g kg<sup>-1</sup> ai 772 g kg<sup>-1</sup>, mentre i lipidi dai 73 ai 150 g kg<sup>-1</sup>; l'energia grezza aveva come limiti minimo 18,7 MJ kg<sup>-1</sup> e massimo 23,4 MJ kg<sup>-1</sup>.

FISH MEAL	AS-IS BASIS		DRY MATTER BASIS		
	Dry matter (g kg <sup>-1</sup> )	Crude protein (g kg <sup>-1</sup> )	Ash (g kg <sup>-1</sup> )	Lipid (g kg <sup>-1</sup> )	Gross energy (MJ kg <sup>-1</sup> )
Herring meal	940	772	136	113	22.0
HM-FF-Lt	977	728	132	134	22.4
HM-FF-Std	961	741	134	120	22.4
HM-FM-Lt	943	770	121	148	22.9
HM-FM-Std	936	733	130	153	23.4
Chilean – Good quality	911	715	155	102	20.8
Ground fish meal	937	679	232	73	18.7
Menhaden meal	959	657	192	129	20.5
Mixed meal	944	656	210	136	20.5
Norse-LT94*	930	775	136	107	21.8
Silver hake	932	720	183	99	20.2

Tab. 1 *Composizione chimica centesimale e dell'energia grezza di alcune farine di pesce (Anderson et al., 1997)*

Oggi lo standard si è alzato e stabilizzato e la composizione delle farine di pesce in commercio è molto più stabile, le proteine sono attorno al 70-72%, ma molto più digeribili rispetto al passato e i lipidi sono al 10%. Inoltre, alcune aziende hanno tecnologie per la riduzione dei contaminanti presenti nelle farine di pesce, ad esempio la microfiltrazione, o per aumentare la conservabilità delle diete estrudendo le miscele in atmosfera controllata che favorisce l'eliminazione dei residui di umidità.

Attualmente la comunità europea valuta che la quota di pesci scartati perché sottotaglia o per lo scarso valore commerciale, sia di quasi il 50% con punte del 70-90% per alcuni tipi di pesca. La possibilità di recuperare nutrienti da questi prodotti della pesca, che altrimenti vengono rigettati in mare con un sia pur minimo danno ambientale, avrebbe un significato anche simbolico importante.

Un'altra risorsa di nutrienti possibile per gli allevamenti biologici può essere rappresentata dagli scarti della lavorazione per la preparazione dei filetti pronti per la Grande Distribuzione Organizzata. Nei visceri di pesci che vengono sfilettati c'è ancora molta energia utile in termini sia di proteina sia di lipidi, anche se questi sono quasi completamente rappresentati a grassi di deposito e cioè trigliceridi. Gli scarti di lavorazione e dell'eviscerazione hanno alti contenuti in proteina, oltre il 70%, e in lipidi, attorno al 20%, ma la variabilità è molto alta; inoltre, i problemi di raccolta e trasporto nei luoghi di produzione delle farine sono rilevanti. Altri problemi nell'uso di questa materia prima in maniera massiccia derivano dalle difficoltà di estrusione ottimale per effetto dell'eccesso di cartilagini.

#### USO DI SORGENTI VEGETALI DI NUTRIENTI

Molte materie prime hanno un utilizzo ad ampio spettro, il mais ad esempio. È un ottimo alimento per tutto il comparto zootecnico e non solo per i pesci, va bene come biofuel, va bene per farne dei film plastici e va bene per l'alimentazione umana. Ma tutte le materie prime sperimentate in passato soffrono/possono soffrire la concorrenza di altri settori, dalla cosmesi alla farmaceutica, alla zootecnia. Forse gli studi sullo stress potenziale di pesci carnivori alimentati con forti quantità di prodotti vegetali, affrontato con le tecniche omiche disponibili, può rappresentare un argomento scientifico interessante, ma dubito che susciti l'interesse dei produttori e non credo, laddove fossero finanziati, rappresentino soluzioni semplici.

Teniamo anche conto che all'inizio dell'avventura dell'acquacoltura marina si è giustamente puntato su specie ad alto valore commerciale: spigola,

orate, salmoni. Ma dopo un periodo di “luna di miele”, come la definì Muir nel 1998, il mercato si è saturato e la competizione ha portato anche a prezzi bassi e alla necessità di forti investimenti; oggi il prodotto greco spunta sui banchi della GDO 8-10 € per kg; recentemente orate di Malta sono state vendute a 5,80 € per kg.

Nel corso degli anni, presso la sezione di Torino dell'ISPA, sono stati sottoposti a test molti vegetali selezionati per contenuto proteico o lipidico: glutine di mais, concentrati proteici di riso e pisello, microalghe (*Isochrysis* e *Spirulina*); Oli di mais, borragine, soia, semi di lino, arachidi (Palmegiano et al., 2008; Gasco et al., 2009).

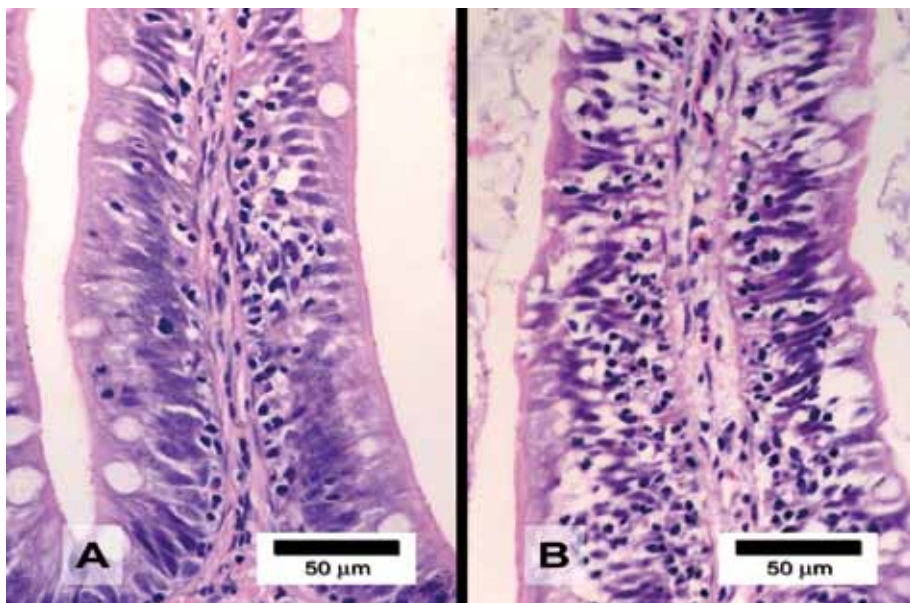
Nella tabella 3 è riportata la composizione centesimale di alcune farine vegetali utilizzate nella formulazione di diete per pesci marini e d'acqua dolce.

Il problema dell'uso, sempre più consistente, di ingredienti vegetali è che essi possono essere poco digeribili, per la presenza di fattori antinutrizionali, o presentare composizione in amino acidi poco equilibrata rispetto alle esigenze dei pesci. Inoltre, in pesci carnivori i vegetali potrebbe indurre uno stress cronico, che non appare immediatamente, dovuto a un corredo enzimatico non adatto alla digestione di nutrienti vegetali. Le tecniche istologiche e istochimiche standard in pesci allevati con diete commerciali non hanno evidenziato alterazioni, ma nel lungo periodo in specie a lungo periodo di ingrasso potrebbero manifestarsi disturbi.

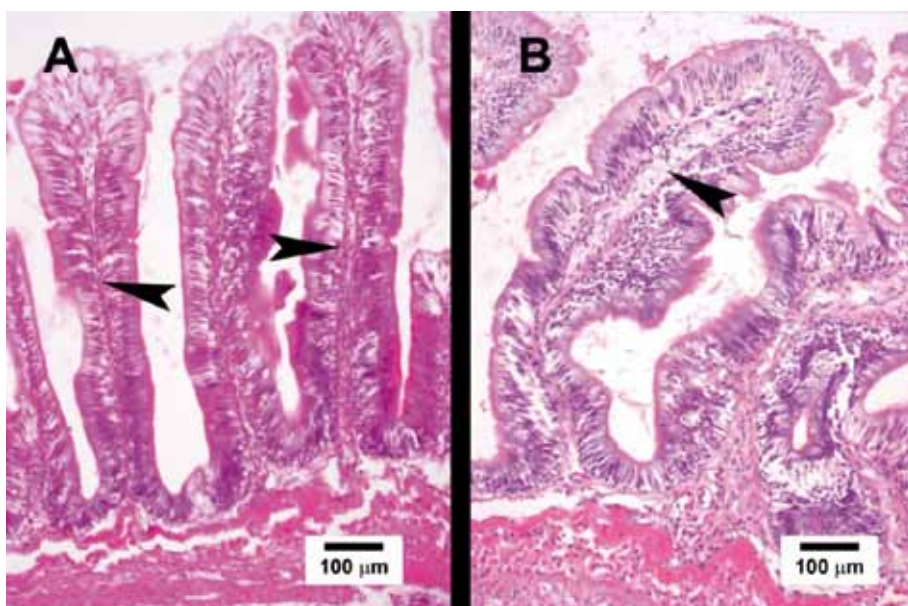
Nelle figure 1 e 2 sono riportati a diverso ingrandimento villi dell'intestino medio di trote alimentate con diete standard (A) e con diete addizionate con lectine di pisello (B). L'immagine A rappresenta una sezione di una trota alimentata con una dieta a base di farina di pesce; l'immagine B è riferita a una trota alimentata con una dieta addizionata con lectine. Sulla sinistra un villo normale

FARINE GREZZA	PROTEINA	LIPIDI	CENERI	ENERGIA
	Grezzo (%)	(EE%)		(MJkg <sup>-1</sup> )
Glutine di mais	60,8	2,1	1,7	19,6
Glutine di frumento	80,0	2,0	2,0	22,4
Concentrato proteico di riso	75,5	11,2	4,3	23,8
di erba medica	46,8	9,4	12,6	18,0
Pisello proteico	46,5	8,1	2,4	23,0
Soia	49,0	1,7	5,9	18,0
Isochrysis	42,9	18,7	10,1	19,5
Spirulina	61,8	17,0	9,8	20,1

Tab. 2 Composizione grezza di materie prima vegetali utilizzate



*A sinistra villi sani e a destra villi alterati*



*A sinistra villi sani e a destra villi alterati*

Fig. 1 e 2 Sezioni di intestino medio colorata con ematossilina-eosina a maggior e minor ingrandimento

di un pesce alimentato con la dieta A, sulla destra si nota un quadro istologico con gravi cambiamenti della mucosa del villo di un pesce alimentato con la dieta B. La lamina propria della foto B è molto ispessita, con vacuolizzazioni citoplasmatiche e congestione dei vasi sanguigni. Rispetto al quadro A, nello strato della mucosa vi è un forte infiltrato linfocitario, il citoplasma delle cellule della mucosa è più denso e i nuclei delle cellule sono spostati verso il centro del cariosoma. Le lectine inducono in trote forti alterazioni dei quadri istologici.

#### GLI ANTIOSSIDANTI NATURALI

Un capitolo nuovo è quello riguardante le sostanze ad attività antiossidante; finora i prodotti di sintesi usati, quali BHT, BHA Etossichina, sono stati tollerati, ma essi rappresentano il limite maggiore alla produzione di alimenti biologici. La ricerca offre alcune alternative di prodotti naturali sul cui utilizzo si stanno svolgendo molti studi. Molti oli essenziali e alcuni sottoprodotti dell'agricoltura, hanno attività antiossidante e se i risultati saranno quelli attesi tra non molto nei protocolli biologici.

Le farine e gli oli di pesce sono risultano molto instabili in fase di conservazione in particolare gli oli, per il rischio di perossidazione e irrancidimento; pertanto vengono additivati con antiossidanti di sintesi, in particolare Etossichina ma anche BHA e BHT.

Con l'entrata in vigore del REG CE 834/2007 e successivi regolamenti attuativi è nata la necessità di ottenere sostanze ad azione antiossidante in modo da sostituire i classici additivi di sintesi usati in industria mangimistica. Un buon materiale di partenza è fornito dai metaboliti secondari, ad azione protettiva, (spesso composti polifenolici) presenti nei vegetali.

Ai fini della ricerca sono stati valutati sottoprodotti agricoli dell'industria conserviera (scarti della lavorazione del pomodoro), della produzione vinicola (vinacce e vinaccioli) e dolciaria (foglie di noccioline). Su tali sostanze e sulla loro efficacia antiossidante esiste una ben documentata letteratura.

Una tecnica usata frequentemente prevede di generare un catione radicale cromoforo stabile, come il DPPH (difenilpicrilidrazile), e di valutare poi la capacità dell'antiossidante in base alla diminuzione di assorbanza che si osserva in seguito alla cattura del radicale; la reazione che avviene è la donazione di un idrogeno dall'antiossidante (RH) al DPPH. Nella tabella 3 sono riportati i risultati di un test del DPPH sulla capacità antiossidante di alcune materie prime vegetali mediante estrazione acquosa che sottostima il potere antiossidante dei residui di pomodoro (bucce e semi).

DPPH	%
Bucce e semi di pomodoro	3,2
Acqua di vegetazione	6,0
Foglie di nocciolo	43,5
Vinacce e vinaccioli	88,4
Rosmarino	55,3

Tab. 3 *Valori del DPPH di alcuni potenziali antiossidanti*

La misurazione dei TBARS è un saggio d'elezione per il monitoraggio della perossidazione lipidica. I campioni in fase di conservazione hanno a causa della ossidazione lipidica aumenti di idroperossidi e aldeidi, rilevabili con questa metodica. Di seguito si riportano i risultati sullo stato di ossidazione dei tre prodotti di maggior interesse.

Un incremento di pH indica una forte alterazione del prodotto. Un residuo di colorazione può essere determinato dai crotenoidi contenuto in prodotti come il pomodoro e i vinaccioli. Una semplice sperimentazione che prevedeva la messa a contatto dei filetti di trota con alcuni antiossidanti naturali all'inizio della sperimentazione e dopo sei giorni ha dato i risultati riportati nelle tabelle 4, 5 e 6. Nella tabella 4 sono riportati i TBARS, il pH e il colore di filetti di pesce a contatto con estratto acquosi di vinacce e vinaccioli. Come si vede i TBARS del bianco raddoppiano, mentre quelle dei trattati sono pressoché uguali. Il colore invece nella componente rossa ( $a^*$ ) si alza molto denotando un residuo colorato dovuto alle vinacce.

Nella tabella 5 sono riportati i TBARS, il pH e il colore di filetti di pesce a contatto con estratto acquosi foglie di nocciolo; i dati confermano il buono effetto di questi antiossidanti senza residui colorati. Nella tabella 6 è riportato l'effetto dell'olio di rosmarino su TBARS, pH e colore di filetti di trota.

Questa serie di analisi sulle vinacce ci dicono che queste sono molto efficaci come antiossidanti, tuttavia la persistenza del colore, sia pure ridotto, non ci permette ancora di proporre questo sottoprodotto per la produzione.

Oltre alle vinacce e i vinaccioli sono stati studiati altri sottoprodotti dell'agricoltura: l'acqua di vegetazione, l'olio di rosmarino.

La disponibilità sul mercato di olio di rosmarino non adatto al consumo umano (cosmesi, erboristeria) e a prezzi concorrenziali ha consentito di condurre una prova di lungo periodo sull'accrescimento di spigole in cui erano inseriti 200 ppm di olio di rosmarino. Questo olio è considerato un potenziale sostituto degli antiossidanti di sintesi nella produzione di pesci biologici.

Nel corso di questo studio sono state sottoposte a test due diete biologiche (1650 e 2640) integrate con 200 ppm di olio di rosmarini confrontate con una

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
Bianco T0	1,07±1.87	6,78±0.05	65,49	5,13	14,13
Bianco T6	2,87±0.41	6,64±0.03	61,04	0,07	11,83
Vinacce 1% T6	0,70±0.23	6,61±0.04	51,32	2,56	5,23
Vinacce 3% T6	0,71±0.34	6,56±0.01	47,05	4,69	3,74
Trolox T6	0,99±0.25	6,64±0.14	65,28	3,53	13,13

Tab. 4 *Effetto di estratti di vinacce e vinaccioli sui filetti di trote*

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
T0	1,08±0.37	6,38±0.10	74,8	3,41	14,7
Bianco T6	2,82±0.10	6,40±0.03	73,4	3,2	15,1
Nocciole 1%T6	1,73±0.27	6,35±0.06	71,6	3,5	13,6
Nocciole 3%T6	1,71±0.24	6,29±0.06	70,9	3,5	17,0
Nocciole 5%T6	1,52±0.42	6,24±0.03	71,4	3,8	16,3
Trolox T6	0,55±0.24	6,50±0.03	72,0	4,0	14,4

Tab. 5 *Effetto di estratti di foglie di nocciolo sui filetti di trote*

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
T0	0,77±0.23	6,81±0.02	74,46	3,29	14,62
Bianco T6	0,12±0.02	6,84±0.03	71,66	3,37	10,73
olio Rosmarino 1%T6	0,19±0.08	6,89±0.07	76,05	2,35	12,27
olio rosmarino 3%T6	0,04±0.02	6,77±0.02	82,72	0,30	13,07
olio Rosmarino 200 ppm T6	0,18±0.01	6,88±0.03	71,85	3,61	10,89
Trolox T6	0,10±0.02	6,78±0.04	73,63	3,09	11,01

Tab. 6 *Effetto di olio di rosmarino sui filetti di trote*

dieta convenzionale (1754). Le due diete biologiche differivano tra di loro per un diverso rapporto PD/ED, mentre la dieta convenzionale era molto simile alla dieta biologica a minor contenuto di grasso. Queste diete, ben bilanciate sia in aminoacidi sia in acidi grassi, furono somministrate a spigole (European seabass) di circa 300 g. Le curve di crescita presentate nella figura 3 mostrano una migliore risposta di crescita da parte delle diete con antiossidanti naturali rispetto a quella con antiossidanti di sintesi. In particolare la dieta 1650 ha un livello PD/ED molto adatto; è stato dimostrato che il rapporto proteina energia è importante per ottenere buone prestazioni produttive (Cho and Bureau, 2001). L'olio di rosmarino si è dimostrato un buon antiossidante, anche in diete con alto contenuto di sorgenti vegetali, come indicato dai valori di MDA registrati per le diete 1650 e 2640 e è paragonato con la dieta 1754.

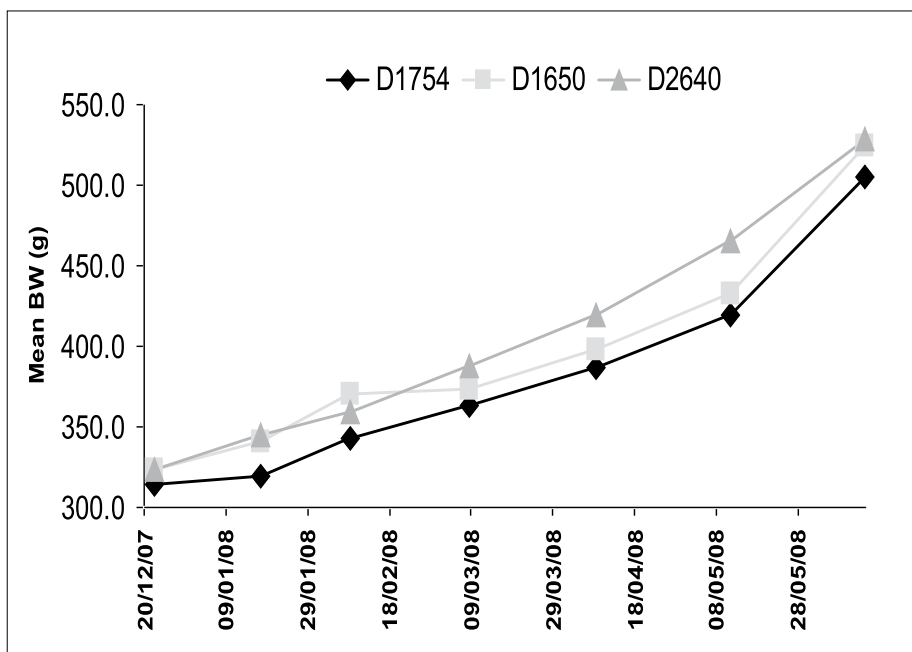


Fig. 3 Curve di crescita delle tre diete nel corso del periodo sperimentale

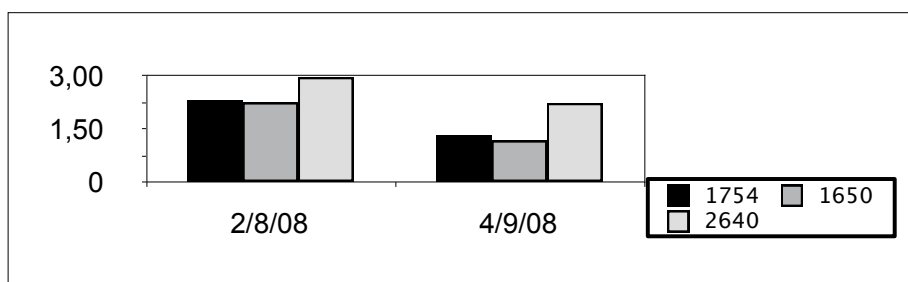


Fig. 4 Andamento degli indici epatosomatici nel corso della sperimentazione

La dieta a più alto contenuto di grasso dovrebbe essere più adatta all'alimentazione in allevamenti in gabbie galleggianti proprio per la maggiore spesa energetica dei pesci dovuta al nuoto. Questa dieta, inoltre, ha il minor contenuto di farina di pesce (49%).

Gli indici epatosomatici (HSI) registrati (fig. 4) per le tre diete nel corso dell'esperimento indicano una riduzione dell'HSI nel corso della sperimentazione, indice di buon stato di salute delle spigole; l'indice dei pesci alimentati con la dieta biologica a maggior contenuto lipidico hanno mostrato sempre valori di HSI più alti, in linea con la quantità di grasso e la dieta biologica

1650 ha avuto la riduzione più evidente che potrebbe essere il sintomo di una migliore condizione di salute.

## CONCLUSIONI

Da quanto sopra riportato emerge l'esigenza di allargare gli orizzonti e ragionare in modo diverso; dobbiamo inquadrare tutte le materie prime vegetali per i pesci dell'intero comparto agricolo e valutarne complessivamente la sostenibilità ad esempio in termini di rotazioni delle colture e di maggese; inoltre, disboscare per avere terreni da coltivare a mais per produrre olio da trazione non è un'attività definibile come sostenibile; dobbiamo anche valutare le singole materie prime vegetali nel complesso del loro utilizzo per evitare la concorrenza di altri settori zootecnici o produttivi. E per le materie prime animali dobbiamo valutarle nell'intero comparto pesca e acquacoltura, dagli scarti di pesca che finiscono in mare prima del rientro in porto ai residui di lavorazione di prodotti ittici in senso lato (teste di gamberi, residui di cefalopodi).

Non esiste una materia prima perfetta né per la sostituzione della farina né per l'olio di pesce. Si può, però trovare un giusto equilibrio tra le varie componenti. Sono in parte oggi disponibili degli antiossidanti naturali e in futuro a breve lo saranno di più.

## RIASSUNTO

Si sono affrontati i problemi presentati dall'uso delle farine di pesce nelle produzioni ittiche biologiche. Sono stati studiati gli effetti di alcuni antiossidanti naturali come potenziali sostituti di quelli di sintesi. Gli estratti acquosi delle foglie di nocciolo e di vinacce e vinaccioli insieme all'olio di rosmarino sono quelli con maggiore potere antiossidante. L'olio di rosmarino è stato anche sperimentato con risultati positivi nell'alimentazione di spigole.

## ABSTRACT

The results of the research highlighted two bottleneck of the organic food chain of the production of organic feed for fish farming: the supplying of fish meal and fish oil, and the natural antioxidants. A possible solution of the reduction of the use of fish meal and oil could be represented by the by product of fillet production and by trash or undersized fish from fisheries. This kind of material is a good source of nutrients, both of protein and of lipids, but with some constraints: chemical composition variability, collection and

transportation to the processing companies in order to obtain meals suitable to animal feeding.

The effects of some natural anti-oxidants in the substitution of chemical origin ones were considered with a study of a selection of plant extracts. Aqueous extracts of the leaves of hazelnuts, grape seeds, tomato peels and seeds and the oils of rosemary, of olive vegetation water showed antioxidant activity determined by means of DPPH% and TBARs. The oil of rosemary has been also tested with positive results in feeding sea bass in a long farming trial.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON J.S., HIGGS D.A., BEAMES R.M., ROWSHANDELI M. (1997): *Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (Salmo salar L.) reared in sea water*, «Aquaculture Nutrition», 3, pp. 25-38.
- CHO C.Y., BUREAU D.P. (2001): *A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture*, «Aquaculture Research», 32, pp. 349-360.
- GASCO L., GAI F., LUSSIANA C., PALMEGIANO G.B., ZOCCARATO I. (2009): *Effect of different dietary lipid sources on rainbow trout fillet fatty acids*, «Anim. Sci.», 8 (suppl. 2), p. 890.
- DAPRÀ F., GAI F., PALMEGIANO G.B., PREARO M., SICURO B. (2005): *Histological and physiological changes induced by Red Kidney Bean lectins in the digestive system of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*, «Ittiopatologia», 2, pp. 241-258.
- MUIR J.F., YOUNG J.A. (1999): *Strategic issues in new species development for aquaculture*, in Enne e Greppi eds, *New Species for Mediterranean Aquaculture*, «Biofutur Elsevier», pp. 85-96.
- PALMEGIANO G.B., DAPRÀ F., GAI F., SCOLAMACCHIA M. (2008): *Organic feeds vs commercial diet in European seabass Dicentrarchus labrax L.*, 16th IFOAM Organic World Congress, Conference on Organic Aquaculture, Cattolica, Italy, 18-20 June 2008, pp. 51-53.
- PALMEGIANO G.B., GAI F., DAPRÀ F., GASCO L., PAZZAGLIA M. AND PEIRETTI P.G. (2008): *Effects of Spirulina and plant oil on the growth and lipid traits of white sturgeon (Acipenser transmontanus) fingerlings*, «Aquaculture Research», 39, pp. 587-595.
- PALMEGIANO G.B., GAI F., GASCO L., LEMBO G., SPEDICATO M.T., TROTTA P., ZOCCARATO I. (2009): *Partial replacement of fish meal T-Iso in gilthead sea bream (Sparus aurata) juveniles diets*, «Italian J. Anim. Sci.», 8 (suppl. 2), pp. 869-871.
- SICURO B., BARBERA S., DAPRÀ F., GAI F., GASCO L., PAGLIALONGA G., PALMEGIANO G.B., VILELLA S. (2010): *The olive oil by-product in rainbow trout, Onchorynchus mykiss (Walbaum) farming: productive results and quality of product*, «Aquaculture Research», doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02514.x



## Il benessere dei pesci in allevamento

### INTRODUZIONE

Nel corso degli anni, lo studio del benessere animale ha assunto un significato sempre più importante, non solo per motivi etici, ma anche perché paradigmatico della qualità dell'ambiente e, più in generale, delle condizioni vitali in cui gli animali sono mantenuti. Per il pesce in allevamento il livello di benessere è direttamente correlato alla qualità della produzione, poiché ha un'influenza anche sui tassi di crescita e di conversione alimentare (FSBI, 2002). Le potenziali condizioni di sofferenza degli animali in allevamento, sia terrestri che acquatici (Ellis et al., 2002), sono state definite in base alla loro capacità di violare una delle cinque libertà del benessere animale (FAWC, 1979): (1) libertà dalla fame, dalla sete e dalla cattiva nutrizione; (2) libertà di avere un ambiente fisico adeguato; (3) libertà da ingiurie, malattie, ferite e traumi; (4) libertà di manifestare le normali caratteristiche comportamentali specie-specifiche; (5) libertà dalla paura. Alla base di questo schema vi è il riconoscimento della complessità del benessere animale, che può essere descritto attraverso diverse componenti fisiologiche e comportamentali. Un corollario di questo concetto è rappresentato dall'idea che solo la combinazione di diversi indicatori può contribuire a una più accurata valutazione dello stato di benessere (FSBI, 2002).

Opinione comune è che lo stress, di per sé, sia nocivo per gli esseri viventi. Il concetto di stress, infatti, è di frequente associato a un sistema messo in crisi, affaticato o addirittura malato. In realtà la risposta allo stress è una funzione normale ed essenziale per tutti gli organismi viventi (Iwama et al.,

\* COISPA Tecnologia & Ricerca

2004), poiché è un meccanismo adattativo che consente, nello specifico a un pesce, di far fronte, mediante un complesso insieme di reazioni, agli stimoli destabilizzanti il normale equilibrio omeostatico del proprio organismo (Chrousos, 1998).

I pesci sono soggetti ad agenti di stress anche in natura. Le cause possono essere numerose e, in buona parte, riconducibili al sempre più significativo impatto che le attività antropiche hanno sugli ecosistemi naturali.

In condizioni di allevamento i fattori stressanti possono derivare, invece, dalla manipolazione, dal trasporto, dai livelli di densità (Vazzana et al., 2002), dalla presenza di parassiti (Grutter e Pankhurst, 2000).

Il grado di alterazione a carico dell'organismo è strettamente correlato all'intensità e alla durata dello stimolo stressante, nonché al grado d'importanza che il modulo comportamentale modificato riveste per la sopravvivenza (Schreck et al., 1997).

Le variazioni comportamentali sono in realtà riflessi dell'alterazione dello stato fisiologico dell'animale. Si possono distinguere tre differenti tipi di risposte fisiologiche, anche a livello temporale: una primaria, una secondaria e una terziaria (Iwama et al., 2004). Quando il pesce percepisce una variazione nell'ambiente circostante sopraggiungono repentini cambiamenti che inducono una rapida reazione neuro-endocrina. Questa implica l'immediato rilascio nel circolo ematico degli ormoni dello stress: le catecolamine e il cortisolo. Il rilascio delle catecolamine, nei pesci, è estremamente rapido, tanto da poterne osservare, a seguito di un qualsiasi evento stressante, un immediato aumento a livello plasmatico (Randall e Perry, 1992; Reid et al., 1998; Mommsen et al., 1999; Barton, 2002). Contemporaneamente alla produzione e al rilascio delle catecolamine si attiva l'asse HPI (ipotalamico-pituitario-interrenale) e a seguito dell'azione del CRH (ormone di rilascio delle corticotropine) si ha il successivo rilascio di cortisolo. Il rilascio di questo ormone, secreto dal tessuto interrenale, omologo della corteccia surrenale dei mammiferi (Mommsen et al., 1999), richiede un intervallo di tempo maggiore rispetto alle catecolamine (nell'ordine di alcuni minuti) (Barton, 2002) ed è regolato da un meccanismo di feedback negativo, attuato dallo stesso ormone a tutti i livelli dell'asse HPI (Barton, 2002).

Gli elevati livelli di cortisolo provocano una serie di eventi biochimici e fisiologici a cascata con cambiamenti a livello metabolico e della funzione immunitaria. L'azione del cortisolo si manifesta soprattutto con l'incremento della produzione di glucosio e del suo rilascio a livello plasmatico (Iwama et al., 2004). Per questa ragione, la concentrazione di glucosio è spesso utilizzata come indicatore della risposta secondaria (metabolica) associata a stati di

stress (Barton, 2002). Infatti, il cortisolo ha, in genere, un effetto iperglicemico, primariamente come risultato dell'aumento della gluconeogenesi e della glicogenolisi a livello epatico.

Le risposte di tipo terziario intervengono per far fronte a stress più o meno prolungati o ripetuti (Schreck, 2000). Tali risposte coinvolgono l'organismo nel suo complesso, inficiandone attività e prestazioni. Tra le conseguenze più rilevanti si riportano: cambiamenti nei tassi di crescita, minore resistenza alle malattie, variazioni del *metabolic scope for activity* (Fry, 1971) (la differenza fra massimo tasso metabolico e metabolismo basale), modificazioni del comportamento e, in ultimo, anche la morte (Wedemeyer e McLeay, 1981; Wedemeyer et al., 1990).

#### PERFORMANCE DI NUOTO E BENESSERE

Tra le varie risposte allo stress che i pesci possono manifestare, i cambiamenti a livello dell'attività di nuoto hanno senz'altro suscitato notevole interesse scientifico (Nelson et al., 1996; Wood et al., 1996; Alsop e Wood, 1997; Koumoundouros et al., 2002). Infatti, il nuoto è, insieme ad altre funzioni di base, fondamentale per tutte le attività vitali del pesce, dalla ricerca del cibo e del partner, alla fuga dai predatori e dalle situazioni di pericolo.

Molti Autori, fin dagli anni '20, si sono dedicati allo studio del nuoto dei pesci sotto un profilo sia biologico, sia fisiologico (Beamish, 1978; Brett, 1964; Hammer, 1995). Le modalità e le attività di nuoto sono dipendenti da caratteri specie-specifici, quali ad esempio la forma del corpo e delle pinne (Webb, 1984; Wardle et al., 1995), lo stato ontogenetico e la taglia (Hale, 1999; Georgalas et al., 2006), lo stadio di maturità sessuale dell'individuo (Quintella et al., 2004).

I meccanismi biochimici e fisiologici che forniscono l'energia necessaria per sostenere il nuoto nei salmonidi sono stati ampiamente studiati così come i diversi livelli che caratterizzano l'attività di nuoto. I differenti tipi di nuoto nei pesci sono stati classificati da Beamish (1978) come: nuoto prolungato, nuoto sostenuto e nuoto esplosivo. Nello specifico, il nuoto prolungato è caratterizzato dal mantenimento di una velocità costante per periodi di tempo prolungati (>200 minuti). Questa tipologia di nuoto è quasi esclusivamente sostenuta dall'attività del muscolo rosso e non prevede il raggiungimento della condizione di affaticamento. Gli animali, infatti, sono in grado di rimetabolizzare i sottoprodotti dell'attività muscolare (lattato) e, quindi, di recuperare anche l'acidosi muscolare. Normalmente, la cessazione di tale atti-

vità è legata alla mancanza di riserve energetiche. Il nuoto sostenuto riguarda, generalmente, tutte le attività routinarie di nuoto di quasi tutte le specie e può essere mantenuto per un intervallo di tempo più breve, non superiore ai 200 minuti. Questa tipologia di nuoto termina con l'affaticamento, che viene raggiunto perché il pesce non è più in grado di recuperare l'energia dispersa durante il nuoto. La spinta propulsiva è assicurata dal contemporaneo coinvolgimento della muscolatura rossa e di quella bianca. Diversamente da queste due tipologie, il nuoto esplosivo può essere sostenuto per tempi molto brevi (<20 secondi). È, infatti, supportato maggiormente dal metabolismo anaerobico e, di conseguenza, principalmente dall'attività del muscolo bianco.

Questa classificazione generica permette, attraverso particolari test di laboratorio, di stimare la spesa energetica e di valutare le risposte biochimiche associate al nuoto (metabolismo aerobico e anaerobico). Si distinguono quattro tipologie di test di nuoto: esercizi di *endurance*, di *fast start*, esaustivi e di recupero. In particolare gli esercizi esaustivi sono stati per lo più utilizzati per valutare i cambiamenti biochimici che si instaurano al raggiungimento della condizione di affaticamento. Nella maggior parte dei casi i test esaustivi si conducono imponendo incrementi discreti di velocità dell'acqua fino all'affaticamento del pesce, si parla quindi di test di "velocità critica di nuoto" ( $U_{crit}$ ). L' $U_{crit}$  consente di studiare l'intero spettro delle variazioni metaboliche che si susseguono (anche temporalmente) durante il nuoto del pesce (fase aerobica e anaerobica). Questo genere di prova è quasi esclusivamente limitato a condizioni di laboratorio perché è necessario l'utilizzo di una camera di nuoto che rende facilmente e oggettivamente riproducibile il test di  $U_{crit}$  (Hammer, 1995; Kolok, 1999). L' $U_{crit}$  costituisce una buona misura eco-fisiologica per predire i possibili impatti dei cambiamenti ambientali sull'organismo (Plaut, 2001). Le prestazioni di nuoto, inoltre, sono state utilizzate come potenziale parametro di benessere e per valutare le risposte dei pesci a stress di varia natura (FSBI, 2002). La valutazione quantitativa dell'attività di nuoto, per specie marine e d'acqua dolce, è stata possibile grazie alla messa a punto di protocolli sperimentali, sebbene non ancora del tutto standardizzati nei dettagli operativi. Infatti, le variazioni di velocità utilizzate in letteratura variano ampiamente, anche se quelle maggiormente utilizzate sono comprese tra 5  $\text{cm s}^{-1}$  e 10  $\text{cm s}^{-1}$ . L'intervallo di tempo varia più frequentemente tra 20 e 30 minuti, nonostante siano stati utilizzati anche intervalli più lunghi, pari a 60 minuti, e più brevi, pari a 3 minuti (Kolok, 1999). I valori della velocità possono essere espressi in termini assoluti o relativi alla lunghezza totale ( $\text{BL s}^{-1}$ ). La velocità critica relativa è correlata negativamente con la lunghezza totale

(Wolter e Arlinghaus, 2003). Per cui, in genere, si preferisce utilizzare i valori di velocità critica relativa quando si opera con un ampio *range* di taglie (Kolk, 1999).

In termini ecologici è ormai opinione diffusa che l' $U_{crit}$  sia un buon indicatore fisiologico dell'impatto dei cambiamenti ambientali sull'organismo. Ciò nonostante, l' $U_{crit}$  non sempre si rivela particolarmente sensibile ai disturbi metabolici. Un indice di maggiore importanza ecologica – il *recovery test* – si basa sull'idea che un pesce in buona salute e non stressato possa ripetere, dopo un intermezzo di riposo dedicato a ristabilire le riserve di glicogeno e a recuperare energia, una prova di nuoto mantenendo invariato il proprio livello di prestazione (Jain et al., 1998). Si utilizzano, quindi, due prove consecutive di  $U_{crit}$  intervallate da un breve lasso di tempo (*recovery time*) necessario e sufficiente per ripristinare le riserve di glicogeno utilizzate durante lo sforzo speso nella prima prova (Milligan, 2003). In particolare, il rapporto tra il primo e il secondo  $U_{crit}$  (*recovery ratio*, RR) viene utilizzato come indice del recupero metabolico; per cui un pesce che ha raggiunto un completo recupero dovrebbe mostrare un *recovery ratio* pari a uno (Jain et al., 1998). È stata dimostrata tuttavia non necessaria la ricostituzione delle precise condizioni iniziali perché un pesce possa ripetere, con prestazioni invariate, una prova di nuoto. Infatti, in *Oncorhynchus nerka* è stato osservato che, dopo l'aumento dei livelli di lattato, conseguente a una prima prova di nuoto, al termine di una seconda e di una terza prova le concentrazioni non si elevavano ulteriormente (Farrell et al., 1998).

Lo sforzo fisico in un pesce, anche se non sottoposto a fonti di stress, comporta delle variazioni a livello ematologico (valori dell'ematocrito, concentrazione di cortisolo, glucosio, lattato) dalle quali può dipendere la durata del periodo di tempo necessario al recupero, durata che si è rivelata specie-specifica. È stato dimostrato, infatti, che in *Oncorhynchus mykiss* alti livelli plasmatici di cortisolo sono coinvolti nel ritardo dell'attivazione della glicogenosintesi a livello muscolare al termine di una prova di nuoto, il che comporta il conseguente ritardo nel recupero delle riserve energetiche (glicogeno) durante l'eventuale tempo di recupero (Milligan, 2003).

Il *recovery test* è stato utilizzato anche in *Salmo salar* per valutare l'effetto di diete con diverso contenuto in acidi grassi sulle prestazioni di nuoto (Wagner et al., 2004). Lo stato di sazietà e la composizione nutrizionale del cibo possono infatti influire sul comportamento dei pesci e, allo stesso tempo, sulle prestazioni di nuoto (Gregory e Wood, 1998; McFarlane et al., 2004; Wagner et al., 2004). Nel muscolo rosso di *O. mykiss*, infatti, l'ossidazione dei lipidi sostiene il nuoto a livello energetico fino al 70-80% dell' $U_{crit}$ , mentre riveste un ruolo secondario, rispetto al metabolismo dei carboidrati, tra il 70% e il

100% dell' $U_{crit}$  (Wagner et al., 2004). Inoltre, anche la proporzione relativa di acidi grassi saturi e insaturi (della serie  $\omega$ -3) può alterare la condizione cardiorespiratoria (McKenzie, 2001) e, di conseguenza, influire sulle prestazioni di nuoto (McKenzie et al., 1998). In *Salmo salar* una dieta con una più alta concentrazione di acido oleico e linoleico incrementa significativamente le prestazioni di nuoto (McKenzie et al., 1998).

La somministrazione di cortisolo è stata spesso applicata per mimare gli effetti dello stress, utilizzando le soluzioni saline, per simulare uno stress acuto e studiarne gli effetti a breve termine, e le emulsioni lipidiche per simulare situazioni di tipo cronico e studiarne gli effetti a lungo termine (Mommensen et al., 1999). La somministrazione di cortisolo è stata quindi utilizzata nelle carpe e nei salmonidi per comprendere gli effetti dello stress (Mommensen et al., 1999) sull'osmoregolazione, sul sistema immunitario (Ruglyls, 1985; Wang et al., 2005), sull'alimentazione (De Pedro et al., 1997), sull'attività di nuoto (Gregory e Wood, 1999; Milligan, 2003), sul metabolismo epatico e sulle interazioni sociali (Di Battista et al., 2005).

Il quadro conoscitivo relativo alle capacità di nuoto della spigola (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) (Koumoundouros et al., 2002; Chatelier et al., 2005), specie di notevole importanza ecologica ed economica per il Mediterraneo, è andato espandendosi, anche grazie agli esperimenti realizzati di recente da Carbonara e collaboratori (2006; 2010a; 2010b) e da Lembo e collaboratori (2007, 2008). Il primo di questi lavori ha tracciato una *base-line* relativa alla stima della velocità critica di nuoto in spigole allevate e non sottoposte a fonti di stress per un ampio spettro di taglie (23-38 cm; 90-600 g). In particolare, questi studi hanno evidenziato una correlazione positiva tra lunghezza totale degli individui e  $U_{crit}$  assoluto (intervallo 97-127  $\text{cm s}^{-1}$ ) e una correlazione negativa tra lunghezza totale e  $U_{crit}$  relativo (intervallo 3,6-4,1  $\text{BL s}^{-1}$ ), in accordo con Brett (1964), dimostrando quindi, anche per la spigola, che pesci più grandi, sebbene in grado di raggiungere velocità critiche più elevate, hanno capacità di nuoto ridotte, se messe in relazione con la taglia. Nello stesso lavoro i *recovery test* riportavano, per tutto il *range* di taglie esaminate, un *recovery ratio* pari a uno, indicando come pesci non sottoposti a condizioni di stress fossero in grado di ripetere con successo due prove consecutive di  $U_{crit}$ , separate da un adeguato periodo di recupero metabolico (60 minuti).

La simulazione di una condizione di stress acuto, indotta dagli stessi Autori (Carbonara et al., 2010a) con la somministrazione intraperitoneale di idrocortisolo in soluzione salina, evidenziava invece una alterazione della capacità di nuoto e del recupero metabolico in prove di *recovery test*. Infatti, fra i gruppi sperimentali (*gruppo stress*: pesci sottoposti a somministrazione di idrocortisolo; *gruppo place-*

*bo*: trattati con sola soluzione fisiologica; *gruppo controllo*: non trattato in alcun modo), solo i pesci del gruppo trattato con il cortisolo mostravano differenze significative tra le due prove consecutive di nuoto, con un calo delle prestazioni nella seconda prova. Il periodo di *recovery* si mostrava invece sufficiente per recuperare le energie metaboliche e ripristinare le riserve di glicogeno nei gruppi *controllo* e *placebo*. I gruppi *placebo* e *stress* mostravano, inoltre, gli effetti fisiologici tipici della reazione secondaria allo stress, con un incremento dei livelli di glucosio, all'inizio della prova, rispetto al gruppo di controllo (Carbonara et al., 2010a). I livelli di glucosio si innalzavano ulteriormente, successivamente alle prove di nuoto, fino a livelli simili in tutti e tre i gruppi, mostrando sia la tipica risposta alla fatica (West et al., 1994), sia il risultato del meccanismo di saturazione dei recettori cellulari per il cortisolo (Mommsen et al., 1999).

Nei tre gruppi sperimentali, solo il gruppo trattato con il cortisolo mostrava una diminuzione dei livelli di lisozima - uno dei fattori chiave dell'immunità aspecifica - tra inizio e fine delle prove di nuoto, fatto che indicherebbe una depressione del sistema immunitario aspecifico. Tuttavia, il ruolo del cortisolo come regolatore del sistema immunitario aspecifico non è ancora del tutto chiarito. Alcuni autori, infatti, hanno registrato un aumento dei livelli di lisozima dopo un evento di stress acuto (Demers e Bayne, 1997; Rotllant e Tort, 1997), mentre altri ne hanno descritto una diminuzione (Möck e Peters, 1990). Le risposte del sistema immunitario sembrano comunque correlate all'intensità e alla durata dello stress (Weyts et al., 1999).

I risultati di queste ricerche hanno evidenziato, inoltre, che i livelli di manipolazione (*placebo*) e di trattamento con il cortisolo (*stress*) non avevano un impatto significativo sul profilo ematologico (emoglobina, ematocrito e conta eritrocitaria non sono risultati significativamente differenti tra i gruppi) nella spigola, in accordo con quanto osservato, in genere, in situazioni di stress acuto (Thorstad et al., 2003; Morales et al., 2005). Infatti, le alterazioni dei parametri ematici sembrano maggiormente legate a condizioni di stress cronico (Barcellos et al., 2006), come quelle che possono determinarsi a seguito di cambiamenti ambientali, come la quantità di ossigeno disciolto, la temperatura e la salinità (Roche e Bogé, 1996; Lupi et al., 2005) o la presenza di xenobionti organici e inorganici (Roche e Bogé, 2000).

#### ELETTROMIOGRAMMI (EMG) E BENESSERE

La misura degli elettromiogrammi (EMG), ossia del segnale elettrico derivante dalla differenza di potenziale legata alla contrazione muscolare, si è

rivelata utile per stimare la quantità di ossigeno consumata da un pesce in movimento (*metabolic scope for activity*), in contrapposizione con il consumo di ossigeno a livelli basali (*standard metabolic rate*). Un contributo significativo, in questo campo, è stato fornito dalla telemetria fisiologica che, attraverso l'impianto (interno o esterno) di un trasmettitore *wireless*, consente di monitorare l'attività muscolare in pesci liberi di nuotare nel proprio ambiente (Cooke et al., 2000; Thorstad et al., 2003; McFarlane et al., 2004; Lembo et al., 2008). Nonostante sia sempre aperto il dibattito circa gli effetti dell'impianto stesso sulla salute e il normale comportamento del pesce (Jepsen et al., 2002; Bridger e Booth, 2003), è proprio l'utilizzo dei trasmettitori di segnale elettromiografico che ha reso possibile diagnosticare disturbi a livello fisiologico, anche in assenza di sintomi di sofferenza dell'animale, sia di tipo clinico che biochimico.

Il monitoraggio dell'attività elettrica muscolare è stato quindi considerato uno strumento efficace per valutare il benessere animale in acquacoltura (Cooke et al., 2000; McFarlane et al., 2004; Chandroo et al., 2005).

Nella spigola, il monitoraggio degli elettromiogrammi è stato essenziale per descrivere, da un punto di vista quantitativo, la diversa attività del muscolo rosso e del muscolo bianco a differenti velocità di nuoto (Lembo et al., 2007), dimostrando il coinvolgimento dei due tipi di fibre muscolari nel sostenere il nuoto al di sotto dell' $U_{crit}$  ed evidenziando che il *metabolic scope for activity* non è sostenuto esclusivamente dal metabolismo aerobico.

È proprio il differente utilizzo della muscolatura rossa e di quella bianca, ai diversi livelli di attività del pesce, a tradursi in un diverso utilizzo delle energie metaboliche e, quindi, in una diversa capacità di rispondere allo stress. Una stima accurata del *metabolic scope for activity* deve tenere conto, pertanto, anche dell'energia utilizzata dal muscolo bianco onde evitare la possibilità di sottostimare il *budget* di energia utilizzato (Burgetz et al., 1998). I trasmettitori *wireless* del segnale elettromiografico oggi disponibili consentono di monitorare esclusivamente l'attività del muscolo rosso, e quindi l'attività aerobica, fornendo una stima grezza del *metabolic scope for activity*. Per una stima della capacità globale del pesce di compensare eventi di stress, che ne esauriscono le scorte energetiche, è necessario che il *metabolic scope for activity* sia corretto per la componente anaerobica (Lembo et al., 2007).

La calibrazione dei trasmettitori EMG con gli elettromiogrammi *wired* riveste notevole importanza ai fini di un uso appropriato della tecnologia *wireless* (EMG-tag) per monitorare in *remote control* l'attività elettrica della muscolatura rossa e associare l'attività allo stato fisiologico del pesce e ai di-

versi livelli di risposta allo stress (Jain e Farrell, 2003; Chandroo et al., 2005). Inoltre, la calibrazione della velocità critica di nuoto e dei segnali EMG, attraverso prove di  $U_{crit}$  in camere di nuoto, è considerata una base di riferimento essenziale per una corretta interpretazione dei segnali EMG in relazione alla spesa energetica (Cooke et al., 2000; Thorstad et al., 2000; McFarlane et al., 2004).

Il monitoraggio degli EMG dopo calibrazione con l' $U_{crit}$  (Carbonara et al., 2010b), in esperimenti condotti per verificare gli effetti di diverse densità di allevamento (10 e 50 kg m<sup>-3</sup>) sulle condizioni di benessere della spigola, ha messo in evidenza che i pesci allevati alla maggiore densità utilizzavano, in media, il 25% di energia in più rispetto a quelli tenuti a più bassa densità. La concentrazione plasmatica di cortisolo era più elevata alla maggiore densità e il contenuto di emoglobina, di eritrociti e l'ematocrito seguivano lo stesso pattern, mentre la concentrazione di lisozima diminuiva. I risultati dei profili di EMG ed ematologici convergevano, dunque, nell'indicare che la densità – uno dei parametri chiave nel determinare le condizioni di benessere in allevamento – contribuiva a generare, al livello più elevato, condizioni di stress cronico. In definitiva, l'uso complementare dell'EMG e dei profili ematologici e biochimici esplicava un maggiore potere nella formulazione di una diagnosi di stress causato dal protocollo di allevamento.

È noto che, insieme alla densità di allevamento, l'alimentazione (qualità, quantità, modalità e tempi di somministrazione del cibo) è un altro dei fattori che, nelle correnti pratiche colturali, può sensibilmente influenzare lo stato di benessere degli organismi allevati. La somministrazione di diete rispondenti a requisiti specie-specifici favorisce una maggiore resistenza allo stress e alle malattie (Poli, 2009), portando a una migliore condizione del benessere dei pesci e, di conseguenza, della qualità del prodotto finito.

In prove sperimentali condotte per testare la condizione di benessere della spigola in relazione alla composizione di tre differenti diete: due di tipo biologico – di cui una con un maggiore contenuto in proteine e l'altra con un maggior contenuto di lipidi – e una convenzionale, Carbonara (2009) ha utilizzato l'EMG in *remote control* e il *recovery test* associati a un insieme di indicatori plasmatici, ematologici e *biomarker*. Fra questi ultimi sono stati presi in considerazione il cortisolo, il glucosio, il lattato, il lisozima, l'ematocrito, la conta eritrocitaria, l'emoglobina, il complesso enzimatico delle monossigenasi a funzione mista: EROD (7-etossiresorufina-O-deetilasi) e GST (glutathione transferasi), l'indice epato-somatico (HSI). I risultati relativi alla misura di questi parametri, insieme alla valutazione delle *performance* di crescita – in

termini di tasso specifico di crescita (SGR), di percentuale di efficienza proteica (PER) e di rapporto di conversione (FCR) – hanno contribuito a delineare un quadro diagnostico completo sullo stato di benessere degli animali.

Dai risultati emergeva che gli EMG più elevati erano osservati nei pesci alimentati con la dieta di controllo e con la dieta più ricca in lipidi, mentre il gruppo di spigole alimentato con la dieta biologica maggiormente proteica mostrava EMG al di sotto dell' $U_{crit}$  e con un significativo trend in diminuzione nel tempo. Inoltre, i *recovery test* evidenziavano una scarsa capacità di recupero dei pesci appartenenti al gruppo alimentato con la dieta di controllo. Fra i parametri plasmatici il cortisolo era significativamente più elevato a fine sperimentazione nel gruppo alimentato con il mangime biologico a più elevato contenuto di grassi, mentre il lisozima compariva in concentrazioni più elevate nel plasma delle spigole alimentate con la dieta più ricca di proteine. Gli altri parametri plasmatici così come quelli ematologici e i *biomarker* non mostravano variazioni significative. I valori di SGR, PER e FCR indicavano migliori *performance* per le spigole allevate con le diete biologiche rispetto alla dieta di controllo e in particolare la dieta biologica più ricca in proteine dava i migliori risultati.

In definitiva i risultati ottenuti monitorando 15 differenti parametri, mettevano in luce come solo la loro integrazione fosse in grado di delineare un quadro diagnostico meglio interpretabile. In particolare,  $U_{crit}$ , *recovery test* ed EMG, per la prima volta applicati alla spigola in un tale contesto sperimentale, avevano il vantaggio di descrivere una risposta integrata di tutto l'organismo a condizioni di stress e, quindi, esprimevano meglio la funzione di descrittori delle complesse dinamiche fisiologiche e metaboliche connesse con il benessere dei pesci in allevamento. In prospettiva, la possibilità di misurare gli effetti della risposta fisiologica integrata dell'organismo da un punto di vista funzionale può contribuire a delineare, anche per gli organismi allevati, i confini tra allostasi e ormesi (Schreck, 2010).

## RIASSUNTO

Nel corso degli anni, lo studio del benessere animale ha assunto un significato sempre più importante, non solo per motivi etici, ma anche perché paradigmatico della qualità dell'ambiente e, più in generale, delle condizioni vitali in cui gli animali sono mantenuti. Opinione comune è che lo stress, di per sé, sia nocivo per gli esseri viventi. In realtà la risposta allo stress è una funzione normale ed essenziale per tutti gli organismi viventi, poiché è un meccanismo adattativo che consente, nello specifico a un pesce, di far fronte, mediante un complesso insieme di reazioni, agli stimoli destabilizzanti il normale equilibrio omeostatico del proprio organismo. Il grado di alterazione a carico dell'organismo è

strettamente correlato, tuttavia, all'intensità e alla durata dello stimolo stressante, nonché al grado d'importanza che il modulo comportamentale modificato riveste per la sopravvivenza. Tra le varie risposte allo stress che i pesci possono manifestare, i cambiamenti a livello dell'attività di nuoto hanno senz'altro suscitato notevole interesse scientifico. In termini ecologici è ormai opinione diffusa che la "velocità critica di nuoto" ( $U_{crit}$ ) sia un buon indicatore fisiologico dell'impatto dei cambiamenti ambientali sull'organismo. Un indice di maggiore importanza ecologica, il "recovery test" si basa sull'idea che un pesce in buona salute possa ripetere, dopo un breve periodo di riposo dedicato a ristabilire le riserve di glicogeno, una prova di nuoto mantenendo invariato il proprio livello di prestazione. Anche la misura degli "elettromiogrammi" (EMG), ossia del segnale elettrico derivante dalla differenza di potenziale legata alla contrazione muscolare, si è rivelata utile per valutare il benessere animale in acquacoltura attraverso la stima della quantità di ossigeno consumata da un pesce in movimento "metabolic scope for activity", in contrapposizione con il consumo di ossigeno a livelli basali "standard metabolic rate". Un contributo significativo, in questo campo, è stato fornito dalla telemetria fisiologica che, attraverso l'impianto (interno o esterno) di un trasmettitore "wireless", consente di monitorare l'attività muscolare in pesci liberi di nuotare nel proprio ambiente.

#### ABSTRACT

Changes in swimming activity can reflect the perception and the response to environmental variations from a fish perspective. Thus metrics such as  $U_{crit}$ , recovery test and muscular activity measured via electromyogram (EMG) were explored for their potential use as welfare indicators. Aquaculture experiments conducted on European sea bass demonstrated the usefulness of the  $U_{crit}$  to set the baseline of the swimming activity metrics. While the recovery test allowed to evaluate the impact of stress as a sign of possible physiological impairment. The sensitiveness of the EMG indicator was demonstrated by the underpin of the effects of different stocking densities on the sea bass welfare, when operationally monitored on-farm, using physiological telemetry (EMG-tag). In these trials EMG profiles enabled to detect that the fish reared at higher density used on average 25% more energy than at lower stocking density. Synchronous monitoring of red and white muscle electromyograms highlighted, however, that the scope for activity is not supported solely using aerobic metabolism, though the red muscle powers the majority of the swimming ability. The study of the EMG profiles were likewise used to estimate the impact of the diet on fish welfare. Long-term monitoring of muscle activity evidenced an increasing of EMG levels as a consequence of food composition and quality of a control diet versus an organic diet. Overall results from these studies supports the perspective of a composite framework of indicators, based on the performance of the whole organism, such as  $U_{crit}$ , recovery test and EMG, to further progress the diagnosis of fish welfare in aquaculture.

#### BIBLIOGRAFIA

ALSOP D.H., WOOD C.M. (1997): *The interactive effects of feeding and exercise on oxygen consumption, swimming performance and protein usage in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, «The Journal of Experimental Biology», 200, pp. 2337-2346.

- BARCELLOS L.J.G., KREUTZ L.C., DE SOUZA C., RODRIGUES L.B., FIOREZE I., QUEVEDO R.M., CERICATO L., BENCK SOSO A., FAGUNDES M., CONRAD J. ET AL. (2006): *Hae-matological changes in jundiá (Rhamdia quelen Quoy and Gaimard Pimelodidae) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects*, «Aquaculture», 237, pp. 229-236.
- BARTON B.A. (2002): *Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids*, «Integrated and Comparative Biology», 42, pp. 517-525.
- BEAMISH F.W.H. (1978): *Swimming Capacity*, in *Fish Physiology*, a cura di Hoar W.S., Randall D.J., New York, Academic Press, pp. 101-187.
- BRETT J.R. (1964): *The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon*, «Journal of Fisheries Research », 21, pp. 1183-1226.
- BRIDGER C.J., BOOTH R.K. (2003): *The effects of biotelemetry transmitter presence and attachment procedures on fish physiology and behaviour*, «Reviews in Fisheries Science», 11, pp. 13-34.
- BURGETZ I.J., ROJAS-VARGAS A., HINCH S.G., RANDALL D.J. (1998): *Initial recruitment of anaerobic metabolism during sub-maximal swimming in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, «The Journal of Experimental Biology», 201, pp. 2711-2721.
- CARBONARA P., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M.T., LEMBO G., ZUPA W., MCKINLEY R.S. (2006): *Swimming performances as a well-being indicator of reared sea-bass Dicentrarchus labrax (Linnaeus, 1758). Preliminary results*, «Biologia Marina Mediterranea», 13, pp. 488-491.
- CARBONARA P. (2009): *Un approccio metodologico integrato fra telemetria fisiologica e bio-marker per la valutazione del benessere animale nella spigola (Dicentrarchus labrax L.)* PhD Thesis, University of Siena, pp. 165.
- CARBONARA P., CORSI I., FOCARDI S., LEMBO G., ROCHIRA S., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M.T., MCKINLEY R.S. (2010a): *The effects of stress induced by cortisol administration on the repeatability of swimming performance tests in the European sea bass (Dicentrarchus labrax L.)*, «Marine and Freshwater Behaviour and Physiology», 43 (4), pp. 283-296.
- CARBONARA P., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M.T., ZUPA W., MCKINLEY R.S., LEMBO G. (2010b): *Muscle activity as a key indicator of welfare in farmed European sea bass*, «Fisheries Management and Ecology», in press.
- CHANDROO K.P., COOKE S.J., MCKINLEY R.S., MOCCIA R.D. (2005): *Use of electromyogram telemetry to assess the behavioural and energetic responses of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum) to transportation stress*, «Aquaculture Research», 36, pp. 1226-1238.
- CHATELIER A., MCKENZIE D.J., CLAIREUX G. (2005): *Effects of changes in water salinity upon exercise and cardiac performance in the European sea bass (Dicentrarchus labrax)*, «Marine Biology», 147, pp. 855-862.
- CHROUSOS G.P. (1998): *Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response*, «Annals of New York Academy Sciences», 851, pp. 311-335.
- COOKE S.J., CHANDROO K.P., BEDDOW T.A., MOCCIA R.D., MCKINLEY R.S. (2000): *Swimming activity and energetic expenditure of captive rainbow trout Oncorhynchus mykiss (Walbaum), estimated by electromyogram telemetry*, «Aquaculture Research», 31, pp. 495-506.
- DE PEDRO N., ALONSO-GOMEZ A.L., GANCEDO B., VALENCIANO A.I., DELGADO M.J., ALONSO-BEDATE M. (1997): *Effect of alpha-helical-CRF[9-41] on feeding in goldfish: in-*

- volvement of cortisol and catecholamines*, «Behavioral Neuroscience», 111, pp. 398-403.
- DEMERS N.E., BAYNE C.J. (1997): *The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout*, «Developmental & Comparative Immunology», 21, pp. 363-373.
- DI BATTISTA J.D., ANISMAN H., WHITEHEAD M., GILMOUR K.M. (2005): *The effects of cortisol administration on social status and brain monoaminergic activity in rainbow trout Oncorhynchus mykiss*, «Journal of Experimental Biology», 208, pp. 2707-2718.
- ELLIS T., NORTH B., SCOTT A.P., BROMAGE N.R., PORTER M., GADD D. (2002): *The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout*, «Journal of Fish Biology», 61, pp. 493-531.
- FAWC (1979): *Five Freedoms*, <http://www.fawc.org.uk/pdf/fivefreedoms1979.pdf>.
- FSBI (2002): *Fish welfare*, Briefing paper 2. Cambridge: Fisheries Society of the British Isles, Granta Information Systems, 2002.
- FARRELL A.P., GAMPER K., BIRTHWELL I.K. (1998): *Prolonged swimming, recovery and repeat swimming performance of mature sockeye salmon Onchorhynchus nerka exposed to moderate hypoxia and pentachlorophenol*, «Journal of Experimental Biology», 201, pp. 2183-2193.
- GEORGALAS V., MALAVASI S., FRANZOI P., TORRICELLI P. (2006): *Analisi della velocità di nuoto in larve di spigola allevate nei grandi volumi: effetto dell'ontogenesi e della densità di prede*, «Biologia Marina Mediterranea», 13, pp. 507-509.
- GREGORY R.T., WOOD C.M. (1999): *The effects of chronic plasma cortisol elevation on feeding behaviour, growth, competitive ability and swimming performance of juvenile rainbow trout*, «Physiological and Biochemical Zoology», 72, pp. 286-295.
- GREGORY T.R., WOOD C.M. (1998): *Individual variation and interrelationships between swimming performance, growth rate, and feeding in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, «Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences», 55, pp. 1583-1590.
- GRUTTER A.S., PANKHURST N.W. (2000): *The effects of capture, handling, confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish Hemigymnus melapterus*, «Journal of Fish Biology», 57, pp. 391-401.
- HALE M.E. (1999): *Locomotor mechanics during early life history: effects of size and ontogeny on fast-start performance of salmonids fishes*, «Journal of Experimental Biology», 202, pp. 1465-1479.
- HAMMER C. (1995): *Fatigue and exercise test with fish*, «Comparative Biochemistry and Physiology (A)», 112, pp. 1-20.
- IWAMA G., AFONSO L.O.B., VIJAYAN M.M. (2004): *Stress in fish*, AquaNet Workshop on Fish Welfare, Campbell River, B.C. Canada, 2004.
- JAIN K.E., BIRTHWELL I.K., FARRELL A.P. (1998): *Repeat swimming performance of mature sockeye salmon following a brief recovery period: a proposed measure of fish health and water quality*, «Canadian Journal of Zoology», 76, pp. 1488-1496.
- JAIN K.E., FARRELL A.P. (2003): *Influence of seasonal temperature on the repeat swimming performance of rainbow trout Onchorhynchus mykiss*, «Journal of Experimental Biology», 206, pp. 3569-3579.
- JEPSEN N., KOED A., THORSTAD E.B., BARAS E. (2002): *Surgical implantation of telemetry transmitters in fish: how much we have learned?*, «Hydrobiologia», 483, pp. 239-248.
- KOLOK A.S. (1999): *Interindividual variation in the prolonged locomotor performance of ectothermic vertebrates: a comparison of fish and erpetofaunal methodologies and a brief*

- review of the recent fish literature, «Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences», 56, pp. 700-710.
- KOUMOUNDOUROS G., SFAKIANAKIS D.G., DIVANACH P., KENTOURI M. (2002): *Effect of temperature on swimming performance of sea bass juveniles*, «Journal of Fish Biology», 60, pp. 923-932.
- LEMBO G., CARBONARA P., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M.T., MCKINLEY R.S. (2007): *Use of muscle activity indices as a relative measure of well-being in cultured sea bass Dicentrarchus labrax (Linnaeus, 1758)*, «Hydrobiologia», 582, pp. 271-280.
- LEMBO G., CARBONARA P., SCOLAMACCHIA M., SPEDICATO M. T., BJØRNSSEN J. E., HOLLAND B., MCKINLEY R. S. (2008): *Introduction of a new physiological acoustic electromyogram transmitter*, «Fisheries Management and Ecology», 15, pp. 333-338.
- LUPI P., VIGIANI V., MECATTI M., BOZZI R. (2005): *First haematic results for the sea bass (Dicentrarchus labrax) metabolic profile assessment*, «Italian Journal of Animal Sciences», 4, pp. 167-176.
- McFARLANE W.J., CUBITT K. F., WILLIAMS H., ROWSELL D., MOCCIA R., GOSINE R., MCKINLEY R.S. (2004): *Can feeding status and stress level be assessed by analyzing pattern of muscle activity in free swimming rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum)?*, «Aquaculture», 239, pp. 467-484.
- MCKENZIE D.J. (2001): *Effects of the dietary fatty acids on the respiratory and cardiovascular physiology of fish*, «Comparative Biochemistry and Physiology (A)», 128, pp. 607-621.
- MCKENZIE D.J., HIGGS D.A., DOSANJH B., DEACON G., RANDALL D.J. (1998): *Dietary lipid composition influences swimming performance in Atlantic salmon (Salmo salar) in sea water*, «Comparative Physiology and Biochemistry», 19, pp. 111-122.
- MILLIGAN C.L. (2003): *A regulatory role of cortisol in muscle glycogen metabolism in rainbow trout Oncorhynchus mykiss Walbaum*, «Journal of Experimental Biology», 206, pp. 3167-3173.
- MOMMSEN T.P., VIJAYAN M.M., MOON T.W. (1999): *Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation*, «Reviews in Fish Biology and Fisheries», 9, pp. 211-268.
- MORALES A.E., CARDENETE G., ABELLÁN E., GARCÍA-REJÓN L. (2005): *Stress-related physiological responses to handling in common dentex (Dentex dentex Linnaeus, 1758)*, «Aquaculture Research», 36, pp. 33-40.
- MÖCK A., PETERS G. (1990): *Lysozyme activity in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution*, «Journal of Fish Biology», 37, pp. 873-885.
- NELSON J.A., TANG Y., BOUTILIER R.G. (1996): *The effects of salinity change on the exercise performance of two atlantic cod (Gadus morhua) populations inhabiting different environments*, «The Journal of Experimental Biology», 199, pp. 1295-1309.
- PLAUT I. (2001): *Critical swimming performance: its ecological relevance*, «Comparative Biochemistry and Physiology (A)», 131, pp. 41-50.
- POLI B.M. (2009): *Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality*, «Italian Journal of Animal Sciences», 8, pp. 137-160.
- QUINTELLA B.R., ANDRADE N.O., KOED A., ALMEIDA P.R. (2004): *Behavioural patterns of sea lampreys' spawning migration through difficult passage areas, studied by electromyogram telemetry*, «Journal of Fish Biology», 65, pp. 961-972.
- ROCHE H., BOGÈ G. (1996): *Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication*, «Marine Environmental Research», 41, pp. 27-43.

- ROCHE H., BOGÉ G. (2000): *In vivo effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish* (*Dicentrarchus labrax*), «Comparative Biochemistry and Physiology (C)», 125, pp. 345-353.
- RONCARATI A., MELOTTI P., DEES A., MORDENTI O., ANGELOTTI L. (2006): *Welfare status of cultured seabass* (*Dicentrarchus labrax* L.) *and seabream* (*Sparus aurata* L.) *assessed by blood parameters and tissue characteristics*, «Journal of Applied Ichthyology», 22, pp. 225-234.
- ROTLANT J., TORT L. (1997): *Cortisol and glucose response after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress*, «Journal of Fish Biology», 51, pp. 21-28.
- RUGLYS M.P. (1985): *The secondary immune response of young carp*, *Cyprinus carpio* L., *following injection of cortisol*, «Journal of Fish Biology», 26, pp. 429-434.
- SCHRECK C.B. (2000): *Accumulation and long-term effects of stress in fish*, in *The Biology of animal Stress*, a cura di G. P. Moberg, J.A. Mench, CABI Publishing, pp. 147-158.
- SCHRECK C.B. (2010): *Stress and fish reproduction. The roles of allostasis and hormesis*, «General Comparative Endocrinology», 165 (3), pp. 549-556.
- SCHRECK C.B., OLLA B.L., DAVIS M.W. (1997): *Behavioral responses to stress*, in *Fish Stress and Health in Aquaculture*, a cura di G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schreck, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 119.
- THORSTAD E.B., NÆSJE T.F., FISKE P., FINSTAD B. (2003): *Effect of hook and release on Atlantic salmon in the river Alta, northern Norway*, «Fisheries Research», 60, pp. 293-307.
- THORSTAD E.B., ØKLAND F., FINSTAD B. (2000): *Effects of telemetry transmitters on swimming performance of adult Atlantic salmon*, «Journal of Fish Biology», 57, pp. 531-535.
- VAZZANA M., CAMMARATA M., COOPER E.L., PARINIELLO N. (2002): *Confinement stress in sea bass* (*Dicentrarchus labrax*) *depress peritoneal leucocyte cytotoxicity*, «Aquaculture», 210, pp. 231-243.
- WAGNER G.N., BALFROY S.K., HIGGS D.A., LALL S.P., FARRELL A.P. (2004): *Dietary fatty acids composition affects the repeat swimming performance of Atlantic Salmon in seawater*, «Comparative Biochemistry and Physiology (A)», 137, pp. 567-576.
- WANG W.B., LI A. H., CAI T.Z., WANG J.G. (2005): *Effects of intraperitoneal injection of cortisol on nonspecific immune functions of Ctenopharyngodon idella*, «Journal of Fish Biology», 67, pp. 779-793.
- WARDLE C.S., VIDELER J.J., ALTRINGHAM J.D. (1995): *Tuning in to fish swimming waves: body form, swimming mode and muscle function*, «The Journal of Experimental Biology», 198, pp. 1629-1636.
- WEBB P.W. (1984): *Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates*, «American Zoologist», 24, pp. 107-120.
- WEDEMAYER G.A., BARTON B.A., MCLEAY D.J. (1990): *Stress and acclimation*, in *Methods for fish biology*, a cura di C.B. Schreck, P.B. Moyle, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 451-489.
- WEDEMAYER G.A., MCLEAY D.J. (1981): *Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors*, in *Stress and fish*, a cura di A.D. Pickering, Academic Press, New York, pp. 247-275.
- WEST T.G., BRAUNER C.J., HOCHACHKA P. (1994): *Muscle glucose utilization during sustained swimming in the carp* (*Cyprinus carpio*), «The American Journal of Physiology», 267, pp. 1226-1234.
- WEYTS F.A., COHEN N., FLIK G., VERBURG-VAN KEMENADE B.M. (1999): *Interaction between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish*, «Fish and Shellfish Immunology», 9, pp. 1-20.

- WOLTER C., ARLINGHAUS R. (2003): *Navigation impacts on freshwater fish assemblages: the ecological relevance of swimming performance*, «Reviews in Fish Biology and Fisheries», 13, pp. 63-89.
- WOOD A.W., JOHNSTON B.D., FARRELL A.P., KENNEDY C.J. (1996): *Effects of didecyl-dimethylammonium chloride (DDAC) on the swimming performance, gill morphology, disease resistance, and biochemistry of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, «Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences», 53, pp. 2424-2432.

## Il benessere animale negli schemi di certificazione per l'acquacoltura, biologica inclusa

### I. INTRODUZIONE

Il benessere animale è un aspetto moderno ed emergente che qualifica tutte le filiere zootecniche, inclusa l'acquacoltura, e indirizza le nuove strategie e politiche di mercato a livello globale (FAO, 2008; FCEC, 2009; COM (2009) 584). Il benessere animale è strettamente legato al modo in cui il processo di produzione è condotto, pertanto le condizioni di benessere degli animali durante il ciclo di produzione sono effettivamente una caratteristica del prodotto stesso e il livello di benessere contribuisce a determinarne la qualità. È un requisito essenziale di un sistema integrato di qualità delle produzioni degli alimenti di origine animale, che garantisce al consumatore prodotti provenienti da impianti dove gli animali vengono allevati secondo criteri che ne rispettino le esigenze fondamentali (OIE, 2008). Al benessere si associano quindi più componenti, quali la salute animale, l'etica, la qualità e la sicurezza delle produzioni.

Dal 1985, anno della Convenzione Europea di Strasburgo, l'interesse sul tema del benessere animale delle specie allevate a fini zootecnici è andato crescendo e negli ultimi anni ha compreso anche le specie ittiche oggetto d'acquacoltura. Nel 2002 la Commissione Europea ha presentato al Consiglio d'Europa e al Parlamento Europeo la "Strategia per lo sviluppo sostenibile dell'acquacoltura Europea" (COM (2002) 511), che considera il benessere animale tra i temi strategici per lo sviluppo del comparto. La comunicazione ha dato impulso ai lavori del Consiglio d'Europa, avviati già nel 1997 e terminati nel 2005 con la Raccomandazione sul benessere dei pesci in allevamento (T-AP, 2005).

\* ISPRA-Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Roma

Nel 2006 la Commissione Europea ha lanciato il primo piano d'azione per la protezione del benessere animale (2006-2010) che definisce l'orientamento delle politiche comunitarie e le attività da intraprendere nel prossimo futuro per continuare a promuovere elevati standard di benessere animale (COM (2006) 13). Il piano si prefigge di adottare misure generali volte a rendere più chiara la legislazione comunitaria e di prevedere proposte nei settori in cui questa appare insufficiente, di garantire la protezione e il benessere degli animali attraverso lo sviluppo della ricerca e di indicatori, di diffondere l'informazione agli operatori e ai consumatori. Una specifica piattaforma d'informazione sul benessere animale è stata istituita nell'ambito del settimo programma Quadro UE per facilitare lo scambio d'informazioni e il dialogo tra le parti ([www.animalwelfare.eu](http://www.animalwelfare.eu)).

Per garantire la coerenza e il coordinamento dell'insieme delle politiche europee sul benessere, la Commissione ha disposto fondi europei per approfondimenti scientifici dedicati allo sviluppo di metodi per la valutazione del benessere animale in diverse filiere (progetto integrato Welfare quality).

In acquacoltura la ricerca si è rivolta prima verso aspetti generali legati al benessere e alle condizioni d'allevamento negli impianti (densità, trasporto, metodi di macellazione) e poi alla ricerca di indicatori di adattamento nelle specie ittiche oggetto d'allevamento. Diversi sono i progetti europei e le azioni concertate finanziate (Wealth, Finfish, Benefish, Wellfish (Cost Action 846).

La Commissione Europea ha inoltre ritenuto opportuno richiedere all'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (European Food Safety Authority, EFSA) pareri scientifici sul benessere nelle specie oggetto d'allevamento in acquacoltura. I pareri elaborati dall'Animal Health and Welfare (AHAW) Panel hanno riguardato l'approccio generale alla definizione di benessere delle specie ittiche, il concetto di senzenza (EFSA, 2009a), e 12 pareri tecnici specifici sul benessere in allevamento, sullo stordimento e la macellazione delle principali specie ittiche allevate in Europa (EFSA, 2008a,b,c,d,e; 2009b,c,d,e,f,g,h). In ultimo le raccomandazioni sulle future aree di ricerca e sugli aspetti del benessere che richiedono ancora un contributo della ricerca (EFSA, 2009i).

Raccomandazioni per il benessere dei pesci allevati sono state inserite nel nuovo Codice dell'OIE, includendo alcuni principi generali relativi al trasporto e alla macellazione (OIE, 2010) e nella Comunicazione della Commissione Europea sulla strategia per lo sviluppo sostenibile dell'acquacoltura (COM (2009) 162).

A 13 anni dalla pubblicazione della Direttiva Europea 98/58/CE riguardante la protezione degli animali negli allevamenti, il benessere animale è considerato una componente essenziale della certificazione della qualità nei

processi di produzione (Eurobarometer, 2007; COM 2009 (584); EUPAW, 2009; CAP, 2010) e un aspetto strategico per promuovere l'immagine delle produzioni europee di origine animale, inclusa l'acquacoltura (FAO, 2008; Consensus, 2008, COM (2009) 162).

## 2. DEFINIZIONI E INDICATORI DI BENESSERE NELLE SPECIE OGGETTO D'ACQUACOLTURA

Il benessere è un concetto multidimensionale e pertanto una qualsiasi definizione univoca può risultare incompleta e inappropriata. In una visione generale uno "stato di benessere" è raggiunto quando sono soddisfatte simultaneamente e completamente le "cinque libertà" enunciate nel Brambell Report (1965) e successivamente riprese e ampliate dal Farm Animal Welfare Council (FAWC, 1993; 1996). Con riferimento alle specie oggetto d'allevamento, per le quali vi è una diretta responsabilità dell'uomo, è condivisa la definizione di Appleby e Huges (1997) per cui il benessere è «il soddisfacimento dei bisogni fisici, ambientali, nutritivi, comportamentali e sociali dell'animale o di gruppi di animali sotto la cura, la supervisione o l'influenza delle persone».

Una moderna definizione che contempla i principi contenuti nelle 5 libertà e la responsabilità di cura dell'uomo è stata adottata dalla FAO (2010), per la quale il benessere è «quella condizione in cui non ci sia l'abuso e lo sfruttamento degli animali da parte dell'uomo, attraverso il mantenimento di standard appropriati di spazio, alimentazione e cure generali, la prevenzione e il trattamento delle malattie e la libertà da maltrattamenti e da dolore e sofferenze ingiustificati» (Blood e Studdert, 2000).

Come condizione multifattoriale il benessere è «uno stato di equilibrio, sia fisico che mentale, che consente all'animale di essere in armonia con l'ambiente» (Hughes, 1976); «lo stato dell'animale in relazione ai suoi tentativi di adattarsi all'ambiente» (Broom, 1991). La valutazione del benessere coinvolge quindi una serie di risposte che l'animale mette in atto per adattarsi alle variazioni dell'ambiente in cui si trova nel tentativo di mantenere un buono stato fisico e mentale. Tutti i modelli utilizzati per la valutazione di benessere contemplano quindi due categorie principali di indicatori (Canali, 2008) che contemplano gli aspetti "animale" e "ambiente":

1. *indicatori diretti relativi agli animali*, che misurano la reattività e la capacità di adattamento a specifici ambienti. In questa categoria rientrano i parametri fisiologici, comportamentali, sanitari e produttivi.

2. *indicatori indiretti relativi all'ambiente* d'allevamento che riferiscono alle strutture, alle condizioni ambientali e alla gestione degli animali.

Gli indicatori di tipo di diretto sono anche detti “indicatori di adattamento” e ricadono in tre categorie principali (Duncan e Fraser, 1997):

- 1) indicatori basati sulle sensazioni (*feeling-based approach*); rilevano lo stato mentale dell'animale e la sua capacità di avere esperienze soggettive. In questo caso il requisito per il benessere è rappresentato dal fatto che l'animale sia in buona salute, con libero accesso a esperienze positive (es. rapporto tra conspecifici) e libero da esperienze negative quali paura, sofferenza.
- 2) indicatori basati sulle funzioni biologiche (*functional-based approach*); rilevano la capacità dell'animale di adattarsi al proprio ambiente. Il benessere in questo caso dipende dallo stato di salute e dal corretto funzionamento dei meccanismi fisiologici.
- 3) indicatori basati sui comportamenti e le funzioni naturali (*nature-based approach*); indicano la possibilità di esprimere il proprio repertorio comportamentale e di vivere secondo la propria natura. Tale approccio assume la tesi che l'animale in condizione di allevamento possa non esprimere lo stesso repertorio comportamentale osservato in natura.

Un animale risponde alle variazioni delle condizioni ambientali con cambiamenti comportamentali, primi e precoci segni della necessità di adattamento, e poi con meccanismi funzionali e fisiologici, che possono avere effetti a lungo termine sullo stato di salute e di benessere. La valutazione di questa serie di reazioni, di tipo fisiologico funzionale e comportamentale, può consentire di valutare lo stato di adattamento e di benessere ed evidenziare possibili stati di ridotto benessere.

Nelle specie ittiche, dove l'osservazione del comportamento in condizioni di allevamento è spesso difficile, la ricerca si è orientata principalmente allo studio e all'applicazione di parametri fisici, produttivi e fisiologici e sanitari quali indicatori di stress e/o alterato benessere. In tabella 1 sono riportate le principali categorie di indicatori diretti e le misure più comunemente utilizzate per la valutazione del benessere nelle specie ittiche (Huntingford e Kadri, 2008).

Gli indicatori di benessere utilizzabili in allevamento dovrebbero rispondere ai seguenti requisiti: 1) includere misure accurate e valide; 2) essere facilmente applicabili da tecnici opportunamente addestrati; 3) richiedere un tempo limitato per l'esecuzione in modo da poter effettuare misure ripetute in molte aziende; 4) rivelare le cause di riduzione del benessere e quindi per-

INDICATORI DIRETTI DI BENESSERE ANIMALE	APPROCCIO BASATO SU		
	funzioni biologiche	comportamento	sensazioni
<b>Condizione fisica</b>			
Lesioni e malattie	√		
Stato immunitario	√		
Stato nutrizionale	√		
Crescita	√	√	
Riproduzione	√	√	
<b>Stato fisiologico</b>			
Stato metabolico	√	√	
Stato neuro-endocrino	√	√	
Geni on/off	√	√	
<b>Stato comportamentale</b>			
Comportamenti di stress	√	√	√
Stereotipie		√	√
Repertorio naturale		√	√

Tab. 1 *Indicatori diretti di benessere nelle specie d'acquacoltura (modificato da Huntingford e Kadri, 2008)*

mettere di proporre raccomandazioni per miglioramenti tecnico-gestionali del sistema di allevamento.

In acquacoltura, come in altre filiere zootecniche, non si dispone ancora di indicatori diretti in grado di fornire una “diagnosi integrata” dello stato di benessere da inserire in schede di valutazione utilizzabili a livello aziendale. Viene quindi preferito l'utilizzo di indicatori indiretti, ovvero di indicatori delle condizioni ambientali e gestionali in allevamento, per i quali il rilievo risulta meno indaginoso e il monitoraggio più semplice e rapido, ed eseguibili anche da personale non specializzato (Johnsen et al., 2001).

Gli indicatori indiretti da impiegare variano in relazione al sistema di produzione, alle tecnologie e ai protocolli d'allevamento, che possono essere molto diversi in relazione all'ambiente e alle finalità produttive. In particolare negli allevamenti d'acquacoltura intensiva, gli indicatori indiretti sono utilizzati per valutare i) le condizioni ambientali e in particolare la qualità dell'acqua ii) i parametri gestionali, quali la densità di allevamento, l'alimentazione, le manipolazioni, il trasporto, la presenza di predatori, i metodi di stordimento e macellazione iii) idoneità delle strutture d'allevamento in riferimento alle esigenze di specie. Queste componenti, infatti, se non opportunamente gestite nelle aziende, rappresentano importanti fattori di rischio per il benessere delle specie oggetto d'allevamento (Hastein et al., 2005; Huntingford et al.,

2006). Gli effetti di ogni fattore possono poi variare in relazione alla natura del fattore stesso, dell'intensità e della durata, e in relazione alla specie, allo stadio di sviluppo, al sistema di allevamento e alle fasi di produzione.

Una analisi sui fattori di rischio negli allevamenti d'acquacoltura è stata condotta dall'EFSA (2008) su richiesta della Commissione Europea (Question N° - Q-2006-149). Diversi fattori sono stati individuati utilizzando l'approccio del sistema esperto, raggruppati in fattori abiotici, biotici e gestionali e sono stati valutati con una analisi del rischio in funzione della tipologia d'allevamento, della specie allevata e della fase di produzione.

Nel caso della spigola e dell'orata, ad esempio, sono emersi come fattori di rischio significativi quelli associati alla gestione in impianto (es. manipolazione, disturbo, scarsa igiene), all'alimentazione (tipo di alimento, conservazione, metodi di distribuzione) e alle malattie (tab. 2). Nelle fasi di pre-macellazione i rischi principali per il benessere sono stati individuati nel sovraffollamento prolungato durante le fasi raccolta del prodotto, nel digiuno applicato prima della raccolta, spesso ripetuto quando la raccolta è frazionata in più tempi, e nel tempo di esposizione all'aria. Nelle fasi di macellazione hanno influenza sullo stato pre-mortem dell'animale, e quindi sulla qualità del prodotto, le condizioni di asfissia per l'induzione della morte, la compressione con altri soggetti e le elevate densità alle quali il processo è condotto.

### 2.1 *Casi studio: la valutazione del benessere nella spigola e nell'orata*

La presente Unità Operativa dell'ISPRA ha svolto dal 2001 attività di ricerca inerente diversi aspetti del benessere delle specie ittiche in allevamento, nell'ambito di due progetti europei (Marino et al., 2007; 2010), tre progetti nazionali (Marino et al. 2003; 2005; 2009) e un progetto regionale (Marino et al. 2008). Parte dei risultati ottenuti nell'ambito dei suddetti progetti sono stati utilizzati per l'elaborazione dei pareri scientifici dell'EFSA (2008e; 2009b) richiesti dalla Commissione Europea sugli aspetti legati al benessere in allevamento e alla macellazione.

Gli studi hanno riguardato in particolare due specie, la spigola (*Dicentrarchus labrax*) e l'orata (*Sparus aurata*) scelte come specie modello, e sono stati orientati alla valutazione del benessere in relazione a diversi stressori ambientali (es. temperatura, ossigeno, anidride carbonica), gestionali (es. densità di allevamento, diete e alimentazione, tecniche di anestesia) in diversi sistemi di allevamento (intensivo in gabbie e in vasche, semi-intensivo; estensivo). Nel complesso sono stati raccolti oltre 3000 campioni per una

FASE DI INGRASSO	GABBIE	VASCHE CIRCUITO APERTO	VASCHE RICIRCOLO	ESTENSIVO SEMI-INTENSIVO
<b>Pratiche di allevamento</b>				
Manipolazione	0.150	0.150	0.150	
Disturbo	0.060	0.060	0.060	
Sostituzione reti	0.006			
Intensità luce	0.003			
Igiene vasche		0.010	0.010	
Guasti tecnici			0.012	
<b>Alimentazione</b>				
Formulazione e stoccaggio	0.135	0.135	0.135	0.010
Adattamento al sistema di distribuzione	0.054	0.018	0.018	0.018
<b>Patologie</b>				
Nodaviriosi	0.040	0.040		
Vibriosi / Pasteurellosi	0.036	0.036	0.014	
Winter syndrome	0.018	0.018		0.162
Parassiti monogenei			0.027	
<b>Qualità dell'acqua</b>				
Temperature > 26 °C	0.009			
Flussi inadeguati	0.008			
Ipossia	0.004	0.002	0.002	0.004
Scarsi ricambi		0.007	0.007	
Iperossia		0.004	0.004	
Ipercapnia		0.004	0.008	
Acidosi (ridotto pH)			0.008	
Ipersaturazione		0.001	0.001	
Basse temperature				0.054
Elevati livelli di ammoniaca			0.006	
<b>Predazione</b>	0.012			0.108
<b>Densità di allevamento</b>	0.006	0.006	0.006	
<b>Rischio</b>	<b>0.5408</b>	<b>0.4901</b>	<b>0.4668</b>	<b>0.3562</b>

Tab. 2 *Principali fattori di rischio nell'allevamento di spigola e orata (modificato da EFSA, 2008e)*

CATEGORIA	VALIDITÀ	REPERIBILITÀ	RIPRODUCIBILITÀ	COSTI	APPLICABILITÀ
<b>Fisiologici</b>					
Ematologici (Hb, Hct, RBC, WBC, stato dei gas)	+	+	+/-	-	+/-
Ormonali (cortisolo)	++	+	+/-	-	-
Metabolici (glucosio, lattato, NEFA, proteine)	++	+	+/-	-	+/-
Idrominerali (ioni, osmolarità)	+	+	+/-	-	+/-
Enzimatici (profilo epatico, renale, muscolare)	++	+	+/-	-	+/-
Immunologici (lisozima, complemento, Ig)	++	+	+/-	-	+/-
<b>Fisici</b>					
Lesioni esterne (cute, pinne, occhi)	++	++	+	+	+
Lesioni organi interni (fegato, milza, rene)	++	+/-	+/-	+/-	+/-
Malformazioni	++	++	+	+	+
Alterazione della livrea	+	++	+	+	++
Eccesso di muco	+	++	+	+	+
Micosi/parassitosi	++	+	+	+/-	+
<b>Produttivi</b>					
Performance di crescita	++	++	++	+	++
Mortalità	++	++	++	+	++
Performance riproduttive	++	++	++	+	+
Indici organosomatici	++	+/-	+/-	+/-	+/-
<b>Comportamentali</b>					
Nuoto	++	++	++	+	++
Alimentazione	++	++	++	+	++
Interazioni sociali, aggressività	+	-	-	+/-	-
Stereotipie	+	-	-	+/-	-
(++ ottima, + buona, +/- ridotta, - scarsa)					

Tab. 3 *Utilità di alcuni indicatori utilizzati per la valutazione del benessere della spigola e dell'orata in allevamento*

banca dati di oltre 20.000 dati riferiti a diverse categorie di indicatori diretti (fisici, fisiologici, produttivi, comportamentali), misurati in condizioni sperimentali e in azienda. Sulla base dei risultati è stato assegnato ai diversi indicatori un punteggio in relazione alla validità, reperibilità, riproducibilità, costi e applicabilità (sintesi in tab. 3), con lo scopo di individuare un set di indicatori “operativi” informativi dello stato di benessere nelle diverse condizioni di allevamento.

Nel complesso emerge la validità di numerosi indicatori per la valutazione della condizione di benessere nella spigola e nell'orata, tuttavia tale validità non è sempre accompagnata dall'applicabilità degli stessi in condizioni di allevamento. Gli indicatori fisiologici, ad esempio, trovano maggiore applicazione in studi sperimentali condotti in condizioni "controllate", mirati all'identificazione di quelle variabili potenzialmente sfavorevoli o favorevoli per il benessere. Negli impianti commerciali invece, i parametri fisici, produttivi e comportamentali (ove possibile) risultano più funzionali e applicabili, in ragione della numerosità degli esemplari allevati, della difficoltà di raccogliere determinate matrici biologiche (es. sangue), della variabilità di alcuni indicatori fisiologici (in funzione della specie, dell'individuo, della modalità di campionamento, della stagionalità etc.) e della necessità di contenere i costi.

### 3. IL BENESSERE NEGLI STANDARD DI CERTIFICAZIONE PER L'ACQUACOLTURA

L'aumento delle produzioni in acquacoltura ha fatto emergere perplessità in merito ai potenziali impatti negativi sull'ambiente, sulle comunità e sui consumatori. La certificazione del prodotto può offrire, in acquacoltura come in altre filiere animali, una garanzia di qualità delle pratiche d'allevamento, aumentando la fiducia dei consumatori nei sistemi di produzione e di commercializzazione. Nel 2008 la FAO, rilevata la mancanza di sistemi di certificazione in acquacoltura e la necessità di assicurare un processo di certificazione trasparente in assenza di conflitti di interessi, ha redatto le linee guida tecniche (FAO 2008). Gli aspetti considerati rilevanti nelle linee guida per la certificazione riguardano:

- la salute e il benessere animale;
- la sicurezza sanitaria e la qualità dei prodotti;
- la conservazione dell'ambiente e/o
- la responsabilità sociale associata all'acquacoltura.

Per la protezione della salute e del benessere degli animali la FAO afferma il principio generale che «le attività di acquacoltura dovranno essere condotte in maniera da assicurare la salute e il loro benessere, migliorando la salute, minimizzando lo stress, riducendo il rischio di malattie e mantenendo un ambiente di allevamento sano durante tutte le fasi del ciclo di produzione».

I requisiti minimi da considerare in uno schema di certificazione per assicurare la salute e il benessere animale sono stati sintetizzati in 10 punti che riguardano i) le pratiche di gestione degli animali, ii) il mantenimento di un

ambiente sano, iii) gli aspetti di profilassi e il trattamento delle malattie, iv) l'utilizzo di certificati sanitari, v) metodi per la prevenzione e il trasferimento di patogeni, vi) la scelta di specie utilizzate per la policoltura, vii) la formazione del personale sulle buone pratiche di gestione della salute e del benessere. Ogni schema di certificazione in acquacoltura dovrà quindi comprendere specifici standard che consentano di misurare lo stato di benessere e di salute delle specie allevate.

In Europa gli schemi di certificazione riferiscono a tre tipologie principali:

- i) Schemi di certificazione che includono il benessere animale
  - acquacoltura biologica (IFOAM, Naturland, Biosuisse, AB France, Debio, Soil Association, ICEA)
  - acquacoltura convenzionale (GLOBALGAP, ACC Aquaculture Certification Council, Friend of the Sea)
- ii) Schemi di certificazione del benessere animale (Freedom Food RSPCA)
- iii) Schemi che certificano altri aspetti ma hanno effetti positivi anche sul benessere animale (Prodotti DOP/IGP Tinca gobba dorata del Pianalto di Poirino).

Al primo tipo appartengono le certificazioni d'acquacoltura biologica. Il principio che sottende alle produzioni biologiche è il mantenimento di un sistema acquatico sostenibile in grado di assicurare le condizioni di benessere delle specie in allevamento (Il Principio della Salute). La salute e il benessere delle specie allevate sono quindi considerati principi fondanti della certificazione biologica. In Europa esistono 19 schemi biologici privati e 4 regolamenti nazionali, in Francia, Danimarca, Austria e Spagna (Bergleiter et al., 2009). La maggior parte di questi standard si applicano a specie tipiche del territorio. In Germania, Austria e Svizzera per l'allevamento negli stagni della carpa e delle specie accompagnatrici (tinca, pesce persico, lucioperca ecc.), trota e salmerino; in Gran Bretagna, Irlanda e Scandinavia per il salmone atlantico, la trota, il merluzzo e i mitili; negli Stati mediterranei per le specie marine, principalmente spigola e orata.

La legislazione europea non ha ancora definito standard minimi di benessere in acquacoltura e gli standard definiti negli schemi di certificazione, inclusi quelli per l'acquacoltura biologica, si riferiscono solo a indicatori indiretti e senza misure quantitative di riferimento (reference points) alle quali adeguarsi (tab. 4).

Il secondo tipo comprende i sistemi di certificazione specificatamente orientati alla certificazione del benessere animale (*welfare labelling*). Hanno l'obiettivo di rendere facile l'identificazione e la scelta di prodotti certificati




FATTORI CHE INFLUENZANO IL BENESSERE	INDICATORI
Sistemi e pratiche di allevamento	Sistemi specie-specifici adatti per rispondere alle esigenze di benessere degli animali. Minimizzazione delle manipolazioni.
Densità di allevamento	Definita in base al comportamento specie/specifico, alla riduzione dello stress, alla salute e alle condizioni ambientali locali
Macellazione	Metodi appropriati di uccisione
Prevenzione delle malattie e bio-sicurezza	Appropriate misure di prevenzione e bio-sicurezza. Piano di gestione della salute in tutte le fasi di produzione
Trattamenti veterinari	Aspetti professionali e legali del management veterinario
Uso di antibiotici	Uso legale di antibiotici, non a scopo di profilassi e come promotori di crescita nei mangimi

Tab. 4 *Indicatori indiretti di benessere utilizzati per misurare il rispetto del benessere animale negli schemi di certificazione internazionali usati in acquacoltura (modificato da WWF, 2007)*

per gli elevati standard di protezione animale che assicurano. Appartiene a questa tipologia lo standard privato volontario *Freedom Food* per l'allevamento del Salmone Atlantico, elaborato dalla Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animal (RSPCA) nel 2007. Questo standard è l'unico che certifica il benessere di una specie d'acquacoltura e include un maggior numero di fattori rispetto a quelli considerati in altri schemi biologici esistenti per il salmone (tab. 5).

Lo schema è basato sul rispetto delle cinque libertà, e prende in considerazione numerose categorie di fattori tra cui le pratiche gestionali, la densità di allevamento, la qualità dell'acqua, l'alimentazione, la salute e l'igiene dell'allevamento, le modalità e i tempi per il trasporto e la macellazione. Valori e/o intervalli di riferimento sono definiti per l'ossigeno disciolto, l'anidride carbonica, il pH, l'ammoniaca, la temperatura, i solidi sospesi e la densità di allevamento a diversi stadi di sviluppo (tab. 6). Ulteriori prescrizioni sono riportate per ciò che riguarda il controllo dei predatori e delle fughe e la formazione degli operatori in materia di buone pratiche di allevamento e benessere animale. Incentivi economici per l'adozione di questi sistemi certificazione da parte dei produttori sono in analisi (PA 2006-2010; COM 584/2009; Settimo Programma Quadro UE).

La terza tipologia include gli schemi di certificazione per l'acquacoltura basati su i principi generali di sostenibilità e che possono avere effetti indiretti sul benessere animale. Ricadono in questa tipologia anche i prodotti con

					
<b>Gestione</b>					
Strutture	✓	✓	✓	✓	✓
Manipolazione	✓	✓		✓	✓
Confinamento e selezione	✓	✓		✓	✓
Abbattimento	✓				
Fotoperiodo	✓		✓	✓	✓
<b>Densità di allevamento</b>	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Qualità dell'acqua</b>					
O <sub>2</sub>	✓		✓	✓	✓
nutrienti	✓		✓		
T°	✓		✓	✓	✓
pH	✓		✓		
CO <sub>2</sub>	✓				
Salinità			✓		
<b>Alimentazione</b>					
Formulazione diete	✓	✓	✓	✓	✓
Metodo di somministrazione	✓				
Digiuno	✓				
<b>Salute e igiene allevamento</b>					
Malattie/terapia	✓	✓	✓	✓	✓
Vaccinazione	✓				
Piano di controllo veterinario	✓			✓	✓
<b>Trasporto e macellazione</b>	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Comportamento</b>	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Controllo predatori</b>	✓		✓	✓	
<b>Controllo fughe</b>	✓		✓	✓	✓
<b>Registro dati/Ispezioni</b>	✓	✓	✓	✓	
<b>Formazione staff</b>	✓	✓			

Tab. 5 Benessere animale e certificazione: confronto tra standard inclusi in diversi schemi di certificazione (Freedom Food, IFOAM, Naturland, ICEA) e nel Regolamento 710/2009. Specie di riferimento: salmone atlantico

	UOVA	AVANNOTTI	PARR/SMOLTS	ADULTI
Densità		10.000 m <sup>2</sup>	30 kg/m <sup>3</sup>	10-15 kg/m <sup>3</sup>
O <sub>2</sub> (ppm)	7	7	6	6
NH <sub>3</sub> (ppm)	-	<0.002	<0.002	-
CO <sub>2</sub> (ppm)	-	<6	<6	-
T° range	1-8°	1-10°	<16°	-
pH	5.5-8	5.5-8	5.5-8	-
Torbidità (parti/1000)	<25	<25	<25	-
Trasporto	>4 cm			
Confinamento			max 2 h	max 2 h
Selezione		>1.3 g		
Digiuno			max 24 h	max 72 h
Abbattimento		anestesia	stordimento	stordimento
Macellazione				stordimento dissanguamento. 10 sec

Tab. 6 *Parametri indiretti di benessere animale nella certificazione Freedom Food per il salmone Atlantico (modificato da RSPCA, 2007)*

certificazione europea DOP o IGP che si basano su metodi di produzione tradizionali. Un esempio di pesce con certificazione DOP in Italia è la Tinca gobba dorata del Pianalto di Poirino.

Una valutazione della componente “benessere animale” negli schemi di certificazione per l’acquacoltura è stata condotta dal WWF (2007) che ha analizzato 24 schemi internazionali di certificazione sulla base dei parametri riportati in tabella 4. Il livello del rispetto del benessere animale nei diversi schemi di certificazione è stato misurato assegnando un punteggio (welfare score) ai diversi parametri. Il valore del welfare score ha raggiunto il punteggio massimo solo in 3 schemi di certificazione biologica, che includono precise prescrizioni e standard per promuovere il benessere animale (fig. 1). Altri schemi di certificazione biologica hanno avuto assegnato un punteggio inferiore per la mancanza di standard negli schemi. Punteggi bassi (welfare score basso) sono dovuti all’assenza o scarsa considerazione, in particolare:

- i) dell’uso di sistemi/strutture di allevamento specie-specifici al fine di rispondere alle esigenze di benessere degli animali e ridurre lo stress;
- ii) di indicazioni sui metodi di macellazione;
- iii) di misure per la prevenzione delle malattie, misure di biosicurezza;
- iv) aspetti professionali e legali del management veterinario e procedure di trattamento e medicazione.

#### 4. ASPETTI DI BENESSERE ANIMALE NELL'ACQUACOLTURA BIOLOGICA (REGOLAMENTO CE 710/2009)

La produzione mondiale di prodotti biologici d'acquacoltura ha avuto negli ultimi anni un incremento considerevole, passando da 5.000 t nel 2000 a 53.000 t nel 2008 (Tacon e Brister, 2002; Bergleiter et al., 2009). Un'ulteriore crescita della produzione biologica globale è prevista per l'espansione delle unità produttive già esistenti e per la nascita di nuovi impianti.

L'acquacoltura biologica è presente in 26 paesi del mondo, con 225 impianti certificati dei quali 123 in Europa (Organic Service & Naturland survey 2008 in Bergleiter, 2009). La produzione europea, con 24.500 t rappresenta il 45% circa del volume mondiale e il trend è significativamente in crescita.

I principali paesi produttori sono la Gran Bretagna con 10.000 t/anno e l'Irlanda con poco meno di 8.000 t/anno. L'Austria detiene il maggior numero di impianti in Europa. Sono presenti complessivamente 32 piccoli impianti, 12 dei quali con superfici di allevamento inferiori a un ettaro. La specie maggiormente allevata è il salmone con una produzione da acquacoltura biologica pari a 16.000 t prodotte in Norvegia, Gran Bretagna, Irlanda e Francia. Seguono le produzioni di carpe, spigole e orate.

Il Regolamento CE 710/2009, entrato in vigore dal 1 luglio 2009, definisce le regole di produzione per l'acquacoltura biologica e gli standard minimi da adottare all'interno del mercato comunitario e per l'importazione di prodotti biologici (IFOAM, 2009). Il Regolamento CE 710/2009 considera il benessere animale un requisito fondamentale per le produzioni biologiche e come per le altre produzioni biologiche adotta il principio generale del mantenimento di un sistema acquatico sostenibile in grado di assicurare le condizioni di benessere delle specie in allevamento.

Il regolamento al punto 10 recita: «La produzione di animali di acquacoltura biologica deve garantire il rispetto delle esigenze proprie di ciascuna specie animale. A questo proposito, le pratiche di allevamento, i sistemi di gestione e gli impianti di contenimento devono rispondere alle esigenze di benessere degli animali [...]. Per ridurre al minimo gli organismi nocivi e i parassiti e garantire uno stato ottimale di salute e di benessere degli animali, occorre fissare coefficienti di densità massimi. Occorrono disposizioni specifiche che tengano conto dell'ampia varietà di specie con particolari esigenze».

Le prescrizioni contenute nel Reg. CE 710/09 sono indirizzate al rispetto delle cinque libertà fondamentali del benessere:

- I libertà - Alimentazione: definita genericamente indicando che i mangimi devono rispondere alle esigenze nutrizionali dei pesci.

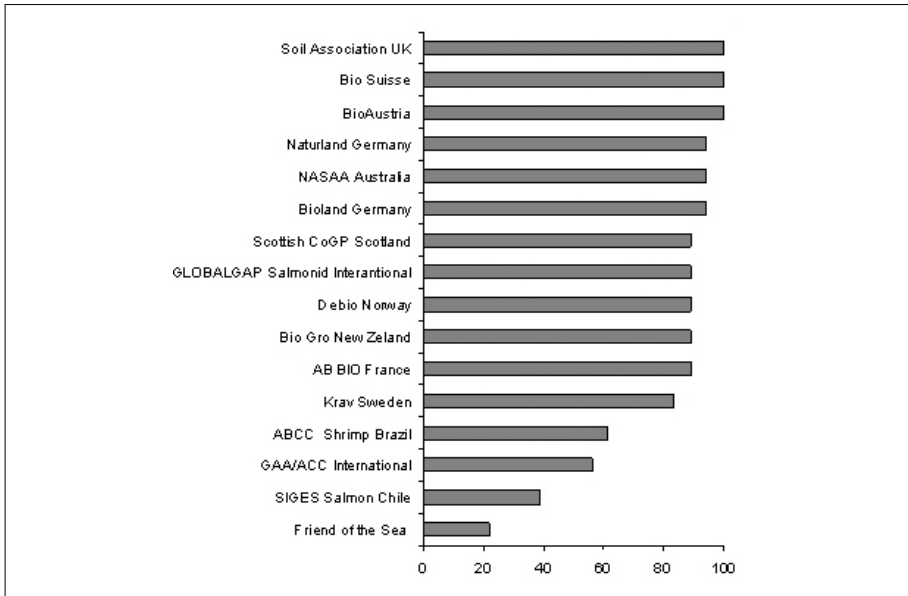


Fig. 1 *Il benessere animale negli schemi di certificazione per l'acquacoltura (modificato da WWF, 2007). Il valore percentuale è assegnato in funzione della considerazione dei fattori che influenzano direttamente o indirettamente il benessere*

- II libertà - Ambiente: i parametri fisico-chimici dell'acqua che determinano principalmente la qualità e l'idoneità dell'ambiente, flusso, ossigenazione, pH, temperatura, concentrazione di nutrienti non sono definiti a eccezione del valore d'ossigeno (60% saturazione) per l'allevamento di Salmonidi in acque dolci.
- III libertà - Malattie: definizione di un piano di gestione della salute volto alla prevenzione delle malattie. Consentiti trattamenti veterinari.
- IV libertà - Densità: definiti i valori per specie o gruppi di specie.
- V libertà - Sofferenze: definite solo alcune operazioni/condizioni in cui deve essere minimizzato lo stress.

Gli articoli del Regolamento 710/2009 che riferiscono alla salute e al benessere animale sono sintetizzati nella tabella 7.

Nella sezione 3 del regolamento "Pratiche di allevamento degli animali di acquacoltura" e nello specifico Art. 25 septies "Norme generali in materia di allevamento", il benessere è richiamato in relazione all'esigenza di spazio dei pesci durante l'allevamento, alla portata e alla qualità dei parametri fisico-chimici dell'acqua. La densità di allevamento risulta definita per specie o gruppo di specie ed è l'unico indicatore (indiretto) per il quale il regolamento stabilisce negli allegati tecnici una misura quantitativa in allevamento.

SEZIONE	ARTICOLO	CONDIZIONE/PARAMETRO	STANDARD	SCOPO
3. Pratiche di allevamento degli animali di acquacoltura	Art 25 septies Norme generali in materia di allevamento	Spazio sufficiente - densità	SI	Salute e protezione benessere
		Portata acqua e parametri fisico-chimici	NO	Salute e protezione benessere
3. Pratiche di allevamento degli animali di acquacoltura	Art 25 nonies Gestione degli animali	Manipolazione/calibrazione	NO	Minimizzare per evitare stress e lesioni
		Illuminazione artificiale	NO	Consentiti al fine di assicurare il benessere
		Ventilazione		
		Impiego di ossigeno		
		Macellazione	NO	Eliminare la sofferenza
5. Alimentazione	Art 25 undecies Norme generali sull'alimentazione	Regimi di alimentazione		Garantire la salute degli animali
7. Profilassi e trattamenti Veterinari	Art 25unvicies Norme generali in materia di profilassi	Piano di gestione della salute	NO Consulenza sanitaria specializzata 1 volta/anno	Profilassi sanitaria
	Art 25unvicies Trattamenti veterinari	Medicinali allopatici	SI (max 2/ciclo)	Salute
	Art 32 bis Trasporto pesci vivi	Acqua, spazio, densità	NO	Ridurre lo stress

Tab. 7 Disposizioni sul benessere animale nel Regolamento CE 710/2009

Per la valutazione degli effetti della densità di allevamento sul benessere dei pesci, il regolamento indica come strumento il monitoraggio delle condizioni dei pesci e della qualità dell'acqua. La condizione dei pesci in allevamento deve essere monitorata attraverso la valutazione dell'aspetto fisico, delle performance di crescita, del comportamento e dello stato di salute generale. Gli indicatori diretti di benessere al quale il regolamento riferisce sono: danni alle pinne, altri tipi di lesioni, gli indici di crescita, i tassi di mortalità e il tipo di comportamento espresso. Gli indicatori diretti di benessere sono richiamati, tuttavia, senza valori di riferimento verso i quali confrontare i valori rilevati in azienda. La valutazione della condizione di benessere è quindi di tipo soggettivo. Il monitoraggio della qualità dell'acqua ha l'obiettivo di misurare i parametri chimico fisici che possono avere effetti sullo stato di benessere dei

pesci in allevamento. Il regolamento, tuttavia, non definisce i parametri da rilevare e i rispettivi valori di riferimento. Su questo punto, il decreto attuativo n. 11954 riporta i parametri da monitorare, quali ossigeno, temperatura, pH (rilevati con frequenza almeno settimanale), la salinità e i livelli dei nutrienti (rilevati stagionalmente e/o in presenza di segni di sofferenza o mortalità degli animali). I dati del monitoraggio dovranno essere annotati nel registro di produzione insieme a quelli delle condizioni di salute degli animali.

Nell'Art. 25 nonies relativo alla "Gestione degli animali" il benessere dei pesci è richiamato in riferimento alle operazioni di manipolazione che devono essere limitate al minimo ed essere effettuate con la massima cura e con l'ausilio di attrezzi e protocolli adatti, per evitare stress e lesioni fisiche. L'uso dell'anestesia è consentito solo per la manipolazione dei riproduttori.

Il regolamento consente l'uso dell'illuminazione artificiale, della ventilazione e dell'ossigenazione solo durante pratiche o situazioni particolari al fine di assicurare il benessere e la salute degli animali.

Le pratiche di macellazione (Art. 25 nonies) devono essere condotte in modo da minimizzare la sofferenza dei pesci, utilizzando tecniche in grado di indurre immediatamente uno stato di incoscienza e di insensibilità al dolore prima della morte. Il regolamento non fornisce prescrizioni sulle tecniche di macellazione, lasciando aperta la possibilità che vengano applicati tecniche diverse in relazione alla specie allevata e alle procedure già in uso nei diversi paesi europei. Su questo specifico aspetto, i pareri predisposti dall'EFSA (2009) per 8 specie acquatiche (salmone, trota, anguilla, carpa, spigola, orata, rombo e tonno) concludono sull'opportunità di utilizzare metodi di induzione istantanea dello stato di incoscienza quali ad es. elettrostordimento, ma evidenziano anche la mancanza di protocolli operativi affidabili in azienda e di strumenti adeguati per le diverse specie. L'uso di questi metodi, inoltre, può avere effetti indesiderati sulle qualità organolettiche e commerciali del prodotto.

La sezione 5 del regolamento affronta l'alimentazione degli animali, e l'Art 25 undecies stabilisce che i regimi di alimentazione perseguono prioritariamente la salute degli animali, e la qualità del mangime deve corrispondere alle loro esigenze nutrizionali. Il successivo articolo, Art 25 duodecies, sulle norme specifiche sull'alimentazione degli animali d'acquacoltura carnivori, indica l'uso obbligatorio di mangimi biologici di origine vegetale e animale, per una razione alimentare che può comprendere al massimo il 60% di prodotti vegetali. Gli effetti della componente vegetale dei mangimi sullo stato di salute e benessere degli animali carnivori non è considerata.

Il regolamento prevede l'adozione di un piano di gestione della salute degli animali come misura di profilassi indiretta mirata a prevenire l'insorgenza

di malattie. Qualora, nonostante le misure profilattiche poste in essere per tutelare la salute degli animali dovesse insorgere un problema sanitario, si può ricorrere a trattamenti veterinari.

L'Art. 32 bis sul trasporto dei pesci vivi, raccomanda l'uso di strutture di contenimento adeguate e il mantenimento della qualità dell'acqua durante il trasporto per soddisfare l'esigenze fisiologiche degli animali. Anche in questo caso non sono indicati valori di riferimento rispetto alle strutture, alla densità di trasporto, alla concentrazione di ossigeno e temperatura, alla durata del trasporto, tutti parametri che hanno importanti effetti sul benessere.

L'Italia ha recepito il Regolamento CE 710/2009 con i decreti attuativi n. 11954 e n. 11955, che rendono concreta la possibilità di avviare produzioni biologiche anche in acquacoltura.

Rispetto al Regolamento Europeo, la normativa italiana contiene alcune disposizioni specifiche per la protezione del benessere nelle specie d'acquacoltura, in particolare i) i parametri ambientali che devono essere oggetto di monitoraggio (ossigeno, pH, temperatura, nutrienti e salinità) e la relativa frequenza di registrazione, ii) l'uso di alcuni indicatori diretti, quali quelli fisici e produttivi (tassi di mortalità, crescita e lesioni fisiche), iii) l'obbligo di registrazione dei risultati del monitoraggio del benessere animale e della qualità dell'acqua nel registro di produzione.

Tuttavia gli indicatori diretti e indiretti sono richiamati senza prescrizioni specifiche e la valutazione dello stato di benessere delle specie allevate rimane soggettiva e lasciata in carico alla figura del certificatore. Inoltre il decreto nazionale non contiene un richiamo specifico al Piano sanitario come previsto dal Regolamento 710/2009 (Sez. 7 art.25). Il "piano della gestione della salute" è inserito genericamente nel Piano di gestione sostenibile dell'azienda (art 6 ter, paragrafo 4 Reg. (CE) 710/2009).

## 5. QUALE CERTIFICAZIONE DEL BENESSERE ANIMALE?

Il Piano d'azione comunitario per la protezione e il benessere degli animali (2006-2010) ha identificato come obiettivo prioritario nella agenda della politica europea il miglioramento della comunicazione ai consumatori, per facilitare l'identificazione e la scelta di prodotti con elevati standard di benessere animale e per fornire un incentivo economico ai produttori per migliorare il benessere animale.

Risulta infatti (Eurobarometer, 2007; Welfare quality 2004-2009; FCEC, 2009; European Animal Welfare Platform EAWP, 2009) che una percentua-

le significativa dei consumatori europei ha interesse a essere informato non solo sulla qualità fisica dei prodotti alimentari, ma anche su altri attributi di qualità, tra cui i fattori etici relativi alla produzione e sul benessere animale. Questo segmento di consumatori può generare opportunità di mercato per produzioni che hanno caratteristiche più elevate rispetto alla media, come nel caso delle produzioni biologiche.

Dal punto di vista del consumatore, tuttavia, il benessere animale è un vero e proprio attributo di fiducia, in quanto non misurabile e non verificabile dal consumatore stesso. Le indagini condotte rilevano una mancanza di informazione e di trasparenza nel mercato che non facilita la penetrazione dei prodotti. La certificazione del benessere animale può raggiungere gli effetti desiderati se i) i consumatori sono bene informati sul significato dell'etichetta; ii) le informazioni sono comprensibili; iii) se i consumatori sono interessati. L'etichettatura di produzioni garantite per il benessere animale, dovrà quindi esser basata su dati scientifici certi e valutazioni oggettive su requisiti armonizzati. Solo così può consentire quindi ai consumatori scelte informate e aprire ai produttori nuove opportunità di mercato (COM (2009)584).

Diverse sono state le opzioni di certificazione prese in considerazione per promuovere il benessere nelle filiere di produzioni europee. Tra questi, i sistemi di etichettatura obbligatori, a diversi livelli di standard, i sistemi volontari e, tra le altre opzioni, una "etichetta europea" sul benessere animale. Un sistema di etichettatura del benessere animale ricade tra sistemi di certificazione "*business to consumer*", ovvero i sistemi finalizzati alla segmentazione del mercato attraverso la differenziazione del prodotto (Defrancesco e Silvestri, 2009). Sono sistemi orientati all'eccellenza del prodotto, e come tali, mirano a certificare attributi qualitativi superiori e in genere più restrittivi di quelli previsti dalle normative. Il loro successo sul mercato non dipende tuttavia solo dal livello di severità dello standard, ma anche dalla capacità di penetrazione sul mercato (CCIF-Conservation and Community Investment Forum, 2002). La condizione ideale è quella indicata in figura 2 come "Holy Grail" in cui vengono raggiunti elevati standard e massima penetrazione sul mercato. Questa condizione è molto difficile da raggiungere. Le strategie di commercializzazione e gli studi di fattibilità concludono che, nella maggior parte dei casi, l'evoluzione inizia da politiche di penetrazione di mercato seguita dal miglioramento step-by-step degli standard, piuttosto che dalla promozione di certificazione con "Gold Standard". Anche lo studio di fattibilità del FCEC (2009) conclude sull'opportunità di privilegiare gli schemi di certificazione volontari che dovranno comunque garantire standard di

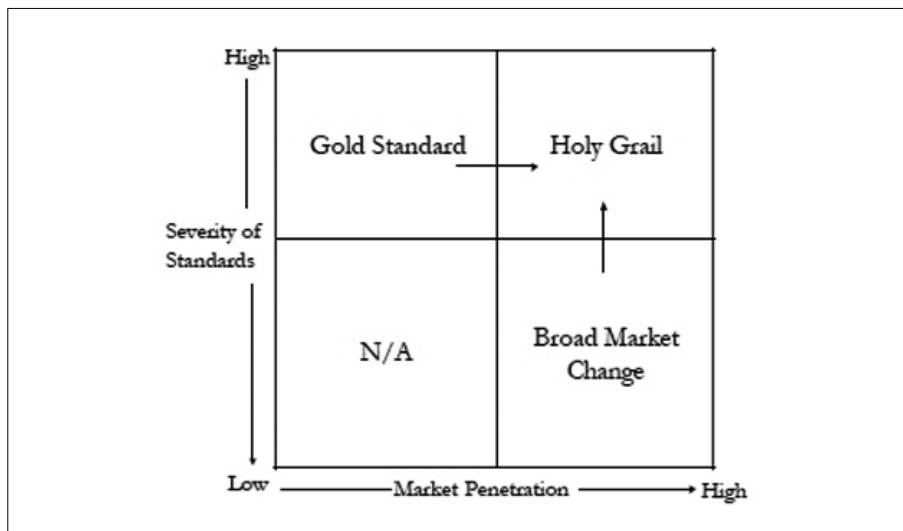


Fig. 2 Il successo degli schemi di certificazione (CCIF, 2002)

benessere elevati. Gli schemi di certificazione obbligatori, oltre che non consentiti secondo la normativa OMS, richiederebbero l'elaborazione di standard europei specifici per le diverse specie e i diversi prodotti, al momento non disponibili.

Sia che si considerino schemi volontari o obbligatori, una delle principali esigenze della Comunità Europea è di disporre di uno strumento scientifico di misura del benessere animale, basato su indicatori obiettivi, in modo da definire i relativi standard applicabili nelle filiere di produzione e comunicare più facilmente al consumatore il livello di benessere nella produzione dei beni che acquista. Lo sviluppo di un sistema globale di valutazione del benessere per gli animali da reddito è stato avviato attraverso la realizzazione di una rete internazionale di ricercatori e istituti (progetto integrato Welfare Quality) impegnati su diverse specie, quali bovini da latte e da carne, suini, galline ovaiole e polli da carne. Il progetto, ancora in fase di attuazione, ha evidenziato la necessità di disporre di un sistema di valutazione europeo del benessere animale in allevamento basato sul rilievo di parametri "sugli animali". Gli indicatori da rilevare sugli animali sono stati scelti per rispondere ai requisiti di validità (in termini di indicatori del benessere animale), di reperibilità (entro l'osservatore), di riproducibilità (tra gli osservatori) e di applicabilità (in termini economici e di tempo), e standardizzati dal punto di vista scientifico tanto da poter essere inseriti in schede di valutazione del benessere a livello aziendale. Alcuni parametri comportamentali e sanitari, da sempre ritenuti

indicatori precoci e importanti del livello di benessere, dopo una fase di sperimentazione, sono ora in fase di standardizzazione anche nelle aziende con il coinvolgimento degli allevatori europei.

Le specie acquatiche non sono state inserite tra quelle oggetto di studio nel progetto “Welfare Quality”. La ricerca di indicatori obiettivi di benessere nelle specie acquatiche d'allevamento è partita in ritardo rispetto ad altre specie da reddito e richiede percorsi di realizzazione più lunghi, per le caratteristiche delle specie, per la numerosità e per la varietà dei sistemi d'allevamento. Sono pochi gli indicatori di benessere ai quali si riconosce una capacità predittiva e nessuno di questi è stato testato e standardizzato nei diversi sistemi di produzione e per le diverse specie. La mancanza di conoscenze su molti aspetti del benessere dei pesci è stata rilevata dall'EFSA, che ha identificato nella neurobiologia e nella fisiologia dello stress le aree verso cui indirizzare la ricerca (EFSA, 2009i). Comprendere meglio la questione dell'essere animali senzienti, di provare paura in risposta allo stress e di come quantificare le loro risposte, costituisce un prerequisito essenziale per valutare lo stato di benessere e i fattori che lo influenzano.

## 6. CONCLUSIONI

L'allevamento Europeo è noto per i suoi elevati standard di benessere animale. Il benessere degli animali da reddito è diventato un importante requisito nella moderna gestione degli allevamenti zootecnici e il rispetto delle direttive relative al benessere e allo stato di salute degli animali è uno dei criteri di gestione obbligatori per poter beneficiare degli aiuti previsti dalla Politica Agricola Comunitaria (Reg. CE 1782/03; Reg CE 1698/2005).

L'acquacoltura è un passo indietro. La legislazione europea non prevede ancora norme minime e prescrizioni per la protezione delle specie acquatiche d'allevamento e sono ancora in fase di messa punto metodi di valutazione per qualificare le produzioni d'acquacoltura attraverso l'aspetto del benessere animale. La recente diffusione di certificazioni per le forme di acquacoltura sostenibile può rappresentare un'occasione per promuovere la protezione del benessere animale in acquacoltura. I Codici di condotta delle Associazioni di produttori (FEAP, API) e il nuovo Regolamento CE 710/2009 per l'acquacoltura biologica hanno aperto un nuovo percorso di qualità per le produzioni acquatiche, nell'ambito del quale il benessere animale, insieme ai temi di tutela dell'ambiente e conservazione delle risorse, può offrire nuove opportunità economiche ai produttori e rispondere all'interesse dei consumatori in una moderna dimensione etica e culturale.

## RINGRAZIAMENTI

Questo studio è stato realizzato nell'ambito del progetto di ricerca Azione concertata per l'identificazione di contributi scientifici per lo sviluppo dell'acquacoltura biologica in Italia. Sottoprogetto: "Sviluppo di standard per il benessere animale in schemi di certificazione d'acquacoltura biologica" finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali nell'ambito del Primo Programma Nazionale per la Pesca e l'Acquacoltura.

## RIASSUNTO

Il benessere dei pesci è considerato un aspetto fondamentale per la certificazione in acquacoltura. Questo contributo fornisce una sintesi sul benessere animale delle specie acquatiche allevate, esaminando gli approcci di valutazione, gli indicatori (diretti e indiretti), i fattori di rischio, e gli schemi di certificazione esistenti. Attraverso la lettura del Reg. CE 710/2009 sull'acquacoltura biologica vengono evidenziati gli aspetti di benessere animale che la ricerca può contribuire a definire meglio.

## ABSTRACT

Fish welfare represents a key factor for aquaculture certification. This paper provides an overview on welfare of farmed fish, analyzing different approaches for welfare evaluation, welfare indicators, risk factors, standard and certification schemes. The new Regulation for organic aquaculture (CE 710/2009) is examined with regard to fish welfare, highlighting those aspects that need further investigation.

## BIBLIOGRAFIA

- APPLEBY M.C. AND HUGHES B.O. (Editors) (1997): *Animal welfare*, Cab International, Cambridge.
- BERGLEITER S., BERNER N., CENSKOWSKY U., CAMPRODON J. (2009): *Organic Aquaculture 2009. Production and Markets*, Naturland e.V. and Organic Services GmbH, pp. 120.
- BLOOD D.C., STUDDERT V.P. (2000): *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary*, 2<sup>nd</sup> Ed. WB Saunders, London.
- BROOM D.M. (1991): *Animal welfare: concepts and measurement*, «J. Anim. Sci.», 69, pp. 4167-4175.
- CANALI E. (2008): *Il concetto di benessere nelle produzioni animali e criteri di valutazione*, «Quaderno SOZOOALP», 5, pp. 9-17.

- CAP (2010): *The Common Agricultural Policy after 2013*, Public debate. Brussels, 19-20 July 2010. Summary Report. Ed. by European Commission, Agriculture and Rural Development. 37 pp. [http://ec.europa.eu/agriculture/cap-post-2013/debate/report/summary-report\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/cap-post-2013/debate/report/summary-report_en.pdf)
- CCIF (2002): *Analysis of the Status of Current Certification Schemes In Promoting Conservation*, Conservation and Community Investment Forum, January 2002, 36 pp.
- COM (2002) 511 definitivo (2002): *Comunicazione della Commissione al Consiglio e al Parlamento Europeo. Una strategia per lo sviluppo sostenibile dell'acquacoltura Europea*. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=com:2002:0511:fin:it:pdf>
- COM (2005) 297 definitivo (2005): *Proposta di Decisione del Consiglio relativa alla posizione della Comunità su una proposta di raccomandazione riguardante i pesci d'allevamento da adottare nel corso della 47ª riunione del comitato permanente della Convenzione Europea sulla protezione degli animali negli allevamenti (Strasburgo, novembre 2005)*. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=com:2005:0297:fin:it:pdf>
- COM (2006) 13 definitivo (2006): *Comunicazione della Commissione al Parlamento Europeo e al Consiglio su un programma d'azione comunitario per la protezione ed il benessere degli animali 2006-2010*. [http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/com\\_action\\_plan230106\\_it.pdf](http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/com_action_plan230106_it.pdf)
- COM (2009) 162 definitivo (2009): *Comunicazione della Commissione al Parlamento Europeo e al Consiglio. Costruire un futuro sostenibile per l'acquacoltura. Un nuovo impulso alla strategia per lo sviluppo sostenibile dell'acquacoltura europea*. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=com:2009:0162:fin:it:pdf>
- COM (2009) 584 definitivo (2009): *Relazione della Commissione al Consiglio, al Parlamento Europeo, al Comitato Economico e Sociale Europeo e al Comitato delle Regioni concernente le opzioni di etichettatura relativa al benessere animale e l'istituzione di una rete europea di centri di riferimento per la protezione e il benessere degli animali*. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=com:2009:0584:fin:it:pdf>
- CONSENSUS (2008): *Towards Sustainable Aquaculture in Europe*. [www.euraquaculture.info/](http://www.euraquaculture.info/)
- DEFRANCESCO E., SILVESTRI S. (2009): *Qualità dei prodotti ittici e sistemi di certificazione*, «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili», Serie VIII, Vol. 4, tomo II, 2007, pp. 513-515.
- DUNCAN I.J.H., FRASER D. (1997): *Understanding Animal Welfare*, in *Animal Welfare*, Appleby M.C. and Hughes B.O., eds., CAB International, Wallingford, Oxon, pp. 19-47.
- EFSA (2008a): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed Atlantic salmon*, «The EFSA Journal», 736, pp. 1-31.
- EFSA (2008b): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed trout*, «The EFSA Journal», 796, pp. 1-22.
- EFSA (2008c): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed European eel*, «The EFSA Journal», 809, pp. 1-17.
- EFSA (2008d): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed common carp*, «The EFSA Journal», 843, pp. 1-28.

- EFSA (2008e): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed European seabass and gilthead seabream*, «The EFSA Journal», 844, pp. 1-89.
- EFSA (2009a): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from European Commission on General approach to fish welfare and to the concept of sentience in fish*, «The EFSA Journal», 954, pp. 1-26.
- EFSA (2009b): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on welfare aspect of the main systems of stunning and killing of farmed seabass and seabream*, «The EFSA Journal», 1010, pp. 1-52.
- EFSA (2009c): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on welfare aspect of the main systems of stunning and killing of farmed Atlantic salmon*, «The EFSA Journal», 1012, pp. 1-77.
- EFSA (2009d): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed carp*, «The EFSA Journal», 1013, pp. 1-37.
- EFSA (2009e): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed rainbow trout*, «The EFSA Journal», 1013, pp. 1-55.
- EFSA (2009f): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on welfare aspect of the main systems of stunning and killing of farmed eel (Anguilla anguilla)*, «The EFSA Journal», 1014, pp. 1-42.
- EFSA (2009g): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on the species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed tuna*, «The EFSA Journal», 1072, pp. 1-53.
- EFSA (2009h): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed turbot*, «The EFSA Journal», 1073, pp. 1-34.
- EFSA (2009i): *Statement of the Animal Health and Welfare Panel (AHAW). Knowledge gaps and research needs for the welfare of farmed fish*, «The EFSA Journal», 1145, pp. 1-9.
- EUPAW (2009): *Evaluation of the EU Policy on Animal Welfare*. [www.eupaw.eu](http://www.eupaw.eu)
- EAWP (2009): EUROPEAN ANIMAL WELFARE PLATFORM. <http://www.animalwelfareplatform.eu/>
- EUROBAROMETER (2007): *Attitudes of consumers towards the welfare of farmed animals*, «Special Eurobarometer», 229 (2), Wave 64.4 – TNS Opinion & Social, 26 pp.
- FAO (2009): *Technical guidelines on aquaculture certification*, Committee on Fisheries Sub-Committee on aquaculture, Fourth session, Puerto Varas, Chile, 6-10 October 2008, First Revision July 2009, [www.fao.org/docrep/meeting/018/ak810e.pdf](http://www.fao.org/docrep/meeting/018/ak810e.pdf).
- FAO (2008): *Forum on Good Animal Welfare Practices*, Rome, Italy, 29 September 2008.
- FAO (2010): *Definitions on aquaculture certification*, Technical consultation on the technical guidelines on aquaculture certification, Rome, Italy, 15-19 February 2010. [www.fao.org/docrep/meeting/018/ak810e.pdf](http://www.fao.org/docrep/meeting/018/ak810e.pdf)
- FAO (2010): *Revised draft technical guidelines on aquaculture certification*, Technical consultation on the guidelines on aquaculture certification Rome, Italy, 15-19 February 2010.
- FAWC (1993): *Report on Priorities of Animal Welfare Research and Development*, MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) Farm Animal Welfare Council, Surbiton UK, 26 pp.
- FAWC (1996): *Report on the Welfare of Farmed Fish*, MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) Farm Animal Welfare Council, Surbiton UK, 52 pp.

- FCEC (2009): *Feasibility study on animal welfare labelling and establishing a Community Reference Centre for Animal Protection and Welfare*, Part 1. *Animal Welfare Labelling*. Final Report. DG SANCO Evaluation Framework Contract Lot 3 (Food Chain). Submitted by Food Chain Evaluation Consortium. pp. 143.
- HÅSTEIN T., SCARFE A.D., LUND V.L. (2005): *Science-based assessment of welfare: aquatic animals*, «Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.», 24, pp. 529-547.
- HUGHES B.O. (1976): *Behaviour as an index of welfare*, Proc. V. Europ. Poultry Conference Malta, pp. 1005-1018.
- HUNTINGFORD F.A. AND KADRI. S. (2008): *Welfare and Fish*, in *Fish welfare*, Branson E.J. Ed. Blackwell Publishing, pp.19-31.
- HUNTINGFORD F.A., ADAMS C., BRAITHWAITE V.A., KADRI S., POTTINGER T.G., SANDOEE P., TURNBULL J.F. (2006): *Review Paper: Current issues in fish welfare*, «Journal of Fish Biology», 68, pp. 332-372.
- IFOAM-EU GROUP. (2009): *Acquacoltura Biologica. Regolamenti (CE) 834/2007, (CE) 889/2008, (CE) 710/2009 Storia, Valutazione, Interpretazione*. [www.ifoameu.org/positions/publications/aquaculture/](http://www.ifoameu.org/positions/publications/aquaculture/)
- IUCN (2009): *Guide for the Sustainable Development of Mediterranean Aquaculture 3. Aquaculture Responsible Practices and Certification*, Gland, Switzerland and Malaga, Spain: IUCN. VI+70 pp.
- JOHNSEN P.F., JOHANNESSON T. AND SANDØE P. (2001): *Assessment of Farm Animal Welfare at Herd Level: Many Goals, Many Methods*, «Acta. Agric. Scand. Sect. A. Animal Sci.», 30, pp. 26-33.
- MARINO G. e collaboratori (2003): *Parametri chimico-clinici e di immunità aspecifica nella spigola dicentrarchus labrax come indicatori di benessere animale in allevamento intensivo*, Relazione finale Progetto MiPAF 5C68, 5° Piano Triennale della Pesca e dell'Acquacoltura.
- MARINO G. e collaboratori (2005): *Valutazione e miglioramento dello stato di benessere e salute della spigola di allevamento, individuazione e messa a punto di indicatori*, Relazione finale Progetto MiPAAF 6C60, 6° Piano Triennale della Pesca e dell'Acquacoltura.
- MARINO G. e collaboratori (2007): *Relazione finale Progetto Europeo "WEALTH" Welfare and Health in Sustainable Aquaculture*. 6th EU Framework Program. Contract n. 501984.
- MARINO G. e collaboratori (2008): *Maricoltura in gabbia: validazione dei protocolli sperimentali per lo studio e la minimizzazione dell'impatto ambientale*, Relazione finale Progetto EU-POR Regione Puglia 2000/2006. SFOP Asse IV Misura 4.1.3. Regolamento CEE n. 2792/99 art. 17.
- MARINO G. e collaboratori (2009): *Validazione di indicatori di benessere in spigola (Dicentrarchus labrax) ed orata (Sparus aurata) per modelli innovativi di qualità in acquacoltura*, Relazione finale Progetto MiPAAF 6C152, 6° Piano Triennale Pesca e Acquacoltura.
- MARINO G. e collaboratori (2010): *Relazione finale Progetto Europeo "SEACASE" Sustainable extensive and semi-intensive coastal aquaculture in Southern Europe*. 6th EU Framework Program. Contract n. 044483.
- OIE (2008): *2nd Global Conference on Animal Welfare*, Cairo, Egypt, 20-22 October 2008.
- OIE (2010): *Aquatic Animal Health Code 2010*, [www.oie.int/eng/normes/fcode/en\\_sommaire.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fcode/en_sommaire.htm)

REGOLAMENTO (CE) n. 1782/2003 del Consiglio, che stabilisce norme comuni relative ai regimi di sostegno diretto nell'ambito della politica agricola comune e istituisce taluni regimi di sostegno a favore degli agricoltori e che modifica i regolamenti (CEE) n. 2019/93, (CE) n. 1452/2001, (CE) n. 1453/2001, (CE) n. 1454/2001, (CE) n. 1868/94, (CE) n. 1251/1999, (CE) n. 1254/1999, (CE) n. 1673/2000, (CEE) n. 2358/71 e (CE) n. 2529/2001. "Gazzetta ufficiale dell'Unione europea", L 270/1

REGOLAMENTO (CE) n. 710/2009 della Commissione, che modifica il regolamento (CE) n. 889/2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio per quanto riguarda l'introduzione di modalità di applicazione relative alla produzione di animali e di alghe marine dell'acquacoltura biologica. "Gazzetta ufficiale dell'Unione europea", L 204/15.

RSPCA (2007): RSPCA Welfare standard for Atlantic salmon. pp. 64.

TACON A.G.J. AND BRISTER, D.J. (2002): *IFOAM drafts basic standards for organic aquaculture production*, «Aquatic Feeds and Nutrition: The Global Aquaculture Advocate», 5, pp. 21-22.

T-AP (2005): Standing Committee of the European convention for the protection of animals kept for farming purposes. Recommendation concerning farmed fish

WELFARE QUALITY®: Science and society improving animal welfare in the food quality chain. EU funded project FOOD-CT-2004-506508. <http://www.welfarequality.net/everyone>

WWF (2007): *Benchmarking Study Certification Programmes for Aquaculture*. World Wildlife Fund (WWF) Switzerland and Norway Zurich and Oslo 2007.

MARCO GALEOTTI\*, CHIARA BULFON\*, DONATELLA VOLPATTI\*,  
EMILIO TIBALDI\*, JOSÉ MALVISI\*\*

## Fitoterapici: prospettive di utilizzo in acquacoltura

### I. INTRODUZIONE

L'acquacoltura mondiale ha vissuto nel corso degli anni un crescente sviluppo in termini produttivi, ma anche sotto l'aspetto qualitativo e di sicurezza del prodotto. In Europa le disposizioni legislative che regolano l'uso di farmaci o disinfettanti in acquacoltura (Normativa italiana: D.L. n. 119 del 1992, n. 47 del 1997, n. 336 del 1999, n. 71 del 2003; Normativa comunitaria: Regolamenti CE n. 1804/1999, n. 37/2000, n. 82/2001, n. 178/2002, n. 74/2003, n. 28/2004, n. 726/2004, n. 834/2007) sono molto severe, e il numero di medicinali registrati per la profilassi o la terapia, consentiti nei Paesi UE, è piuttosto esiguo. Questo perché sono state definite nuove linee guida allo scopo di limitare l'eccessivo impiego di antibiotici, che favoriscono la selezione di ceppi batterici antibiotico-resistenti, e altri farmaci potenzialmente pericolosi per l'ambiente e per il consumatore. Inoltre il regolamento comunitario rende difficoltosi ed economicamente non convenienti per le aziende farmaceutiche lo sviluppo e la registrazione di medicinali per un mercato di piccole dimensioni quale quello dell'acquacoltura. Questo a differenza di altre aree geografiche, quali ad esempio il sud-est asiatico, nelle quali l'acquacoltura ha conosciuto un enorme sviluppo e dispone, anche in virtù di regolamentazioni meno rigorose, di un maggior numero di farmaci, alcuni dei quali proibiti nella UE. Questi, tuttavia, possono essere presenti come residui nei prodotti di origine ittica e ciò limita la loro importazione nei Paesi UE (Rodgers, 2009).

\* *Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Udine*

\*\* *Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Perugia*

Parallelamente sono stati sviluppati nuovi vaccini per ridurre la diffusione delle malattie virali e batteriche, ma la produzione di formulazioni efficaci è spesso associata a problematiche dovute all'eterogeneità antigenica dei ceppi microbici utilizzati e al costo del prodotto (Le Breton, 2009; Toranzo et al., 2009).

Alla luce delle problematiche e dei limiti descritti, negli ultimi anni è cresciuto l'interesse verso lo sviluppo di strategie alternative per il controllo delle malattie, capaci di potenziare la risposta immunitaria e la resistenza ai patogeni delle specie ittiche allevate. Gli immunostimolanti (probiotici, carboidrati complessi, derivati di sintesi, prodotti ottenuti da piante o alghe, sostanze di origine animale, fattori nutrizionali, ormoni e citochine) sono in grado di promuovere la crescita dei pesci e di stimolare diversi meccanismi di difesa aspecifica, come la funzionalità dei fagociti, l'attività del lisozima e del complemento, e specifica, come la produzione di immunoglobuline (Anderson, 1992; Galeotti, 1998; Sakai, 1999). Tuttavia l'impiego di ormoni, vitamine e altri prodotti chimici spesso non viene raccomandato perché possono avere effetti collaterali e costituiscono residui potenzialmente pericolosi per il consumatore. Le piante, invece, rappresentano un'alternativa ottimale ai farmaci tradizionali, in quanto sono ricche di principi attivi e allo stesso tempo sono facilmente reperibili in commercio, poco costose e biocompatibili.

Il loro utilizzo permetterebbe di ridurre il ricorso a interventi chemioterapici, evitando i problemi di impatto ambientale e i rischi per la salute pubblica (Mohamad e Abasali, 2010).

Il presente documento intende fornire un quadro generale delle recenti ricerche concernenti l'utilizzo di fitoterapici in acquacoltura e riassumere le attuali conoscenze riguardo all'effetto della loro somministrazione nelle specie ittiche.

## 2. STATO DELL'ARTE DELLE SPERIMENTAZIONI CON FITOTERAPICI IN ACQUACOLTURA

### 2.1 *Ricerche effettuate*

Negli ultimi quindici anni si è assistito a un crescente interesse dei ricercatori di tutto il mondo verso l'impiego dei fitoterapici in acquacoltura (Jeney et al., 2009). Infatti, in letteratura sono disponibili 83 pubblicazioni scientifiche, nelle quali vengono descritti gli effetti della somministrazione di erbe medicinali nei pesci: 3 lavori sono stati pubblicati dal 1995 al 2000, 19 nel periodo

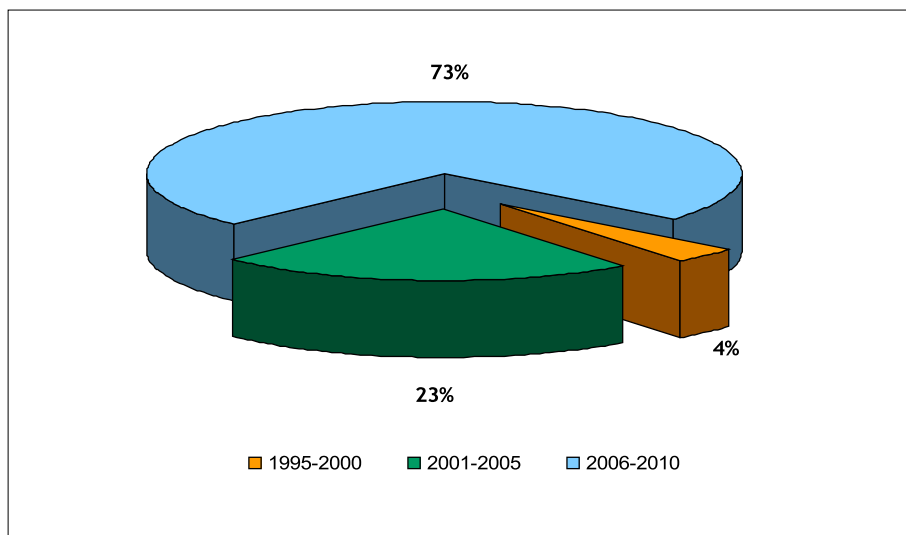


Fig. 1 Distribuzione della letteratura consultata negli anni 1995-2010

compreso tra gli anni 2001 e 2005 mentre la maggior parte (61) tra gli anni 2006 e 2010 (fig. 1).

Gli studi dei ricercatori comprendono saggi *in vitro* (fig. 2) in cui è stata valutata l'attività antibatterica di alghe e piante nei confronti di batteri patogeni per i pesci, tra cui alcuni di forte interesse per l'acquacoltura nazionale, come *V. anguillarum*, *L. garvieae*, *P. damselae*, *Y. ruckeri* (Abutbul et al., 2004; Abutbul et al., 2005; Muniruzzaman e Chowdhury, 2004; Sivaram et al., 2004; Choudhury et al., 2005; Harikrishnan e Balasundaram, 2005; Bansemir et al., 2006; Bhuvaneswari e Balasundaram, 2006; Palavesam et al., 2006; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2007; Tal et al., 2007; Castro et al., 2008; Dubber e Harder, 2008; Harikrishnan e Balasundaram, 2008; Pachanawan et al., 2008; Punitha et al., 2008; Rajendiran, 2008; Wei et al., 2008; Immanuel et al., 2009; Kolanjinathan et al., 2009; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2009a; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2009b; Turker et al., 2009a; Turker et al., 2009b; Mohamad e Abasali, 2010; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010a; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010b).

Nella maggior parte dei casi però la sperimentazione ha previsto prove *in vivo* (fig. 2) in cui è stato indagato e dimostrato l'effetto di fitoterapici sulle performances di crescita, sulla risposta immunitaria e su parametri ematologici di varie specie ittiche, nonché la loro capacità di aumentare la resistenza dei pesci alle malattie (mediante infezione sperimentale con batteri, virus e

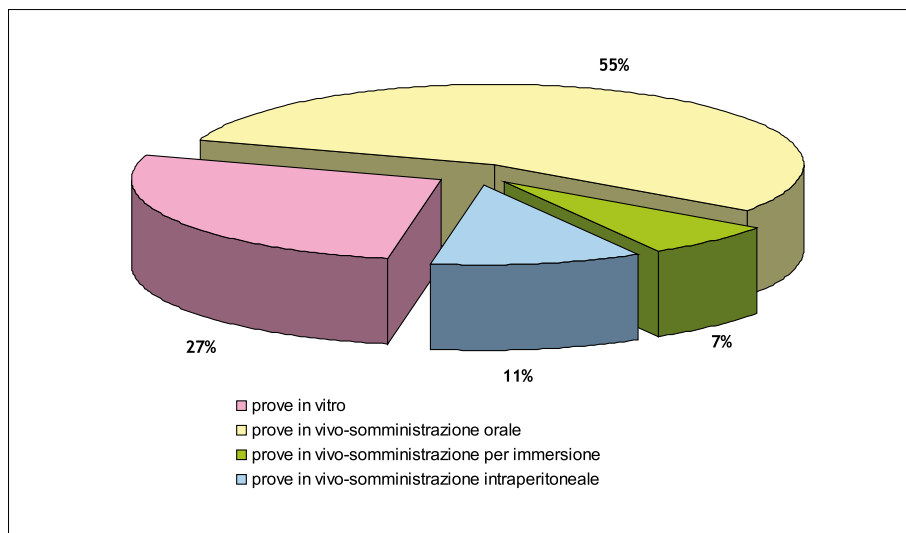


Fig. 2 Percentuale di prove in vitro e in vivo condotte nelle specie ittiche

parassiti). In queste indagini gli oli essenziali o gli estratti vegetali sono stati prevalentemente integrati nella dieta (a diverse dosi) e somministrati per un periodo variabile da 1 a 12 settimane (Ducan e Klesius, 1996; Kim et al., 1999; Düğenci et al., 2003; Jian e Wu, 2003; Rodriguez et al., 2004; Sivaram et al., 2004; Vasudeva Rao et al., 2004; Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2004; Karagouni et al., 2005; Shalaby et al., 2005; Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2005a; Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2005b; Vasudeva Rao et al., 2006; Yin et al., 2006; Christyapita et al., 2007; Ji et al., 2007; Ndong e Fall, 2007; Sahu et al., 2007a; Sahu et al., 2007b; Tal et al., 2007; Wu et al., 2007; Ardó et al., 2008; Choi et al., 2008; Goda, 2008; Punitha et al., 2008; Sahu et al., 2008; Xie et al., 2008; Alishahi et al., 2009; Bitchava et al., 2009; Harikrishnan et al., 2009a; Harikrishnan et al., 2009c; Immanuel et al., 2009; Nya e Austin, 2009a; Nya e Austin, 2009b; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2009b; Yiagnis et al., 2009; Yin et al., 2009; Zhang et al., 2009; Zheng et al., 2009; Award e Austin, 2010; Bilen e Bulut, 2010; Harikrishnan et al., 2010a; Kirubakaran et al., 2010; Mohamad e Abasali, 2010; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010a; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010c; Sharma et al., 2010; Soltani et al., 2010). In altri casi la somministrazione è avvenuta tramite intubazione orale (Watanuki et al., 2006), iniezione intramuscolare (Harikrishnan et al., 2009c) o intraperitoneale (Logambal et al., 2000; Sudhakaran et al., 2006; Divyagnaneswari et

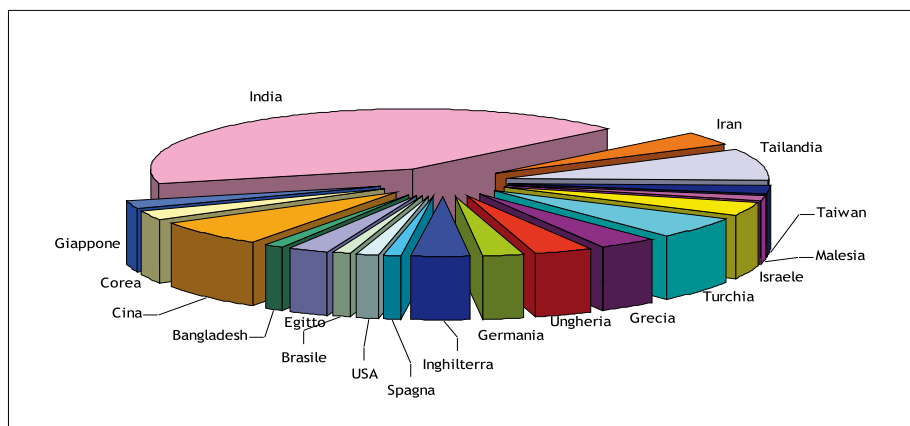


Fig. 3 Paesi in cui sono stati effettuate le prove sperimentali

al., 2007; Divyagnaneswari et al., 2008; Uluköy et al., 2007; Harikrishnan et al., 2009b; Harikrishnan et al., 2009c; Alexander et al., 2010; Harikrishnan et al., 2010b; Harikrishnan et al., 2010c; Wu et al., 2010), immersione (Harikrishnan et al., 2003; Harikrishnan et al., 2005; Harikrishnan e Balasundaram, 2008; Harikrishnan et al., 2009b; Harikrishnan et al., 2009c; Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010b).

La maggior parte delle prove sperimentali è stata condotta in India (34) o altri Paesi orientali (7 in Tailandia, 6 in Cina, 3 in Israele e Iran, 2 in Corea, Giappone e Taiwan, 1 in Bangladesh e Malesia) mentre poche sperimentazioni sono state effettuate in Europa (5 in Turchia, 3 in Grecia, Inghilterra e Ungheria, 2 in Germania e 1 in Spagna), in Egitto (2), in USA e Brasile (1) (fig. 2).

Ciò dipende dal fatto che nei Paesi asiatici le piante vengono talvolta impiegate in acquacoltura nel controllo delle malattie (Direkbusarakom, 2004), analogamente a quanto accade nella medicina popolare tradizionale, che utilizza preparazioni a base di erbe per la cura di vari disturbi dell'uomo e degli animali (Capasso et al., 2006).

In Europa la fitoterapia viene utilizzata prevalentemente in medicina umana mentre nell'ambito della medicina veterinaria solamente negli ultimi anni si è assistito a un crescente ricorso a tale pratica (Scozzoli, 2004). Nel settore ittico l'uso di fitoterapici è molto limitato e solo recentemente è stato definito un quadro normativo generale per il settore dell'acquacoltura biologica (regolamenti CE n° 834/2007, n° 889/2008 e n° 710/2009), che prevede l'utilizzo di piante o sostanze di origine vegetale in acquacoltura.

## 2.2 Specie vegetali utilizzate

Tra le essenze studiate ci sono soprattutto quelle ottenute da piante utilizzate nella medicina popolare cinese o indiana per le loro proprietà antibatteriche, antiparassitarie e immunostimolanti, come *Achyranthes aspera*, *Astragalus membranaceus*, *Azadirachta indica*, *Angelica sinensis*, *Cynodon dactylon*, *Whitania somnifera*. In altri casi sono state studiate piante aromatiche che comunemente vengono utilizzate in cucina o per scopo terapeutico: aglio (*Allium sativum*), curcuma (*Curcuma longa*), basilico (*Ocimum sanctum*), origano (*Origanum vulgare*), rosmarino (*Rosmarinus officinalis*), zenzero (*Zingiber officinale*).

Nella maggior parte delle prove sono stati utilizzati estratti ottenuti mediante processi di estrazione con solventi acquosi o alcolici (es. esano, etanolo, metanolo), in alcuni casi la dieta è stata integrata aggiungendo al mangime parti della pianta (semi, bulbi, foglie). Sono state saggiate erbe singole o miscele costituite da più specie vegetali (tab. 1).

## 2.3 Specie ittiche oggetto di ricerca

Per quanto riguarda le specie ittiche oggetto di sperimentazione, si tratta prevalentemente di quelle allevate nei Paesi asiatici, dove si concentra la maggior parte delle ricerche. Il 32% dei lavori, infatti, sono stati condotti in tilapia (*Oreochromis mossambicus* e *Oreochromis niloticus*), il 30% in carpa (*Cyprinus carpio*, *Labeo rohita*, *Catla catla*), alcuni in altre specie orientali (*Anguilla japonica*, *Epinephelus tauvina*, *Myxocyprinus asiaticus*, *Pseudosciaena crocea*, *Sebastes schlegelii*). Tra le specie di interesse per l'acquacoltura italiana e mediterranea, è stato studiato l'effetto di varie piante in trota iridea (*Onchorhynchus mykiss*).

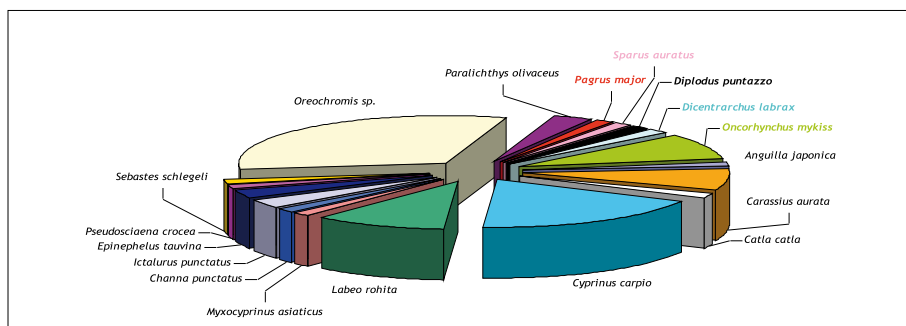


Fig. 4 Specie ittiche oggetto delle prove sperimentali

*chus mykiss*), mentre poche sono le sperimentazioni condotte in pesce gatto (*Ictalurus punctatus*), branzino (*Dicentrarchus labrax*), orata (*Sparus aurata*), sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*) e pagro (*Pagrus major*) (fig. 4).

#### 2.4 Effetto di specie vegetali su accrescimento, risposta immunitaria e profilo ematologico delle specie ittiche

I dati presenti in letteratura dimostrano che alcune specie vegetali sono in grado di promuovere la *crescita dei pesci* quando vengono integrate nella dieta, analogamente ad altri additivi alimentari che comunemente vengono impiegati in acquacoltura, come probiotici, lievito, aminoacidi, antiossidanti, betaine, carnitine, coloranti, enzimi, derivati lipidici, nutraceutici, vitamine, ormoni, composti aromatici, acidi/sali organici (Goda et al., 2008). I risultati delle ricerche, infatti, indicano che diverse erbe o piante medicinali sono capaci di migliorare le performances di numerose specie ittiche (final body weight FBW, specific growth rate SGR, feed conversion ratio FCR, protein efficiency ratio PER, protein productive value PPV, fat retention FR, energy retention ER) (Sivaram et al., 2004; Shalaby et al., 2006; Vasudeva Rao et al., 2006; Ji et al., 2007; Goda, 2008; Punitha et al., 2008; Sahu et al., 2008; Xie et al., 2008; Immanuel et al., 2009; Nya e Austin, 2009a; Nya e Austin, 2009b; Zheng et al., 2009).

La somministrazione di fitoterapici nei pesci può avere un effetto positivo sulla risposta immunitaria e indurre una modulazione del profilo ematologico migliorando lo stato di salute, sebbene l'azione di una specifica pianta vari in base alla specie ittica considerata. La tabella 1 riassume tutti gli effetti osservati dopo la somministrazione di specie vegetali nelle specie ittiche. Essa riporta la specie vegetale utilizzata, le specie ittiche sulle quali sono state condotte le analisi, le condizioni dei pesci al momento della valutazione (soggetti sani, sottoposti a infezione sperimentale o vaccinazione), la modalità di somministrazione (dieta, intubazione orale, immersione, iniezione intraperitoneale, iniezione intramuscolare), la dose somministrata e l'effetto del trattamento sui parametri immunitari ed ematologici/ematochimici.

La maggior parte delle specie vegetali studiate stimola la *risposta innata o non-specifica* dei pesci, analogamente ad altre sostanze immunostimolanti, potenziando meccanismi di difesa umorali o cellulari (Galindo-Villegas e Hosokawa, 2004) interagendo direttamente con specifici recettori e attivando l'espressione dei geni che codificano per le molecole antimicrobiche o che mediano le risposte microbicide delle cellule immunitarie (Bricknell e Dalmo, 2005; Magnadottir, 2010). I dati presenti in letteratura, infatti, dimo-

strano che diverse specie vegetali sono capaci di modulare positivamente l'attività del complemento, del lisozima e delle antiproteasi ( $\alpha 2$ -macroglobulina e  $\alpha 1$ -antiproteasi), che intervengono nella difesa primaria contro i patogeni. Inoltre la somministrazione di piante nei pesci stimola neutrofili, eosinofili e macrofagi, aumentando la loro attività fagocitaria e microbica (produzione di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto, di mieloperossidasi). È stato anche osservato un effetto modulante le cellule dotate di attività citotossica non-specifica (NCC) e l'espressione delle citochine IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF- $\alpha$ .

Le piante possono influenzare anche la *risposta immunitaria adattativa o specifica* delle specie ittiche, ma in misura minore. Gli studi indicano che la somministrazione di estratti vegetali promuove la sintesi di immunoglobuline specifiche in pesci vaccinati o infettati sperimentalmente con un patogeno. Non ci sono, invece, informazioni riguardo al loro effetto sull'attività dei linfociti T.

Per quanto riguarda l'effetto delle piante sui *parametri ematologici*, è stato osservato che diverse essenze modulano il numero assoluto delle cellule del sangue, influenzando parametri quali RBC, WBC, Hct, Lct, MCV e il leucogramma (numero relativo di neutrofili, monociti, linfociti, trombociti), regolano il livello plasmatico di emoglobina Hb, gli indici MCH e MCHC e il profilo ematochimico, inducendo cambiamenti nella concentrazione di proteine plasmatiche, albumina, globuline, glucosio, trigliceridi, colesterolo e degli enzimi ALT, ASP e ALP (legenda in tab. 1).

## 2.5 Effetto della somministrazione di estratti di piante ed alghe sulla resistenza alle malattie

I risultati delle sperimentazioni *in vivo* indicano che diverse piante promuovono la resistenza delle specie ittiche alle malattie, determinando una riduzione della mortalità in caso di infezione. La tabella 2 riassume le specie vegetali che hanno determinato riduzione di mortalità nei confronti dei principali patogeni (batteri, virus o parassiti), mediante prove di infezione sperimentale.

## 3. NORMATIVA DI RIFERIMENTO

La normativa che regola l'uso di fitoterapici in acquacoltura è limitata solamente ad alcune brevi indicazioni contenute nei regolamenti CE n° 834/2007,

n° 889/2008 e n° 710/2009, che disciplinano il settore dell'acquacoltura biologica. Quest'ultimo, in particolare, è entrato in vigore anche in Italia il 1° luglio 2010 e include tra i trattamenti veterinari ammissibili nei pesci anche «prodotti fitosanitari, cioè sostanze di origine vegetale in diluizione omeopatica, piante ed estratti vegetali non aventi effetti anestetici, che possono essere preferiti agli antibiotici o ai medicinali veterinari allopatici ottenuti per sintesi chimica, purché abbiano efficacia terapeutica per la specie ittica e tenuto conto delle circostanze che richiedono la cura. Inoltre le essenze naturali estratte dai vegetali vengono incluse tra i prodotti destinabili alla pulizia e alla disinfezione degli edifici e degli impianti adibiti alle produzioni di tipo biologico».

#### 4. PROSPETTIVE FUTURE

Le informazioni raccolte nel presente documento dimostrano come l'uso di fitoterapici in acquacoltura rappresenti una possibile alternativa ai farmaci tradizionali, in quanto le piante sembrano capaci di stimolare la risposta immunitaria e di potenziare la resistenza alle malattie di numerose specie ittiche. Tuttavia, a differenza dei Paesi orientali in cui la fitoterapia è diffusa anche nel settore ittico, così come in medicina umana e veterinaria, in Europa e in particolare in Italia essa non risulta oggi praticata. Questo anche perché sono limitate le sperimentazioni su specie ittiche di interesse, come branzino, orata e trota, e inoltre non esiste una precisa normativa che disciplina l'utilizzo dei fitoterapici in acquacoltura. È auspicabile in futuro un maggior coinvolgimento dei ricercatori verso l'utilizzo di tale approccio preventivo/terapeutico nelle specie ittiche di principale interesse per l'acquacoltura europea. Inoltre sarebbe necessaria la definizione di specifiche direttive per l'utilizzo di fitoterapici anche nel settore ittico, in relazione al sempre maggiore sviluppo di forme di acquacoltura sostenibile e di tipo biologico.

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Achyranthes aspera</i>	carpa indiana ( <i>Catla catla</i> )	pesci sani	dieta contenente 0,5% di semi, somministrata all'1% del peso vivo/giorno per 4 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), albumina ( $\leftrightarrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), attività $\alpha$ 1-antiproteasi e antiproteasi totali ( $\uparrow$ ), RNA/DNA ( $\uparrow$ )	Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2005a.
	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta con 0,5% di semi, somministrata per 4 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), albumina ( $\leftrightarrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività $\alpha$ 1-antiproteasi ( $\leftrightarrow$ ) e $\alpha$ 2-macroglobulina ( $\uparrow$ ), RNA/DNA ( $\uparrow$ )	Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2005b.
	carpa indiana ( <i>Labeo rohita</i> )	pesci sani	dieta contenente 0,5% di estratto, somministrata all'1% del peso vivo/giorno per 4 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), RNA/DNA ( $\uparrow$ )	Vasudeva Rao et al., 2004.
		pesci sani	dieta contenente 0,5% di estratto, somministrata all'1% del peso vivo/giorno per 4 settimane	attività $\alpha$ 1-antiproteasi e antiproteasi totali ( $\uparrow$ )	Vasudeva Rao e Chakrabarti, 2004.
		pesci sani	dieta contenente 0,01%, 0,1%, 0,5% di semi, somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 4 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), albumina ( $\uparrow$ ), globuline ( $\leftrightarrow$ ), AST ( $\downarrow$ ), ALT ( $\downarrow$ ), ALP ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività battericida ( $\uparrow$ )	Vasudeva Rao et al., 2006.
<i>Aegle marmelos</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dieta contenente 1% di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 45 giorni	proteine totali ( $\uparrow$ ), albumina ( $\uparrow$ ), globuline ( $\leftrightarrow$ ), glucosio ( $\downarrow$ ), colesterolo totale ( $\downarrow$ ), trigliceridi ( $\downarrow$ ), calcio ( $\leftrightarrow$ ), Hct ( $\uparrow$ ), Lct ( $\leftrightarrow$ ), attività di fagocitosi ( $\leftrightarrow$ ), attività lisozima ( $\leftrightarrow$ )	Immanuel et al., 2009.
<i>Allium sativum</i>	carpa indiana ( <i>Labeo rohita</i> )	pesci sani	dieta contenente 0,1%, 0,5%, 1% di bulbi, somministrata per 8 settimane	proteine totali ( $\uparrow$ ), albumina ( $\uparrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), glucosio ( $\downarrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), WBC ( $\uparrow$ ), Hb ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività battericida ( $\uparrow$ )	Sahu et al., 2007a.
	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dieta contenente 10, 20, 30, 40 g/Kg di pianta, somministrata al 6% del peso vivo/giorno per 12 settimane	proteine totali ( $\uparrow$ ), lipidi totali ( $\downarrow$ ), glucosio ( $\downarrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), Hct ( $\uparrow$ ), Hb ( $\uparrow$ ), MCV ( $\leftrightarrow$ ), MCHC ( $\leftrightarrow$ ), AST ( $\downarrow$ ), ALT ( $\downarrow$ )	Shalaby et al., 2005
	tilapia ibrido ( <i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i> )	pesci sani	dieta contenente 0,5% e 1% di bulbi, somministrata per 4 settimane	WBC ( $\uparrow$ ), attività di fagocitosi ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività complemento ( $\uparrow$ )	Ndong e Fall, 2007.
	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dieta contenente 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1% di bulbi, somministrata 2 volte al giorno per 2 settimane	proteine totali ( $\uparrow$ ), albumina ( $\leftrightarrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), WBC ( $\uparrow$ ), Hct ( $\uparrow$ ), Hb ( $\leftrightarrow$ ), MCV ( $\downarrow$ ), MCH ( $\downarrow$ ), MCHC ( $\uparrow$ ), linfociti ( $\uparrow$ ), monociti ( $\downarrow$ ), neutrofili ( $\downarrow$ ), attività di fagocitosi ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività antiproteasi ( $\leftrightarrow$ ), attività battericida ( $\uparrow$ )	Nya e Austin, 2009a.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Aloe vera</i>	rockfish ( <i>Sebastes schlegelii</i> )	pesci infertati sperimentalmente con <i>V. alginolyticus</i>	dieta contenente 0.1%, 0.5% di aloe, somministrata una volta al giorno per 6 settimane	burst ossidativo (↓), attività lisozima (↔)	Kim et al., 1999.
<i>Andrographis paniculata</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.03% di estratto combinato con <i>Astragalus membranaceus</i> , <i>Flavescens sophora</i> , <i>Portulaca oleracea</i> , ecc., somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 8 settimane	proteine totali (↑), albumina (↔), globuline (↑), glucosio (↑), colesterolo totale (↔), trigliceridi (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), produzione NO (↔), attività lisozima (↑), attività SOD (↔)	Wu et al., 2007.
<i>Angelica sinensis</i>	corvina giapponese ( <i>Pseudosciaena crocea</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.5%, 1%, 1.5% di radice combinata con <i>Astragalus membranaceus</i> , somministrata per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Jian e Wu, 2003.
<i>Artemisia capillaris</i>	orata giapponese ( <i>Pagrus major</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.5 % di foglie, somministrata 2 volte al giorno per 12 settimane	Hct (↔), Hb (↑), AST (↓), ALT (↓), HDL-CHO (↔), attività lisozima (↔), attività complemento (↔)	Jl et al., 2007.
<i>Astragalus membranaceus</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci infertati sperimentalmente con <i>A. hydrophila</i>  pesci sani	dieta pellettata contenente 0.5% di estratto, somministrata <i>ad libitum</i> per 5 settimane  dieta contenente 0.03% di estratto combinato con <i>Andrographis paniculata</i> , <i>Flavescens sophora</i> , <i>Portulaca oleracea</i> , ecc., somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 8 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)  proteine totali (↑), albumina (↔), globuline (↑), glucosio (↑), colesterolo totale (↔), trigliceridi (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), produzione NO (↔), attività lisozima (↑), attività SOD (↔)	Yin et al., 2009.  Wu et al., 2007.
	corvina giapponese ( <i>Pseudosciaena crocea</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.5%, 1%, 1.5% di radice combinata con <i>Angelica sinensis</i> , somministrata per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Jian e Wu, 2003.
	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.1%, 0.5%, 1 % di estratto, somministrata <i>ad libitum</i> 6 volte al giorno, per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↔), attività lisozima (↑)	Yin et al., 2006.
		pesci sani	dieta contenente 0.1 % di estratto, somministrata per 4 settimane	proteine totali (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), Ig totali (↔)	Ardó et al., 2008.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Azadirachta indica</i>	carassio rosso ( <i>Catnissius aurata</i> )	pesci infertati sperimentalmemente con <i>A. hydrophila</i> pesci sani	trattamento per immersione con 1% di estratto combinato con <i>Curcuma longa</i> e <i>Ocimum sanctum</i>  somministrazione ip di 5, 50, 100 mg/kg (0,05 ml/pesce) di estratto combinato con <i>Curcuma longa</i> e <i>Ocimum sanctum</i>	RBC (↔), WBC (↓), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↑), MCH (↑), MCHC (↑)  attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)  attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)  attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan e Bala-sundaram, 2008.  Harikrishnan et al., 2009b.  Harikrishnan et al., 2009a. Harikrishnan et al., 2009a.
	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci infertati sperimentalmemente con <i>A. invadans</i>	trattamento per immersione con 1% di estratto	WBC (↑), RBC (↔), Hb (↓), Hct (↓), linfociti (↓), monociti (↔), neutrofili (↓), eosinofili (↔)	Harikrishnan et al., 2005.
<i>Brussica nigra</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 250, 500, 750, 1000 mg di estratto combinato con <i>Chelidonium majus</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Inula helenium</i> , <i>Tussilago farfara</i> , somministrata 3 volte al giorno al 3% del peso vivo/giorno, per 70 giorni	proteine totali (↑), glucosio (↓), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↑), albumina (↑), globulina (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Mohamad e Abasali, 2010.
<i>Chelidonium majus</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 250, 500, 750, 1000 mg di estratto combinato con <i>Brusica nigra</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Inula helenium</i> , <i>Tussilago farfara</i> , somministrata 3 volte al giorno al 3% del peso vivo/giorno, per 70 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Mohamad e Abasali, 2010.
<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	japanese flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	pesci sani	somministrazione ip con 5, 50, 100 mg/kg di estratto combinato con <i>Punica granatum</i> e <i>Zanthoxylum schinifolium</i>	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2010c.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Cnidium officinale</i>	orata giapponese ( <i>Pagrus major</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.5 % di radice, somministrata 2 volte al giorno per 12 settimane	Hct (↔), Hb (↑), AST (↓), ALT (↓), HDL-CHO (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↔)	Ji et al., 2007.
<i>Crataegi fructus</i>	orata giapponese ( <i>Pagrus major</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.5 % di frutti, somministrata 2 volte al giorno per 12 settimane	Hct (↔), Hb (↔), AST(↓), ALT (↓), HDL-CHO (↔), attività lisozima (↔), attività complemento (↔)	Ji et al., 2007.
<i>Cratogeomys formosum</i>	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.1%, 1%, 1.5% di estratto, somministrata al 2% del peso vivo/giorno, 2 volte al giorno per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑)	Rattanachai-kunson e Phumkha-chorn, 2010c.
<i>Curcuma longa</i>	carassio rosso ( <i>Carrasius aurata</i> )	pesci infettati sperimentalmente con <i>A. hydrophila</i> pesci sani	trattamento per immersione con 1% di estratto combinato con <i>Azadirachta indica</i> e <i>Ocimum sanctum</i>  iniezione ip con 5, 50, 100 mg/kg (0,05 ml/pesce) di estratto combinato con <i>Azadirachta indica</i> e <i>Ocimum sanctum</i>	RBC (↔), WBC (↓), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↑), MCH (↑), MCHC (↑)  attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan e Balasundaram, 2008.  Harikrishnan et al., 2009b.
	carpa indiana ( <i>Labeo rohita</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.75% di estratto combinato con <i>Azadirachta indica</i> e <i>Ocimum sanctum</i> , somministrata per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2009a.
		pesci sani	dieta pellettata contenente 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5% di pianta, somministrata per 8 settimane	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↔), AST (↓), ALT (↓), ALP (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Sahu et al., 2008.
<i>Cynodon dactylon</i>	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dieta con 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 8 settimane	albumina/globulina (↑), attività di fagocitosi (↑), attività battericida (↑)	Punitha et al., 2008.
	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dieta contenente 1% di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 45 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), colesterolo totale (↓), trigliceridi (↓), calcio (↔), Hct (↑), Lct (↑), attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↑)	Immanuel et al., 2009.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Echinacea purpurea</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 250, 500, 750, 1000 mg di estratto combinato con <i>Brusica nigra</i> , <i>Chelidonium majus</i> , <i>Inula helenium</i> , <i>Tussilago farfara</i> , somministrata 3 volte al giorno al 3% del peso vivo/giorno per 70 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Mohamad e Abasali, 2010.
<i>Eclipta alba</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.01%, 0.1%, 1% di estratto, somministrata al 2% del peso vivo/giorno per 3 settimane	burst ossidativo (↑), produzione NO (↑), contenuto MPO (↑), attività lisozima (↑), attività aniproteasi (↑), attività complemento (↑)	Christybpapita et al., 2007.
<i>Epimedium brevicornum</i>	chinese sucker ( <i>Myxocyprinus asiaticus</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.1%, 0.5%, 1% di estratto combinato con propoli, somministrata 2 volte al giorno per 5 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↔)	Zhang et al., 2009.
<i>Flavescens sophora</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.03% di estratto combinato con <i>Andrographis paniculata</i> , <i>Astragalus membranaceus</i> , <i>Portulaca oleracea</i> , ecc., somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 8 settimane	proteine totali (↑), albumina (↔), globuline (↑), glucosio (↑), colesterolo totale (↔), trigliceridi (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), produzione NO (↔), attività lisozima (↑), attività SOD (↔)	Wu et al., 2007.
<i>Ganoderma lucidum</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci infettati sperimentalmente con <i>A. hydrophila</i>	dieta pellettata contenente 0.5% di estratto, somministrata <i>ad libitum</i> per 5 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)	Yin et al., 2009.
<i>Ginseng</i>	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dieta contenente 50, 100, 150, 200, 250 mg di estratto, somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 6 settimane	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), WBC (↔), RBC (↑), Hb (↑), Hct (↑), MCV (↓), MCH (↓), MCHC (↔), linfociti (↔), monociti (↔), granulociti (↔)	Goda, 2008.
<i>Inula helenium</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 250, 500, 750, 1000 mg di estratto combinato con <i>Brusica nigra</i> , <i>Chelidonium majus</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Tussilago farfara</i> , somministrata 3 volte al giorno al 3% del peso vivo/giorno per 70 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Mohamad e Abasali, 2010.
<i>Laurus nobilis</i>	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.5%, 1% di estratto, somministrata per 3 settimane	proteine totali (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↔)	Bilen e Bulut, 2010.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Lonicera japonica</i>	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dietra contenente 0.1% di estratto, somministrata per 4 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), attività di fagocitosi ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), Ig totali ( $\leftrightarrow$ )	Ardó et al., 2008.
<i>Lupinus perennis</i>	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dietra contenente 1% di semi, somministrata per 2 settimane	proteine totali ( $\leftrightarrow$ ), WBC ( $\uparrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), Hb ( $\leftrightarrow$ ), Hct ( $\uparrow$ ), MCV ( $\leftrightarrow$ ), MCH ( $\leftrightarrow$ ), MCHC ( $\leftrightarrow$ ), linfociti ( $\leftrightarrow$ ), monociti ( $\leftrightarrow$ ), neutrofili ( $\leftrightarrow$ ), trombociti ( $\uparrow$ ), attività di fagocitosi ( $\leftrightarrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività PO ( $\leftrightarrow$ ), attività antiproteasi ( $\leftrightarrow$ ), attività complemento ( $\leftrightarrow$ ), attività battericida ( $\downarrow$ )	Award e Austin, 2010.
<i>Mangifera indica</i>	carpa indiana ( <i>Labeo rohita</i> )	pesci sani	dietra contenente 0.1%, 0.5%, 1% di semi, somministrata per 4 settimane	proteine totali ( $\uparrow$ ), albumina ( $\uparrow$ ), globuline ( $\uparrow$ ), glucosio ( $\downarrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), WBC ( $\uparrow$ ), Hb ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività battericida ( $\uparrow$ )	Sahu et al., 2007b.
	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dietra contenente 1% di frutto, somministrata per 2 settimane	proteine totali ( $\uparrow$ ), WBC ( $\uparrow$ ), RBC ( $\uparrow$ ), Hb ( $\leftrightarrow$ ), Hct ( $\uparrow$ ), MCV ( $\leftrightarrow$ ), MCH ( $\leftrightarrow$ ), MCHC ( $\leftrightarrow$ ), linfociti ( $\leftrightarrow$ ), monociti ( $\leftrightarrow$ ), neutrofili ( $\leftrightarrow$ ), trombociti ( $\leftrightarrow$ ), attività di fagocitosi ( $\leftrightarrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\uparrow$ ), attività PO ( $\leftrightarrow$ ), attività antiproteasi ( $\leftrightarrow$ ), attività complemento ( $\leftrightarrow$ ), attività battericida ( $\downarrow$ )	Award e Austin, 2010.
<i>Massa medicata</i>	orata giapponese ( <i>Pagrus major</i> )	pesci sani	dietra pellettata contenente 0.5% di frutti, somministrata 2 volte al giorno per 12 settimane	Hct ( $\leftrightarrow$ ), Hb ( $\uparrow$ ), AST ( $\downarrow$ ), ALT ( $\leftrightarrow$ ), HDL-CHO ( $\leftrightarrow$ ), attività lisozima ( $\leftrightarrow$ ), attività complemento ( $\leftrightarrow$ )	Ji et al., 2007.
<i>Mucor circinelloides</i>	orata ( <i>Sparus aurata</i> )	pesci sani	dietra con 1% di fungo liofilizzato, somministrata all' 1% del peso vivo/giorno per 6 settimane	attività di fagocitosi ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\leftrightarrow$ ), attività citotossica ( $\uparrow$ )	Rodriguez et al., 2004.
<i>Muscari comosum</i>	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	somministrazione ip di 0.5 e 2 mg/pesce	WBC ( $\uparrow$ ), Hct ( $\leftrightarrow$ ), neutrofili ( $\uparrow$ ), monociti ( $\uparrow$ ), burst ossidativo ( $\uparrow$ ), attività lisozima ( $\leftrightarrow$ )	Uluköy et al., 2007.
<i>Myristica fragans</i>	cemia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dietra pellettata contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 12 settimane	albumina ( $\leftrightarrow$ ), globuline ( $\leftrightarrow$ ), Lct ( $\leftrightarrow$ ), attività di fagocitosi ( $\leftrightarrow$ ), attività lisozima ( $\leftrightarrow$ ), attività battericida ( $\leftrightarrow$ )	Sivaram et al., 2004.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Nyctanthes arbortristis</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0,01%, 0,1%, 1% di semi, somministrata al 2% del peso vivo/giorno per 3 settimane	burst ossidativo (↑), produzione NO (↑), contenuto MPO (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Kirubakaran et al., 2010.
<i>Ocimum sanctum</i>	carassio rosso ( <i>Carrasius auratus</i> )	pesci infettati sperimentalmente con <i>A. hydrophila</i>	trattamento per immersione con 1% di estratto combinato con <i>Azadirachta indica</i> e <i>Curcuma longa</i>	RBC (↔), WBC (↓), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↑), MCH (↑), MCHC (↑)	Harikrishnan e Bala-sundaram, 2008.
		pesci sani	somministrazione ip di 5, 50, 100 mg/kg (0.05 ml/pesce) di estratto combinato con <i>Azadirachta indica</i> e <i>Curcuma longa</i>	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2009b.
		pesci sani	dieta contenente 0.75% di estratto combinato con <i>Curcuma longa</i> e <i>Azadirachta indica</i> , somministrata per 4 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2009a.
	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 12 settimane	albumina (↔), globulina (↑), Lct (↑), attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↔), attività battericida (↑)	Sivaram et al., 2004.
	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani o vaccinati con <i>A. hydrophila</i> inattivato	somministrazione ip di 0.2, 20, 2000 µg di estratto (0,2 ml/pesce)	burst ossidativo (↑), Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)	Logambal et al., 2000.
<i>Origanum minutiflorum</i>	sarago pizzuto ( <i>Diplodus puntazzo</i> )	pesci parassitati da <i>Myxobolus</i> sp	dieta contenente 0.2, 2, 20, 200, 1000 µg di foglie, somministrata per 4 giorni	Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)	
		pesci sani	dieta contenente olio essenziale, 8ml/5 kg di biomassa, somministrata per 4 settimane	attività di fagocitosi (↔), produzione NO (↔), proliferazione leucociti (↑), attività lisozima (↓)	Karagouni et al., 2005.
<i>Origanum vulgare</i>	pesce gatto ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	pesci sani	dieta contenente 0.05% di estratto, somministrata per 8 settimane	attività lisozima (↑), attività SOD (↑), attività catalasi (↑)	Zheng et al., 2009.
<i>Phyllanthus niruri</i>	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dieta contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 8 settimane	albumina/globulina (↑), attività di fagocitosi (↑), attività battericida (↑)	Punitha et al., 2008.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Piper longum</i>	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dietra contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 8 settimane	albumina/globulina (↑), attività di fagocitosi (↑), attività battericida (↑)	Punitha et al., 2008.
<i>Portulaca oleracea</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dietra contenente 0,03% di estratto combinato con <i>Andropogon paniculata</i> , <i>Astragalus membranaceus</i> , <i>Flavescens sophora</i> , ecc., somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 8 settimane	proteine totali (↑), albumina (↔), globuline (↑), glucosio (↑), colesterolo totale (↔), trigliceridi (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), produzione NO (↔), attività lisozima (↑), attività SOD (↔)	Wu et al., 2007.
<i>Punica granatum</i>	giapponese flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	pesci sani	somministrazione ip di 5, 50, 100 mg/kg di estratto combinato con <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> e <i>Zanthoxylum schinifolium</i>	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2010c.
		pesci infertati da <i>Lymphocystis virus</i>	somministrazione ip di 5, 50, 100 mg/kg di estratto	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2010b.
<i>Rheum officinale</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dietra contenente 0.5%, 1%, 2%, 4% di estratto, somministrata al 2-4% del peso vivo/giorno per 70 giorni	glucosio (↔), cortisolo (↓), attività lisozima (↑), attività SOD (↑), attività catalasi (↔), malondialdeide (↓)	Xie et al., 2008.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	tilapia ( <i>Oreochromis</i> sp.)	pesci sani	dietra contenente 8% e 16% di estratto, somministrata per 6 settimane	attività di fagocitosi (↑)	Tal et al., 2007.
<i>Scutellaria baicalensis</i>	tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	pesci sani	dietra pellettata contenente 0,1%, 0,5%, 1% di estratto, somministrata ad libitum 6 volte al giorno per 4 settimane	attività di fagocitosi (↓), burst ossidativo (↓), attività lisozima (↔)	Yin et al., 2006.
<i>Solanum trilobatum</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	somministrazione ip di 4, 40, 400 mg/kg di estratto (0,2 ml/pesce)	burst ossidativo (↑), produzione NO (↑), attività lisozima (↑)	Divyagnaneswari et al., 2007.
	pesci vaccinati con <i>A. hydrophila</i> inattivato		somministrazione ip di 4, 6.4, 32, 40, 160, 400, 800 mg/kg (0,2 ml/pesce) di estratto	Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑), attività lisozima (↑)	Divyagnaneswari et al., 2008.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Spirulina platensis</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	somministrazione orale mediante intubazione di 1, 10, 25 mg/pesce (0,1 ml/pesce) per 3 giorni	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), espressione IL-1β (↑), IL-10 (↓), TNF-α (↑)	Watanuki et al., 2006.
	pesce gatto ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	pesci sani o vaccinati con <i>E. ictaluri</i> inattivato	dieta contenente 2.7% di alga, somministrata per 1 settimana	RBC (↓), Hct (↔), linfociti (↑), monociti (↔), neutrofili (↑), trombociti (↔), attività di burst ossidativo (↑), chemiotassi (↑), Ig anti <i>E. ictaluri</i> (↔)	Ducan e Klesius, 1996.
<i>Tinospora cordifolia</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci vaccinati con <i>A. hydrophila</i> inattivato	somministrazione ip di 0.8, 8, 80 mg/kg di foglie (0,2 ml/pesce)	burst ossidativo (↑), Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)	Sudhakaran et al., 2006.
		pesci sani	somministrazione ip di 6, 60, 600 mg/kg di foglie (0,2 ml/pesce)	burst ossidativo (↑), produzione NO (↑), contenuto MPO (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑), attività antiproteasi (↑)	Alexander et al., 2010.
<i>Tioma sinensis</i>	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci infettati sperimentalmente con <i>A. hydrophila</i>	somministrazione ip di estratto 4.8 µg/g (10 µg/pesce)	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↔), Ig totali (↔)	Wu et al., 2010.
<i>Triptax procumbens</i>	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dieta contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 8 settimane	albumina/globulina (↑), attività di fagocitosi (↑), attività battericida (↑)	Punitha et al., 2008.
<i>Tussilago farfara</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 100, 250, 500, 750, 1000 mg di estratto combinato con <i>Bruscia nigra</i> , <i>Chelidonium majus</i> , <i>Echinacea purpurea</i> , <i>Inula helenium</i> , somministrata 3 volte al giorno al 3% del peso vivo/giorno per 70 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), RBC (↑), WBC (↑), Hb (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività battericida (↑)	Mohamad e Abasali, 2010.
<i>Urtica dioica</i>	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dieta pellettata con 0.1%, 1% di estratto, somministrata al 2% del peso vivo/giorno per 3 settimane	proteine totali (↑), attività di fagocitosi (↔), burst ossidativo (↔)	Düğenci et al., 2003.
		pesci sani	dieta contenente 1% di foglie, somministrata per 2 settimane	proteine totali (↔), WBC (↑), RBC (↑), Hb (↔), Hct (↑), MCV (↔), MCH (↔), MCHC (↔), linfociti (↔), monociti (↔), neutrofili (↔), trombociti (↔), attività di fagocitosi (↔), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività PO (↔), attività antiproteasi (↔), attività complemento (↔), attività battericida (↓)	Award e Austin, 2010.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Viscum album</i>	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )  anguilla giapponese ( <i>Anguilla japonica</i> )	pesci sani  pesci sani	dietà pellerata contenente 0.1 %, 1% di estratto, somministrata al 2% del peso vivo/giorno per 3 settimane  dietà contenente 0.1%, 0.5%, 1% di estratto, somministrata al 1% del peso vivo/giorno per 4 settimane	proteine totali (↑), attività di fagocitosi (↔), burst ossidativo (↔)  attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑)	Düğenci et al., 2003.  Choi et al., 2008.
<i>Withania somnifera</i>	carpa indiana ( <i>Labeo rohita</i> )  cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani  pesci sani	dietà pellerata contenente 1%, 2%, 3% di radice, somministrata al 3% del peso vivo/giorno per 6 settimane  dietà pellerata contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 12 settimane	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), Ig totali (↑)  albumina (↔), globuline (↑), Lcr (↑), attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↔), attività battericida (↔)	Sharma et al., 2010.  Sivaram et al., 2004.
	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dietà contenente 1% di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 45 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), colesterolo totale (↓), trigliceridi (↓), calcio (↔), Hct (↑), Lcr (↑), attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↑)	Immanuel et al., 2009.
<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	japanese flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	pesci sani	somministrazione ip di 5, 50, 100 mg/kg di estratto combinato con <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> e <i>Punica granatum</i>	attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività complemento (↑)	Harikrishnan et al., 2010c.
<i>Zataria multiflora</i>	carpa comune ( <i>Cyprinus carpio</i> )	pesci sani o vaccinati con <i>A. hydrophila</i> inattivato	dietà contenente 30, 60, 120 ppm di olio essenziale, somministrata al 1% del peso/vivo giorno per 8 giorni	proteine totali (↔), albumina (↔), globuline (↔), WBC (↑), attività lisozima (↔), attività battericida (↑), Ig anti <i>A. hydrophila</i> (↑)	Soltani et al., 2010.

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche (segue)

SPECIE VEGETALE	SPECIE ITTICA	CONDIZIONE DEI PESCI AL MOMENTO DELLE VALUTAZIONI	DOSE, MODALITÀ E DURATA DELLA SOMMINISTRAZIONE	EFFETTO SU PARAMETRI EMATOLOGICI E IMMUNITARI	BIBLIOGRAFIA
<i>Zingiber officinale</i>	cernia maculata ( <i>Epinephelus tauvina</i> )	pesci sani	dieta contenente 100, 200, 400, 800 mg/kg di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 8 settimane	albumina/globulina (↑), attività di fagocitosi (↑), attività battericida (↑)	Punitha et al., 2008.
	tilapia ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	pesci sani	dieta contenente 1% di estratto, somministrata al 5% del peso vivo/giorno per 45 giorni	proteine totali (↑), albumina (↑), globuline (↑), glucosio (↓), colesterolo totale (↓), trigliceridi (↓), calcio (↔), Hct (↑), Lct (↑), attività di fagocitosi (↑), attività lisozima (↑)	Immanuel et al., 2009.
	trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	pesci sani	dieta pellettata contenente 0.1%, 1% di estratto, somministrata al 2% del peso vivo/giorno per 3 settimane	proteine totali (↑), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑)	Dügenci et al., 2003.
		pesci sani	dieta pellettata contenente 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1% di radice, somministrata per 2 settimane	proteine totali (↑), albumina (↔), globuline (↑), RBC (↑), WBC (↑), Hct (↑), Hb (↔), MCV (↔), MCH (↔), MCHC (↔), linfociti (↑), monociti (↑), neutrofilii (↑), trombociti (↔), attività di fagocitosi (↑), burst ossidativo (↑), attività lisozima (↑), attività antiproteasi (↑), attività complemento (↓), attività battericida (↓)	Nya e Austin, 2009b.
<p><b>Legenda:</b>  ALP, fosfatasi alcalina; ALT, alanina aminotransferasi; AST, aspartato aminotransferasi; Hb, emoglobina; HDL-CHO, colesterolo ad alta densità; Ig, immunoglobuline; IL-1β, interleuchina 1β; IL-10, interleuchina 10; ip, infezione intraperitoneale; Lct, leucocriti; MCH, contenuto emoglobinico corpuscolare medio; MCHC, concentrazione emoglobinica corpuscolare media; MCV, volume corpuscolare medio; MPO, mieloperoxidasi dei leucociti; NO, ossido nitrico; PO, perossidasi sieriche; RBC, globuli rossi; SOD, superossido dismutasi; TNF-α, fattore di necrosi tumorale α; WBC, globuli bianchi.  ↑, aumento significativo; ↓, diminuzione significativa; ↔, nessuna variazione significativa.</p>					

Tab. 1 Effetto della somministrazione di fitoterapici su parametri immunitari ed ematologici delle specie ittiche

PATOGENO UTILIZZATO PER INFEZIONE SPERIM. BATTERI	SPECIE ITTICA	PIANTE ATTIVE	BIBLIOGRAFIA
<i>A. hydrophila</i>	<i>Anguilla japonica</i> <i>Carassius aurata</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Ictalurus punctatus</i> <i>Labeo rohita</i> <i>Myxocyprinus asiaticus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Oreochromis mossambicus</i> <i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Viscum album</i> <i>Azadirachta indica, Curcuma longa, Ocimum sanctum</i> <i>Astragalus membranaceus, Brussaica nigra, Chelidonium majus, Echinacea purpurea, Ganoderma lucidum, Inula helenium, Rheum officinale, Silybum marianum, Spirulina platensis, Tussilago farfara</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Achyranthes aspera, Allium sativum, Curcuma longa, Mangifera indica, Withania somnifera</i> <i>Epimediium brevicornum</i> <i>Allium sativum, Zingiber officinale</i> <i>Eclipta alba, Nycthanthes arbor-tristis, Ocimum sanctum, Solanum trilobatum, Tinospora cordifolia</i> <i>Allium sativum, Astragalus membranaceus, Lonicera japonica, Psidium guajava</i>	Choi et al., 2008. Harikrishnan et al., 2009a; Harikrishnan et al., 2009b; Harikrishnan et al., 2010a. Watanuki et al., 2006; Xie et al., 2008; Alishahi et al., 2009; Yin et al., 2009; Mohamad e Abasali, 2010. Zheng et al., 2009. Vasudeva Rao et al., 2006; Sahu et al., 2007a; Sahu et al., 2007b; Sahu et al., 2008; Sharma et al., 2010. Zhang et al., 2009. Nyla e Austin 2009a; Nyla e Austin 2009b. Logambal et al., 2000; Sudhakaran et al., 2006; Christyapita et al., 2007; Divyagnaneswari et al., 2007; Divyagnaneswari et al., 2008; Alexander et al., 2010; Kirubakaran et al., 2010. Shalaby et al., 2006; Ardo et al., 2008; Pachanawan et al., 2008.
<i>A. sobria</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Origanum vulgare</i>	Bitchava et al., 2009.
<i>E. ictaluri</i>	<i>Ictalurus punctatus</i>	<i>Spirulina platensis</i>	Duncan e Klesius, 1996.
<i>F. columnare</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Allium tuberosum, Centella asiatica</i>	Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2009a, Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn 2010b.
<i>S. agalactiae</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Andrographis paniculata, Cratogeomys formosum</i>	Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2009b, Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010c.

Tab. 2. Piante e alghe che hanno determinato riduzione della mortalità in specie ittiche sottoposte a infezione sperimentale (segue)

PATOGENO UTILIZZATO PER INFEZIONE SPERIM.	SPECIE ITTICA	PIANTE ATTIVE	BIBLIOGRAFIA
<i>S. iniae</i>	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>Oreochromis sp.</i>	<i>Cinnamomum verum</i> <i>Rosmarinus officinalis</i>	Rattanachaiakunsopon e Phumkhachom, 2010a. Abutbul et al., 2004.
<i>V. alginolyticus</i>	<i>Pseudosciaena crocea</i> <i>Sebastes schlegeli</i>	<i>Astragalus membranaceus</i> , <i>Angelica sinensis</i> <i>Aloe vera</i>	Jian e Wu, 2003. Kim et al., 1999.
<i>V. anguillarum</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Pagrus major</i>	<i>Origanum vulgare</i> <i>Artemisia capillaries</i> , <i>Cnidium officinale</i> , <i>Crataegi fructus</i> , <i>Masa medicata</i>	Yiagnisis et al., 2009. Ji et al., 2007.
<i>V. harveyi</i>	<i>Epinephelus tauvina</i>	<i>Cynodon dactylon</i> , <i>Myristica fragrans</i> , <i>Ocimum sanctum</i> , <i>Piper longum</i> , <i>Phyllanthus niruri</i> , <i>Tidax procumbens</i> , <i>Withania somnifera</i> , <i>Zingiber officinale</i>	Sivaram et al. 2004; Punitha et al., 2008.
<i>V. vulnificus</i>	<i>Oreochromis mossambicus</i>	<i>Aegle marmelos</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Withania somnifera</i> , <i>Zingiber officinale</i>	Immanuel et al., 2009.
VIRUS			
<i>Lymphocystis virus (LDV)</i>	<i>Paralichthys olivaceus</i>	<i>Punica granatum</i>	Harikrishnan et al., 2010b.
PARASSITI			
<i>Myxobolus sp.</i>	<i>Diplodus puntazzo</i>	<i>Origanum miniiflorum</i>	Karagouni et al., 2005.
<i>U. marinum</i>	<i>Paralichthys olivaceus</i>	<i>Chrysanthemum cineraria</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Zanthoxylum schiniifolium</i>	Harikrishnan et al., 2010c.

Tab. 2 Pianta e alghe che hanno determinato riduzione della mortalità in specie ittiche sottoposte a infezione sperimentale

## RIASSUNTO

In Europa le norme che disciplinano l'uso farmaci in acquacoltura sono molto restrittive, al fine di limitare la somministrazione indiscriminata di antibiotici, che possono promuovere la selezione di ceppi batterici antibiotico-resistenti, e l'accumulo di residui nei tessuti dei pesci e nell'acqua (Rodgers, 2009). Allo stesso tempo lo sviluppo di vaccini efficaci per il controllo delle malattie è spesso associato a problematiche quali l'eterogeneità antigenica dei ceppi microbici utilizzati e gli alti costi di produzione (Le Breton, 2009; Toranzo et al., 2009).

Recentemente è cresciuto l'interesse nei confronti di un possibile impiego di sostanze immunostimolanti, in grado di promuovere la risposta immunitaria dei pesci e la resistenza ai patogeni (Anderson, 1992; Galeotti, 1998; Sakai, 1999). In particolare, gli estratti di piante, alghe e funghi potrebbero rappresentare una promettente alternativa ai farmaci tradizionali, in quanto possono fornire molecole bioattive, relativamente facili da reperire in commercio e biocompatibili (Abasali e Mohamad, 2010). Lo scopo di questo lavoro è quello di fornire una panoramica delle recenti ricerche in merito all'uso di fitoterapici in acquacoltura. Particolare attenzione viene dedicata allo studio degli effetti della loro somministrazione sulla risposta immunitaria e sulla resistenza alle malattie dei pesci.

## ABSTRACT

In Europe the regulations governing drugs use in aquaculture are very restrictive, in order to limit the indiscriminate administration of antibiotics, which can lead to the selection of antibiotic resistant bacterial strains, and the accumulation of chemical residues in water and fish tissues, which can be potentially risky to environment and consumers (Rodgers, 2009). At the same time the development of effective vaccines for disease control is often associated with problems, such as antigenic heterogeneity of microbial strains and production costs (Le Breton, 2009; Toranzo et al., 2009).

Recently, there has been an increased interest on the possible use of immunostimulants, capable of enhancing fish immune responses and resistance to pathogens (Anderson, 1992; Galeotti, 1998; Sakai, 1999). In particular, plants extracts could represent a promising alternative to traditional drugs, since they provide bioactive molecules and at the same time they are easily commercially available, inexpensive and biocompatible (Abasali and Mohamad, 2010).

The aim of this paper is to provide an overview of recent researches dealing with the use of medicinal herbs in aquaculture. Special attention is given to the effects of plants administration on the immune response and disease resistance of fish species.

## BIBLIOGRAFIA

- ABUTBUL S., GOLAN-GOLDHIRSH A., BARAZANI O., OFIR R., ZILBERG D. (2005): *Screening of desert plants for use against bacterial pathogens in fish*, «The Israeli Journal of Aquaculture», 57, pp. 71-80.

- ABUTBUL S., GOLAN-GOLDHIRSH A., BARAZANI O., ZILBERG D. (2004): *Use of Rosmarinus officinalis as a treatment against Streptococcus iniae in tilapia (Oreochromis sp.)*, «Aquaculture», 238, pp. 97-105.
- ALEXANDER C.P., KIRUBAKARAN C.J.W., MICHAEL R.D. (2010): *Water soluble fraction of Tinospora cordifolia leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in Oreochromis mossambicus*, «Fish & Shellfish Immunology», 30, pp. 1-8.
- ALISHAHI M., MESBAH M., NAJAFZADEH H., GHORBANPOOR M. (2009): *Effect of Silybum marianum on resistance against Aeromonas hydrophila infection in Cyprinus carpio*, Atti 14<sup>th</sup> International Conference of EAAP, Praga (Repubblica Ceca), 14-19 settembre, pp. 427.
- ANDERSON D.P. (1992): *Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish: application to aquaculture*, «Annual Review of Fish Diseases», 2, pp. 281-307.
- ARDÒ L., YIN G., XU P., VÁRADI L., SZIGETI G., JENEY Z., JENEY G. (2008): *Chinese herbs (Astragalus membranaceus and Lonicera japonica) and boron enhance the non-specific immune response on Nile tilapia (Oreochromis niloticus) and resistance against Aeromonas hydrophila*, «Aquaculture», 275, pp. 26-33.
- AWAD E., AUSTIN B. (2010): *Use of lupin, Lupinus perennis, mango, Mangifera indica, and stinging nettle, Urtica dioica, as feed additives to prevent Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*, «Journal of Fish Diseases», 33, pp. 413-420.
- BANSEMIER A., BLUME M., SCHRÖDER S., LINDEQUIST U. (2005): *Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria*, «Aquaculture», 252, pp. 79-84.
- BHUVANESWARI R., BALASUNDARAM C. (2006): *Traditional Indian herbal extracts used in vitro against growth of the pathogenic bacteria – Aeromonas hydrophila*, «The Israeli Journal of Aquaculture», 58, pp. 89-96.
- BILEN S., BULUT M. (2010): *Effects of laurel (Laurus nobilis) on the non-specific immune responses of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum)*, «Journal of Animal and Veterinary Advances», 9, pp. 1275-1279.
- BITCHAVA K., TSIRONI E., PANOPOULOS S., ATHANASSOPOULOU F., YIAGNISIS M. (2009): *Effect of dietary oregano essential oil supplementation on the resistance to clinical disease from Aeromonas sobria in carp, Cyprinus carpio*, Atti 14<sup>th</sup> International Conference of EAAP, Praga (Repubblica Ceca). 14-19 settembre, pp. 405.
- BRICKNELL I., DALMO R.A. (2005): *The use of immunostimulants in fish larval aquaculture*, «Fish & Shellfish Immunology», 19, pp. 457-472.
- CAPASSO F., GRANDOLINI G., IZZO A.A. (2006): *Storia della fitoterapia*, in *Fitoterapia, impiego razionale delle droghe vegetali*, ed. 3, Springer Milan, pp. 9-17.
- CASTRO S.B.R., LEAL C.A.G., FREIRE F.R., CARVALHO D.A., OLIVEIRA D. F., FIGUEIREDO H.C.P. (2008): *Antibacterial activity of plant extracts from brazil against fish pathogenic bacteria*, «Brazilian Journal of Microbiology», 39, pp. 756-760.
- CHOI S., PARK K., YOON T., KIM J., JANG Y., CHOE C. (2008): *Dietary korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (Anguilla japonica)*, «Fish & Shellfish Immunology», 24, pp. 67-73.
- CHOUNDHURY S., SREE A., MUKHERJEE S.C., PATNAIK P., BAPUJI M. (2005): *In vitro antibacterial activity of extracts of selected marine algae and mangroves against fish pathogens*, «Asian Fisheries Science», 18, pp. 285-294.
- CHRISTYBAPITA D., DIVYAGNANESWARI M., MICHAEL R.D. (2007): *Oral administration of Eclipta alba leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of Oreochromis mossambicus*, «Fish & Shellfish Immunology», 23, pp. 840-852.

- DIREKBUSARAKOM S. (2004): *Application of medicinal herbs to aquaculture in Asia*, «Walailak Journal Science & Technology», 1, pp. 7-14.
- DIVYAGNANESWARI M., CHRISTYBAPITA D., MICHAEL R.D. (2007): *Ehancement of non-specific immunity and disease resistance in Oreochromis mossambicus by Solanum trilobatum leaf fractions*, «Fish & Shellfish Immunology», 23, pp. 249-259.
- DIVYAGNANESWARI M., CHRISTYBAPITA D., MICHAEL R.D. (2008): *Immunomodulatory activity of Solanum trilobatum leaf extracts in Oreochromis mossambicus*, «Diseases in Asian Aquaculture», 6, pp. 221-234.
- DUBBER D., HARDER T. (2008): *Extracts of Ceramium rubrum, Mastocarpus stellatus and Laminaria digitata inhibit growth of marine and fish pathogenic bacteria at ecologically realistic concentrations*, «Aquaculture», 274, pp. 196-200.
- DÜGENCI S.K., ARDA N., CANDAN A. (2003): *Some medicinal plants as immunostimulant for fish*, «Journal of Ethnopharmacology», 88, pp. 99-106.
- DUNCAN P.L., KLESIOUS P.H. (1996): *Effects of feeding Spirulina on specific and non-specific immune responses of channel catfish*, «Journal of Aquatic Animal Health», 8, pp. 308-313.
- GALEOTTI M. (1998): *Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation*, «Journal of Applied Ichthyology», 14, pp. 189-199.
- GALINDO-VILLEGAS J., HOSOKAWA H. (2004): *Immunostimulants: towards temporary prevention of diseases in marine fish*, in Cruz Suárez L.E., Ricque M.D., Nieto López M.G., Villareal D., Scholz U., González M., *Avances en Nutrición Acuicola*, VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, Hermosillo, Sonora, Mexico, pp. 16-19.
- GODA A.M.A.S. (2008): *Effect of dietary ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.) fingerlings*, «Journal of the World Aquaculture Society», 39, pp. 205-214.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C. (2005): *Antimicrobial activity of medicinal herbs in vitro against fish pathogen, Aeromonas hydrophila*, «Fish Pathology», 40, pp. 187-189.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C. (2008): *In vitro and in vivo studies of the use of some medicinal herbals against the pathogen Aeromonas hydrophila in goldfish*, «Journal of Aquatic Animal Health», 20, pp. 165-176.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C., BHUVANESWARI R. (2005): *Restorative effect of Azadirachta indica aqueous leaf extract dip treatment on haematological parameter changes in Cyprinus carpio (L.) experimentally infected with Aphanomyces invadans fungus*, «Journal Applied Ichthyology», 21, pp. 410-413.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C., HEO M.S. (2009A): *Effect of chemotherapy, vaccines and immunostimulants on innate immunity of goldfish infected with Aeromonas hydrophila*, «Diseases of Aquatic Organisms», 88, pp. 45-54.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C., HEO M.S. (2010A): *Herbal supplementation diets on haematology and innate immunity in goldfish against Aeromonas hydrophila*, «Fish & Shellfish Immunology», 28, pp. 354-361.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C., KIM M.C., KIM J.S., HAN Y.J., HEO M.S. (2009B): *Innate immune response and disease resistance in Carassius auratus by triherbal solvent extracts*, «Fish & Shellfish Immunology», 27, pp. 508-515.
- HARIKRISHNAN R., BALASUNDARAM C., KIM M.C., KIM J.S., HEO M.S. (2009C): *Effective administration route of azadirachtin and its impact on haematological and biochemical parameters in goldfish (Carassius auratus) infected with Aeromonas hydrophila*, «Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy», 53, pp. 613-619.

- HARIKRISHNAN R., HEO J., BALASUNDARAM C., KIM M.C., KIM J.S., HAN Y.J., HEO M.S. (2010b): *Effect of Punica granatum solvent extracts on immune system and disease resistance in Paralichthys olivaceus against lymphocystis disease virus (LDV)*, «Fish & Shellfish Immunology», 30, pp. 1-6.
- HARIKRISHNAN R., HEO J., BALASUNDARAM C., KIM M.C., KIM J.S., HAN Y.J., HEO M.S. (2010c): *Effect of traditional Korean medicinal (TKM) triherbal extract on the innate immune system and disease resistance in Paralichthys olivaceus against Uronema marinum*, «Veterinary Parasitology», 170, pp. 1-7.
- HARIKRISHNAN R., RANI M.N., BALASUNDARAM C. (2003): *Hematological and biochemical parameters in common carp, Cyprinus carpio, following herbal treatment for Aeromonas hydrophila infection*, «Aquaculture», 221, pp. 41-50.
- IMMANUEL G., UMA R.P., IYAPPARAJ P., CITARASU T., PUNITHA P.S.M., MICHAEL B.M., PALAVESAM A. (2009): *Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia Oreochromis mossambicus*, «Journal of Fish Biology», 74, pp. 1462-1475.
- JENEY G., YIN G., ARDÒ L., JENEY Z. (2009): *The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research*, «Fish Physiology Biochemistry», 35, pp. 669-676.
- JI S.C., TAKAOKA O., JEONG G.S., LEE S.W., ISHIMARU K., SEOKA M., TAKII K. (2007): *Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream Pagrus major*, «Fisheries Science», 73, pp. 63-69.
- JIAN J., WU Z. (2003): *Effects of traditional Chinese medicine on non-specific immunity and disease resistance of large yellow croaker, Pseudosciaena crocea (Richardson)*, «Aquaculture», 218, pp. 1-9.
- JIAN J., WU Z. (2004): *Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian)*, «Fish & Shellfish immunology», 16, pp. 185-191.
- KARAGOUNI E., ATHANASSOPOULOU F., LYTRA A., KOMIS C., DOTSIKA E. (2005): *Anti-parasitic and immunomodulatory effect of innovative treatments against Myxobolus sp. infection in Diplodus puntazzo*, «Veterinary Parasitology», 134, pp. 215-228.
- KIM K.H., HWANG Y.J., BAI S.C. (1999): *Resistance to Vibrio alginolyticus in juvenile rockfish (Sebastes schlegeli) fed diets containing different doses of aloe*, «Aquaculture», 180, pp. 13-21.
- KIRUBAKARAN C.J.W., ALEXANDER C.P., MICHAEL R.D. (2010): *Enhancement of non-specific immune responses and disease resistance on oral administration of Nyctanthes arbor-tristis seed extract in Oreochromis mossambicus (Peters)*, «Aquaculture Research», in stampa.
- KOLANJINATHAN K., GANESH P., GOVINDARAJAN M. (2009): *Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens*, «European Review for Medical and Pharmacological Sciences», 13, pp. 173-177.
- LE BRETON A.D. (2009): *Vaccines in Mediterranean aquaculture: practice and needs*, in *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*, «Options Méditerranéennes», A / no. 86.
- LOGAMBAL S.M., VENKATALAKSHMI S., MICHAEL R.D. (2000): *Immunostimulatory effect of leaf extract of Ocimum sanctum Linn. in Oreochromis mossambicus (Peters)*, «Hydrobiologia», 430, pp. 113-120.
- MAGNADOTTIR B. (2010): *Immunological control of fish diseases*, «Marine Biotechnology», 12, pp. 361-379.
- MOHAMAD S., ABASALI H. (2010): *Effect of plant extracts supplemented diets on immunity and resistance*, «Agricultural Journal», 5, pp. 119-127.

- MUNIRUZZAMAN M., CHOWDHURY M.B.R. (2004): *Sensitivity of fish pathogenic bacteria to various medicinal herbs*, «Bangladesh Journal Veterinary Medicine», 2, pp. 75-82.
- NDONG D., FALL J. (2007): *The effect of garlic (Allium sativum) on growth and immune response of hybrid tilapia (Oreochromis niloticus & Oreochromis aureus)*, «Document Scientifique du CRODT», pp. 1-22.
- NYA E.J., AUSTIN B. (2009A): *Use of garlic, Allium sativum, to control Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*, «Journal of Fish Diseases», 32, pp. 963-970.
- NYA E.J., AUSTIN B. (2009B): *Use of dietary ginger, Zingiber officinale Roscoe, as an immunostimulant to control Aeromonas hydrophila infections in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*, «Journal of Fish Diseases», 32, pp. 971-977.
- PACHANAWAN A., PHUMKHACHORN P., RATTANACHAIKUNSOPON P. (2008): *Potential of Psidium guajava supplemented fish diets in controlling Aeromonas hydrophila infection in tilapia (Oreochromis niloticus)*, «Journal of Bioscience and Bioengineering», 5, pp. 419-424.
- PALAVESAM A., SHEEJA L., IMMANUEL G. (2006): *Antimicrobial properties of medicinal herbal extracts against pathogenic bacteria isolated from the infected grouper Epinephelus tauvina*, «Journal of Biological Research», 6, pp. 167-176.
- PUNITHA S.M.J., BABU M.M., SIVARAM V., SHANKAR V.S., DHAS S.A., MAHESH T.C., IMMANUEL G., CITARASU T. (2008): *Immunostimulating influence of herbal biomedicines on non-specific immunity in grouper Epinephelus tauvina juvenile against Vibrio harveyi infection*, «Aquaculture International», 16, pp. 511-523.
- RAJENDIRAN A., NATARJAN E., SUBRAMANIAN P. (2008): *Control of Aeromonas hydrophila infection in spotted snakehead Channa punctatus, by Solanum nigrum L., a medicinal plant*, «Journal of the World Aquaculture Society», 39, pp. 375-383.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2007): *Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of Psidium guajava on fish pathogens*, «Fitoterapia», 78, pp. 434-436.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2009A): *Potential of Chinese chive oil as a natural antimicrobial for controlling Flavobacterium columnare infection in Nile tilapia Oreochromis niloticus*, «Fish Science», 75, pp. 1431-1437.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2009B): *Prophylactic effect of Andrographis paniculata extracts against Streptococcus agalactiae infection in Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*, «Journal of Bioscience and Bioengineering», 107, pp. 579-582.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2010A): *Potential of cinnamon (Cinnamomum verum) oil to control Streptococcus iniae infection in tilapia (Oreochromis niloticus)*, «Fish Science», 76, pp. 287-293.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2010B): *Use of Asiatic pennywort Centella asiatica aqueous extract as a bath treatment to control columnaris in Nile tilapia*, «Journal of Aquatic Animal Health», 22, pp. 14-20.
- RATTANACHAIKUNSOPON P., PHUMKHACHORN P. (2010C): *Effect of Cratoxylum formosum on innate immune response and disease resistance against Streptococcus agalactiae in tilapia Oreochromis niloticus*, «Fish Science», 76, pp. 653-659.
- RODRIGUEZ A., CUESTA A., ESTEBAN M.A., MESEGUER J. (2004): *The effect of dietary administration of the fungus Mucor circinelloides on nonspecific immune responses of gilthead seabream*, «Fish & Shellfish Immunology», 16, pp. 241-249.
- RODGERS C.J. (2009): *The risks associated with the use of veterinary drugs and chemicals in aquaculture: assessment and control*, in *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*, «Options Méditerranéennes», A / no. 86.

- SAHU S., DAS B.K., MISHRA B.K., PRADHAN J., SARANGI N. (2007A): *Effect of Allium sativum on the immunity and survival of Labeo rohita infected with Aeromonas hydrophila*, «Journal of Applied Ichthyology», 23, pp. 80-86.
- SAHU S., DAS B.K., PRADHAN J., MOHAPATRA B.C., MISHRA B.K., SARANGI N. (2007B): *Effect of Mangifera indica kernel as a feed additive on immunity and resistance to Aeromonas hydrophila in Labeo rohita in fingerlings*, «Fish & Shellfish Immunology», 23, pp. 109-118.
- SAHU S., DAS B. K., MISHRA B. K., PRADHAN J., SAMAL S. K. AND SARANGI N. (2008): *Effect of dietary Curcuma longa on enzymatic and immunological profiles of rohu, Labeo rohita (Ham.), infected with Aeromonas hydrophila*, «Aquaculture Research», 39, pp. 1720-1730.
- SAKAI M. (1999): *Current research status of fish immunostimulant*, «Aquaculture», 172, pp. 63-92.
- SCOZZOLI M. (2004): *Fitoterapia veterinaria*, «Natural», 1, pp. 30-34.
- SHALABY A.M., KHATTAB Y.A., ABDEL RAHMAN A.M. (2006): *Effects of garlic (Allium sativum) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (Oreochromis niloticus)*, «Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases», 12, pp. 172-201.
- SHARMA A., DEO A.D., RITESHKUMAR S.T., CHANU T.I., DAS A. (2010): *Effect of Withania somnifera (L. Dunal) root as a feed additive on immunological parameters and disease resistance to Aeromonas hydrophila in Labeo rohita (Hamilton) fingerlings*, «Fish & Shellfish Immunology», 29, pp. 508-512.
- SIVARAM V., BABU M.M., IMMANUEL G., MURUGADASS S., CITARASU T., MARIAN M.P. (2004): *Growth and immune response of juvenile greasy groupers (Epinephelus tauvina) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections*, «Aquaculture», 237, pp. 9-20.
- SOLTANI M., SHEIKHZADEH N., EBRAHIMZADEH-MOUSAVI H. A. AND ZARGAR A. (2010): *Effects of Zataria multiflora essential oil on innate immune responses of Common Carp (Cyprinus carpio)*, «Journal of Fisheries and Aquatic Science», 5, pp. 191-199.
- SUDHAKARAN D.S., SRIREKHA P., DEVASREE L.D., PREMSINGH S., MICHAEL R.D. (2006): *Immunostimulatory effect of Tinospora cordifolia Miers leaf extract in Oreochromis mossambicus*, «Indian Journal of Experimental Biology», 44, pp. 726-732.
- TAL A., SINAI T., FROYMAN N., ABUTBUL S., ZILBERG D. (2007): *Rosemary (Rosmarinus officinalis) as a natural therapeutant for fish: study the plant's antibacterial properties and its effect on immune function and growth in tilapia (Oreochromis sp.)*, Atti 13<sup>th</sup> International Conference of EAAP, Grado (Italy). 17-22 settembre, pp. 347.
- TORANZO A.E., ROMALDE J.L., MAGARIÑOS B., BARJA J.L. (2009): *Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases*, in *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*, «Options Méditerranéennes», A / no. 86.
- TURKER H., YILDIRIM A.B., KARAKAS F.P. (2009A): *Sensitivity of bacteria isolated from fish to some medicinal plants*, «Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences», 9, pp. 181-186.
- TURKER H., YILDIRIM A.B., KARAKAS F.P., KÖYLÜOĞLU H. (2009B): *Antibacterial activities of extracts from some Turkish endemic plants on common fish pathogens*, «Turkish Journal of Biology», 33, pp. 73-78.
- ULUKÖY G., KUBILAY A., DILER Ö., DIDINEN B.I., ALTUN S., MAMMADOV R., EKICI S., DULLUÇ A. (2007): *Immunostimulant effects of Muscari comosum (L.) miller plant extract in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, Atti 13<sup>th</sup> International Conference of EAAP, Grado (Italy). 17-22 settembre, pp. 110.

- VASUDEVA RAO Y., CHAKRABARTI R. (2004): *Enhanced anti-proteases in Labeo rohita fed with diet containing herbal ingredients*, «Indian Journal of Clinical Biochemistry», 19, pp. 132-134.
- VASUDEVA RAO Y., CHAKRABARTI R. (2005A): *Stimulation of immunity in Indian major carp Catla catla with herbal feed ingredients*, «Fish & Shellfish Immunology», 18, pp. 327-334.
- VASUDEVA RAO Y., CHAKRABARTI R. (2005B): *Dietary incorporation of Achyranthes aspera seed influences the immunity of common carp Cyprinus carpio*, «Indian Journal of Animal Sciences», 75, pp. 1097-1102.
- VASUDEVA RAO Y., DAS B. K., JYOTYRMAYEE P., CHAKRABARTI R. (2006): *Effect of Achyranthes aspera on the immunity and survival of Labeo rohita infected with Aeromonas hydrophila*, «Fish & Shellfish Immunology», 20, pp. 263-273.
- VASUDEVA RAO Y., ROMESH M., SINGH A., CHAKRABARTI R. (2004): *Potentiation of antibody production in Indian major carp Labeo rohita, rohu, by Achyranthes aspera as a herbal feed ingredient*, «Aquaculture», 238, pp. 67-73.
- WATANUKI H., OTA K., TASSAKKA M.A.C.A.R., KATO T., SAKAI M. (2006): *Immunostimulant effects of dietary Spirulina platensis on carp, Cyprinus carpio*, «Aquaculture», 258, pp. 157-163.
- WEI L.S., MUSA N., SENG M. C.T., WEE W., SHAZILI N.A.M. (2008): *Antimicrobial properties of tropical plants against 12 pathogenic bacteria isolated from aquatic organisms*, «African Journal of Biotechnology», 7, pp. 2275-2278.
- WU C.C., LIU C.H., CHANG Y.P., HSIEH S.L. (2010): *Effects of hot-water extract of Toona sinensis on immune response and resistance to Aeromonas hydrophila in Oreochromis mossambicus*, «Fish & Shellfish Immunology», 29, pp. 258-263.
- WU G., YUAN C., SHEN M., TANG J., GONG Y., LI D., SUN F., HUANG C., HAN X. (2007): *Immunological and biochemical parameters in carp (Cyprinus carpio) after Qompsell feed ingredients for long-term administration*, «Aquaculture Research», 38, pp. 246-255.
- XIE J., LIU B., ZHOU Q., SU Y., HE Y., PAN L., GE X., XU P. (2008): *Effects of anthraquinone extract from rhubarb Rheum officinale bail on the crowding stress response and growth of common carp Cyprinus carpio var. Jian*, «Aquaculture», 281, pp. 5-11.
- YIAGNISIS M., ALEXIS M.N., BITCHAVA K., GOVARIS A., ATHANASSOPOULOU F. (2009): *Effect of dietary oregano essential oil supplementation on combined infections by pathogenic bacteria- parasites (sea lice and copepods) in European sea bass Dicentrarchus labrax L.*, Atti 14<sup>th</sup> International Conference of EAAP, Praga (Repubblica Ceca), 14-19 settembre, pp. 139.
- YIN G., ARDÒ L., THOMPSON K.D., ADAMS A., JENEY Z., JENEY G. (2009): *Chinese herbs (Astragalus radix and Ganoderma lucidum) enhance immune response of carp, Cyprinus carpio, and protection against Aeromonas hydrophila*, «Fish & Shellfish Immunology», 26, pp. 140-145.
- YIN G., JENEY G., RACZ T., XU P., JUN X., JENEY Z. (2006): *Effect of two Chinese herbs (Astragalus radix and Scutellaria radix) on non-specific immune response of tilapia, Oreochromis niloticus*, «Aquaculture», 253, pp. 39-47.
- ZHANG G., GONG S., YU D., YUAN H. (2009): *Propolis and Herba Epimedii extracts enhance the non-specific immune response and disease resistance of Chinese sucker, Myxocyprinus asiaticus*, «Fish & Shellfish Immunology», 26, pp. 467-472.
- ZHENG Z.I., TAN J.Y.W., LIU H.Y., ZHOU X.H., XIANG X., WANG K.Y. (2009): *Evaluation of oregano essential oil (Origanum heracleoticum L.) on growth, antioxidant effect and resistance against Aeromonas hydrophila in channel catfish (Ictalurus punctatus)*, «Aquaculture», 292, pp. 214-218.



GIOVANNI BERNARDINI\*, ROSALBA GORNATT\*, GENCIANA TEROVA\*,  
MARCO SAROGLIA\*

## Approccio molecolare per misurare la qualità in acquacoltura

Lo studio dei marcatori molecolari per monitorare la qualità, lo stato di benessere o qualsivoglia altra condizione fisiologica o patologica del pesce può essere affrontata in modi differenti e la biologia molecolare ne offre una certa varietà. Proprio con queste tecniche, nel corso di questi ultimi anni, abbiamo collezionato una serie di biomarcatori per mezzo dei quali possiamo “porre delle domande” al pesce e “ottenere” delle risposte. HSP70 (Heat shock protein 70), HSP90, HMGC<sub>o</sub>A (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase) e BDNF (Brain derived neutrophic factor) ci danno indicazioni sul benessere (Gornati et al., 2004, Gornati et al., 2005; Tognoli et al., 2010), grazie alla miostatina, alla miosina e ai fattori di crescita abbiamo indicazioni sulla crescita (Terova et al., 2006; Terova et al., 2007a) mentre la grelina e la gastricsina possono essere correlate all'appetito e alla digestione (Terova et al., 2007b; Terova et al., 2008a). Altri biomarcatori ci indicano cambiamenti ambientali correlati alla temperatura (WAP, warm acclimation protein), all'ipossia (HIF, hypoxia inducible factor) o alla carica batterica (epcidina) (Rossi et al., 2007; Terova et al., 2008b). Il grande vantaggio dell'utilizzo di tali biomarcatori è rappresentato dalla precocità e precisione dell'informazione. I marcatori molecolari infatti, per la loro natura, sono in grado di descrivere una risposta immediata a livello genico alle pressioni ambientali, quindi di monitorare il percorso qualitativo della filiera molto prima che in essa compaiano caratteri zootecnici, immunologici o patologici indesiderati, causati da errori nei protocolli di gestione. Le informazioni ottenute in seguito a questo studio sono raggruppate nella tool-box (tab. 1) dove sono elencati alcuni dei più noti geni descrittivi di caratteri ritenuti di rilievo per la filiera biologica dell'acquacoltura. Questi biomarcatori possono

\* *Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari, Università degli Studi dell'Insubria*

essere misurati velocemente e precisamente grazie alla PCR quantitativa detta real-time-PCR. Questa tecnica è in grado di monitorare la formazione del prodotto di PCR mentre avviene (cioè, in tempo reale). Questa tecnologia ha dato prova di essere riproducibile e affidabile. Il principale svantaggio della real time è il costo piuttosto alto di ogni reazione a causa della sonda specifica da sintetizzare ad hoc. Ultimamente, tuttavia, si è fatto largo l'impiego della real time usando, con primer specifici, un intercalante fluorescente, il SYBR Green. Tale molecola, legandosi al dsDNA permette la rilevazione dei prodotti di PCR a ogni ciclo. Lo svantaggio che ha l'uso del SYBR Green sulla sonda specifica è che il SYBR Green segnalerà tutto il dsDNA, compresi i prodotti di reazione non-specifici. A fronte quindi di costi decisamente minori e di maggior semplicità d'uso è essenziale, per ottenere risultati accurati, una reazione ben ottimizzata. Misurando la degradazione dell'RNA totale, quella del messaggero di alcuni geni selezionati o quella di alcune proteine è anche possibile, in linea di principio, determinare come e per quanto tempo il pesce sia stato conservato dopo la morte. L'importanza della conservazione del pesce per ritardare il deterioramento *postmortem* è cosa nota. Per questo motivo abbiamo iniziato la ricerca di marcatori molecolari che possano aiutare a compiere una valutazione oggettiva dello stato di conservazione del pesce intero o dei prodotti lavorati.

Recentemente, abbiamo studiato i processi biologici *postmortem* grazie a tecniche di elettroforesi bidimensionale e di spettrometria di massa (2D DIGE e MALDI-TOF). All'inizio della prova trenta esemplari di spigola sono stati pescati e in seguito macellati con tre modalità diverse: dieci per asfissia all'aria, altri per asfissia/ipotermia in acqua+ghiaccio e i rimanenti dieci, per recisione del midollo spinale. In seguito, ognuno dei gruppi sperimentali è stato suddiviso in due sottogruppi di 5 esemplari, conservati per 5 giorni *postmortem* all'interno di due termostati alle rispettive temperature di 18° C e di 1° C. Il primo campionamento è stato eseguito al momento della morte (tempo zero), prelevando un cubetto di tessuto muscolare dal quadrante muscolare latero-dorsale (epiassiale) di ciascun pesce. I successivi sei prelievi sono stati eseguiti allo stesso modo dopo 2, 4, 24, 48 ore, quindi dopo 3 e 5 giorni di conservazione *postmortem* alle rispettive temperature. Tutti i frammenti muscolari prelevati sono stati sottoposti alle analisi proteomica, utilizzando la tecnica dell'elettroforesi bidimensionale differenziale o DIGE, una tecnica modernissima che rende possibile l'analisi e il confronto simultaneo di centinaia di proteine presenti in campioni biologici diversi, aiutando sia nell'identificazione e sia nella quantificazione delle proteine espresse in modo diverso. L'indagine proteomica presentata (fig. 1), unitamente allo studio della proteomica differenziale che è stata parte integrante dello studio,

GENE	GENE BANK A.N.	SPECIE DI TELEOSTEI	FUNZIONE FISIOLÓGICA DELLA PROTEINA CODIFICATA DAL GENE	
			Stress	Digestione Nutrizione Crescita
Glucocorticoid Receptor	AY549305	<i>D. labrax</i>	+	-
	AY863149	<i>S. trutta</i>	+	-
HIF-1 $\alpha$	DQ171936	<i>D. labrax</i>	+	-
Glucose-transporter 2	EF014277	" "	+	+
Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)	DQ915807	" "	+	-
Heat shock protein 70 (HSP70)	AY423555	" "	+	-
Heat shock protein 90 (HSP90)	AY395632	" "	+	-
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGCoAR)	AY424801	" "	+	+
Proto-oncogene protein (c-Fos)	DQ838581	" "	+	-
Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> exchanger (NHE-1)	EU180587	" "	+	-
Intestinal oligopeptide transporter-1 (PepT1)	GU733710	<i>S. aurata</i>	-	+
	FJ237043	<i>D. labrax</i>		
Ghrelin	DQ665912	" "	-	+
Pepsinogen C	EF690286	" "	-	+
Fatty acid $\Delta 6$ -desaturase	EU647692	" "	-	+
Insulin-like growth factor -1 (IGF1)	AY800248	" "	-	+
Insulin-like growth factor-2 (IGF2)	AY839105	" "	-	+
Insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP- 2)	EU526670	" "	-	+
Fibroblast growth factor-6 (FGF6)	AY831723	" "	-	+
Lipin1	EU644089	" "	-	+
Leptin	In progress	" "	-	+
Myostatin	AY839106	" "	-	+
Myosin heavy chain	DQ317302	" "	-	+
Beta Actin	AY148350	" "	-	+
Alpha-actinin	HM147821	" "	-	-
Cathepsin L	FJ807676	" "	-	-
Calpain 1	FJ821591	" "	-	-
Bile-salt activated lipase (bal)	EU647691	" "		+

Tab. 1 Geni identificati come descrittori di caratteri ritenuti di rilievo per la filiera biologica dell'acquacoltura e funzione fisiologica/ambito di impiego

ha consentito di individuare le proteine più idonee a uno studio della qualità *postmortem* riconducibile agli standard di vita del pesce e al percorso di macellazione-conservazione del prodotto.

Importante, inoltre, può essere l'uso di tecniche molecolari per contrastare le frodi alimentari. Esiste un'accresciuta competizione nel mercato globale tra le aziende che producono specie ittiche da acquacoltura e hanno il mercato italiano come bersaglio. Con i costi ormai affrontabili del trasporto aereo, non solamente i prodotti delle regioni mediterranee, ma anche quelli dell'Estremo Oriente riescono a raggiungere i mercati europei a prezzi competitivi, anche se con standard di qualità non facilmente verificabili e spesso non conformi ai nostri regolamenti nazionali o comunitari. Tra le frodi più diffuse c'è l'etichettatura mancante o errata, che determina una falsa "carta d'identità", una mancata tracciabilità del prodotto e la conseguente vendita di prodotti scongelati spacciati per freschi, di prodotti allevati spacciati per prodotti di cattura, di specie diverse da quelle dichiarate. La frode di sostituzione di specie si inserisce nella categoria delle frodi per contraffazione, cioè sostituzione di alimenti con altri di minor pregio ma con caratteristiche macroscopiche assai affini. La vendita di specie diverse da quelle dichiarate è molto diffusa nel settore ittico. L'identificazione morfologica, non sempre facile da attuare data l'elevata varietà di specie, non è applicabile su prodotti ittici venduti in tranci e filetti, lavorati e trasformati. Le implicazioni economiche non sono le uniche conseguenze correlate a questo tipo di frode. La corretta identificazione della specie, in ambito ecologico, facilita sia la tutela delle specie protette che il controllo del rispetto del fermo biologico per una pesca responsabile, mentre, in ambito sanitario, permette il monitoraggio di quelle "nuove" specie, potenzialmente tossiche, che stanno popolando mari che prima non costituivano il loro habitat naturale.

L'identificazione delle specie ittiche si può basare sulla separazione e caratterizzazione di proteine specie-specifiche, utilizzando tecniche elettroforetiche o dosaggi immunoenzimatici. Un approccio completamente diverso si basa invece sull'analisi del DNA genomico. In linea generale, un approccio proteico è sfavorito rispetto a un approccio basato sull'analisi del DNA perché le macromolecole proteiche possono essere distrutte o modificate da alcuni processi come il calore o l'essiccamento a cui i prodotti possono essere sottoposti durante le varie fasi della loro lavorazione e perché il pattern proteico può variare a seconda del tessuto in esame o della fase del ciclo vitale (es. uova o novellame rispetto al pesce adulto).

L'utilizzo di metodi di identificazione delle specie ittiche basati sul DNA presenta numerosi vantaggi rispetto a quelli basati sulle proteine come una

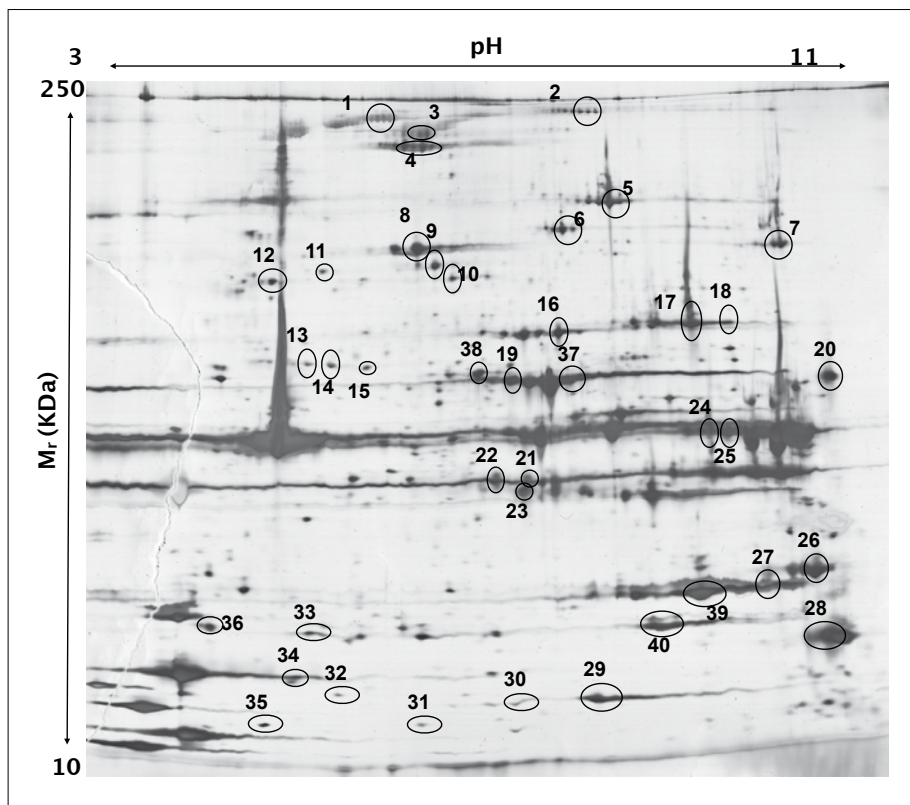


Fig. 1 Elettroforesi bidimensionale di proteine totali del muscolo di spigola (*Dicentrarchus labrax*)

maggior specificità e sensibilità, una buona affidabilità anche in campioni processati (il DNA è una molecola altamente termostabile) e la potenzialità di fornire un quantitativo maggiore di informazioni grazie alla degenerazione del codice genetico e alla presenza di regioni specie-specifiche non codificanti all'interno del genoma. Inoltre l'informazione contenuta nelle molecole di DNA è uguale in tutte le cellule e non varia a seconda dell'età, del tipo di tessuto, dell'alimentazione e delle condizioni fisiologiche. Quindi, abbiamo deciso di perseguire la via dell'analisi del DNA genomico e per far questo abbiamo individuato, nel gene codificante per l'rRNA ribosomiale 5S, un target genetico già utilizzato in diversi lavori (Pendas et al., 1994; Carrera et al., 2000; Asensio et al., 2001; Karaïskou et al., 2003; Moran et al., 2006), che consente, per le caratteristiche della sua sequenza, di discriminare specie diverse semplicemente confrontando la lunghezza delle bande dei prodotti di PCR, senza dover ricorrere al sequenziamento. Il gene codificante per l'rRNA

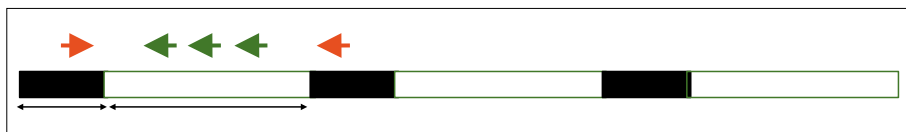


Fig. 2 Gene per l'rRNA 5S. In nero è riportata la sequenza conservata e i relativi primer "universali", in bianco è riportata la sequenza specie-specifica e i diversi primer specie-specifici

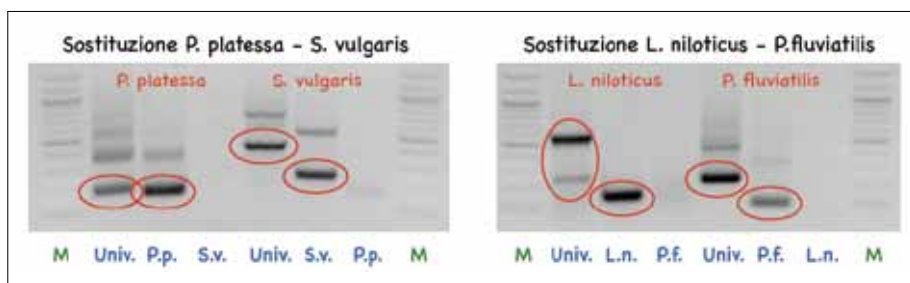


Fig. 3 Esempi di gel di elettroforesi in agarosio all'1% che dimostrano l'efficacia dell'approccio scelto per identificare le specie ittiche che vengono normalmente scambiate in caso di frode alimentare. Le bande sono state ottenute amplificando il DNA genomico delle specie riportate in rosso con i primer "universali" (Univ.) o i primer specifici delle specie riportate in blu (P.p. = *Pleuronectes platessa*, S.v. = *Solea vulgaris*, L.n. = *Lates niloticus*, P.f. = *Perca fluviatilis*). "M" indica il marker "100bp DNA ladder" (New England Biolabs)

ribosomale 5S è infatti costituito da una sequenza codificante di 120 nucleotidi, molto conservata tra le specie, e una sequenza non codificante (non transcribed spacer, NTS), che varia da specie a specie sia in lunghezza che in sequenza (fig. 2).

Abbiamo recentemente dimostrato che è possibile discriminare le diverse specie con la tecnica PCR eseguita con primer "universali" disegnati sulla sequenza conservata e con primer specifici disegnati sulla sequenza dell'NTS. Entrambe le sequenze possono essere amplificate nella stessa reazione con una PCR multiplex (attualmente tale tecnica trova la sua applicazione più frequente in diagnostica). Così concepita l'analisi richiede solo alcune ore e potrebbe essere condotta anche in laboratori mobili. Qualora sorgessero contestazioni, basterebbe procedere al sequenziamento.

#### RIASSUNTO

Lo studio dei marcatori molecolari utili per monitorare la qualità in acquacoltura può essere affrontata in modi differenti e la biologia molecolare ne offre una certa varietà.

Proprio con queste tecniche, nel corso di questi ultimi anni, abbiamo collezionato una serie di biomarcatori per mezzo dei quali possiamo porre delle domande al pesce e ottenere delle risposte. I marcatori molecolari, per la loro natura, sono in grado di descrivere una risposta immediata a livello genico alle pressioni ambientali, quindi di monitorare il percorso qualitativo della filiera molto prima che in essa compaiano caratteri zootecnici, immunologici o patologici indesiderati, causati da errori nei protocolli di gestione.

#### ABSTRACT

Molecular biomarkers are useful to evaluate quality in aquaculture. By means of these techniques, in the last few years, we have obtained several biomarkers (put together in a sort of tool-box) that we use to question the fish and obtain the right answer.

#### BIBLIOGRAFIA

- ASENSIO L., GONZÁLEZ I., FERNÁNDEZ A., CÉSPEDES A., RODRÍGUEZ M.A., HERNÁNDEZ P.E., GARCÍA T. AND MARTÍN R. (2001): *Identification of Nile Perch (Lates niloticus), Grouper (Epinephelus guaza) and Wreck Fish (Polyprion Americanus) fillets by PCR amplification of the 5S rDNA gene*, «Journal of AOAC international», 84 (3), pp. 777-781.
- CARRERA E., GARCÍA T., CÉSPEDES A., GONZÁLEZ I., FERNÁNDEZ A., ASENSIO L.M., HERNÁNDEZ P.E., MARTÍN R. (2000): *Differentiation of smoked Salmo salar, Oncorhynchus mykiss and Brama raii using the nuclear marker 5S rDNA*, «International journal of food science and technology», 35, pp. 401-406.
- GORNATI R., PAPIS E., RIMOLDI S., CHINI V., TEROVA G., PRATI M., SAROGLIA M., BERNARDINI G. (2005): *Molecular markers for animal biotechnology: sea bass (Dicentrarchus labrax, L.) HMG-CoA reductase mRNA*, «Gene», 344, pp. 299-305.
- GORNATI R., TEROVA G., VIGETTI D., PRATI M., SAROGLIA M., BERNARDINI G. (2004): *Effects of population density on seabass (Dicentrarchus labrax) gene expression*, «Aquaculture», 230, pp. 229-239.
- KARAIKOU N., TRIANTAFYLIDIS A. AND TRIANTAPHYLIDIS C. (2003): *Discrimination of three Trachurus species using both mitochondrial- and nuclear-based DNA approaches*, «J. Agric. Food Chem.», 51 (17), pp. 4935-4940.
- MORAN P., GARCIA-VAZQUEZ E. (2006): *Identification of highly prized commercial fish using a PCR-based methodology*, «Biochemistry and molecular biology education», 34 (2), pp. 121-124.
- PENDAS A.M., MORAN P., FREIJE J.P. AND GARCIA-VAZQUEZ E. (1994): *Chromosomal mapping and nucleotide sequence of two tandem repeats of Atlantic salmon 5S rDNA*, «Cytogenet Cell Genet», 67 (1), pp. 31-36.
- ROSSI F., CHINI V., CATTANEO A.G., BERNARDINI G., TEROVA G., SAROGLIA M., GORNATI R. (2007): *EST-based identification of genes expressed in perch (Perca fluviatilis, L.)*, «Gene expression», 14, pp. 117-127.
- TEROVA G., BERNARDINI G., BINELLI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2006): *cDNA encoding sequences for myostatin and FGF6 in sea bass (Dicentrarchus labrax, L.) and the*

- effect of fasting and refeeding on their abundance levels*, «Domest Anim Endocrinol.», 30, pp. 304-319.
- TEROVA G., RIMOLDI S., BERNARDINI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2008a): *Sea bass ghrelin: molecular cloning and mRNA quantification during fasting and refeeding*, «Gen. & Comp. Endocrinology», 155, pp. 341-351.
- TEROVA G., RIMOLDI S., CHINI V., GORNATI R., BERNARDINI G., SAROGLIA M. (2007a): *Cloning and expression analysis of insulin-like growth factor I and II in liver and muscle of sea bass (Dicentrarchus labrax, L.) during long-term fasting and refeeding*, «Journal of Fish Biology», 70, pp. 219-233.
- TEROVA G., RIMOLDI S., CORÀ S., BERNARDINI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2008b): *Acute and chronic hypoxia affects HIF-1 $\alpha$  mRNA levels in sea bass (Dicentrarchus labrax)*, «Aquaculture», 279, pp. 150-159.
- TEROVA G., RIMOLDI S., LARGHI S., BERNARDINI G., GORNATI R., SAROGLIA M. (2007b): *Regulation of progastrin mRNA levels in sea bass (Dicentrarchus labrax) in response to fluctuations in food availability*, «Biochemical and Biophysical Research Communications», 363, pp. 591-596.
- TOGNOLI C., ROSSI F., DI COLA F., BAJ G., TONGIORGI E., TEROVA G., SAROGLIA M., BERNARDINI G., GORNATI R. (2010): *Acute stress alters transcript expression pattern and reduces processing of proBDNF to mature BDNF in Dicentrarchus labrax*, «BMC Neuroscience», 11 (4), pp. 1-17.

## Standard di qualità per l'acquacoltura, biologica inclusa

### INTRODUZIONE

La produzione ittica mondiale, nel 2008 pari a 144,2 milioni di tonnellate (di cui 91 da cattura e 53,2 da acquacoltura), viene destinata per oltre il 75% al consumo umano (16,7 kg/pro capite/anno) e per la restante parte viene trasformata in farina e olio di pesce. Sulla base delle attuali proiezioni di crescita della popolazione, la FAO (2006) ha stimato che saranno richiesti ogni anno almeno 40 milioni di tonnellate aggiuntive di prodotti ittici per mantenere l'attuale consumo pro capite fino al 2030. L'acquacoltura concorre ormai a oltre il 50% della produzione ittica a livello europeo e nazionale, in seguito al graduale depauperamento degli stock ittici e loro sovra-sfruttamento che si sta manifestando da diversi anni. Tuttavia la capacità produttiva totale risulta ancora insufficiente a coprire i consumi, tanto che più del 65% deve essere importato. Per dare un esempio, con l'ultimo elenco ministeriale delle denominazioni in lingua italiana delle specie ittiche di interesse commerciale (G.U. n. 124 del 29.05.2010) si è raggiunto il numero di circa 800 diverse specie presenti sul mercato, di cui circa 530 di pesci, 120 di crostacei, 142 di molluschi (66 bivalvi, 56 cefalopodi e 20 gasteropodi), gran parte delle quali di importazione da paesi in via di sviluppo. Lo stesso accade nella maggior parte degli stati membri della CE. In teoria l'acquacoltura dei Paesi industrializzati dovrebbe essere potenzialmente in grado di produrre quantitativi di pesce sufficienti a colmare il gap tra la richiesta dei propri consumatori e l'offerta del pescato. Tuttavia, i gravi problemi di concorrenza – spesso sleale – con prodotti che vengono offerti in grande massa e sottocosto da parte di Paesi terzi

\* *Dipartimento di Biotecnologie agrarie, Sezione Scienze animali, Università degli Studi di Firenze*

(che peraltro spesso non seguono le stringenti norme europee per la gestione e/o il controllo degli impianti e/o dei prodotti e le norme sul lavoro minorile), esercitano un effetto inibente sulla crescita produttiva a livello europeo, tanto che si calcola che essa non arrivi a superare il 2% annuo (FAO, 2006). L'espansione globalizzata del mercato e la forte competizione esercitata dalle nazioni extra-EU rendono dunque necessaria una valorizzazione della produzione dell'acquacoltura nazionale ed europea che ne permetta una effettiva differenziazione rispetto al prodotto di importazione dai paesi terzi. Tale valorizzazione dovrebbe essere capace di convincere il consumatore a scegliere prodotto ittico "locale", di qualità e sicurezza certo "più credibile", innescando di conseguenza un processo di incremento del tasso di autosufficienza utile sia all'acquacoltura che alla bilancia dei pagamenti.

Gli imprenditori ittici dovranno dunque mettere in atto strategie produttive e di marketing che li rendano in grado di accrescere la propria capacità di competizione per soddisfare le sempre maggiori esigenze di sicurezza, qualità e trasparenza dei prodotti alimentari dei consumatori nazionali ed europei. L'industria deve infatti essere consapevole che l'attitudine e l'interesse del consumatore per l'informazione sull'alimento sono cambiate, passando da "tell me" a "show me" fino all'attuale "prove me" (Consensus).

Fortunatamente il pesce è percepito come un alimento salubre e nutritivo e il consumatore europeo lo acquista basandosi principalmente sulla *freschezza* e sul *prezzo*. Tuttavia il consumatore richiede una informazione credibile non solo sulla sicurezza del prodotto, dovuta per legge, ma anche sulla qualità del prodotto (origine, freschezza, aspetti nutrizionali, diversificazione del prodotto, innovazione), sugli aspetti sociali ed etici delle produzioni (benessere animale e sicurezza sul lavoro) e sugli aspetti ambientali (metodo di allevamento, inquinamento, modificazioni genetiche). L'applicazione di buone pratiche operative (GMP) negli impianti di acquacoltura, a bordo e durante la conservazione, lavorazione e trasformazione, sono essenziali per mantenere livelli qualitativi ben definiti, essendo il prodotto ittico un alimento delicato e facilmente deteriorabile.

Si ricorda infatti che "il pacchetto igiene" ha ormai esteso la necessità di un autocontrollo delle operazioni anche alla produzione primaria, esigendo la stesura e l'applicazione di Buone Pratiche Operative pur senza arrivare in questo caso a esigere l'applicazione dell'HACCP. Standard di qualità ben definiti ed etichettatura ben mirata dovrebbero facilitare gli scambi e guidare l'industria ittica verso il miglioramento dell'intera filiera produttiva, promuovendo la fornitura di prodotti ittici di sempre migliore qualità per il consumatore.

Uno dei più importanti colli di bottiglia per l'industria acquacolturale è legato al fatto che l'intensificazione/specializzazione della produzione, delle specie carnivore in particolare, ha creato una crescente pressione sui sottoprodotti ittici (farina e olio), alimenti ottimali per queste specie, perché in grado di fornire un buon bilancio di proteina e lipidi di alta qualità, in una forma compatta di energia, altamente digeribile. D'altra parte, la pesca è una risorsa in diminuzione e il continuo sfruttamento degli stock ittici, per andare incontro alla domanda di un mercato in espansione, implica importanti conseguenze ambientali (Tonon et al., 2002). La futura prospettiva dell'industria acquacolturale si presenta dunque costretta a seguire una tendenza, peraltro già iniziata da alcuni anni, verso una vera sostenibilità in termini di graduale diminuzione dell'uso della farina di pesce e olio di pesce nei mangimi e loro sostituzione con quantità crescenti di altre sorgenti alimentari, prevalentemente di origine vegetale, alghe incluse.

Purtroppo, la necessità di cambiare gradualmente la formulazione dei mangimi produrrà anche gradualmente cambiamenti nelle caratteristiche della qualità del pesce, con riflessi sulla composizione della porzione edule e sulla salubrità al consumo. Di qui la necessità di un monitoraggio del prodotto, scegliendo utili standard quali punti di riferimento per favorire le giuste scelte dei mangimisti e degli allevatori tese a rimanere in grado di offrire con costanza un prodotto di acquacoltura sicuro, di buona qualità e salubrità per il consumatore. Ecco dunque la necessità di stabilire standard di qualità ben definiti su base scientifica per ciascuna specie allevata e, nell'ambito di ciascuna specie, a seconda delle differenti strategie di alimentazione e delle differenti condizioni di allevamento, biologico incluso, da usare come una guida per assicurare che ogni sviluppo delle tecniche produttive non risulti in una diminuzione della qualità del prodotto al di sotto degli standard stabiliti.

La differenziazione dei prodotti ittici allevati a livello nazionale ed europeo rispetto a quelli di importazione offrirà una più ampia scelta ai vari gruppi di consumatori Europei che presentano diverse preferenze (i.e. giovani, adulti, bambini, anziani...). Questo sforzo appare auspicabile anche perché i consumatori esprimono ancora attitudini negative verso i prodotti allevati e appaiono confusi sull'origine dei prodotti che stanno acquistando, mentre manifestano un discreto interesse in generale per esempio verso la produzione biologica. Peraltro, le problematiche della sostenibilità dell'allevamento, del benessere degli animali allevati, della sicurezza e della qualità dei prodotti, richieste dal consumatore, possono essere affrontati nel loro complesso sia con la tradizionale acquacoltura di buon livello, già regolamentata e sottoposta a innumerevoli controlli lungo l'intera filiera, che secondo le procedu-

re di acquacoltura biologica ora regolamentata a livello europeo (Regg. CE 834/2007; 889/2008; 710/2009) per ottenere la relativa certificazione per la quale è stato fissato il nuovo logo europeo valido dal luglio del 2010.

L'applicazione di metodi moderni di controllo della qualità e rintracciabilità dei prodotti ottenuti, combinata a un maggiore flusso di informazioni dovrebbe rendere il consumatore sempre più a suo agio con il prodotto allevato. Nel complesso ne deriverà la promozione di una maggiore razionalizzazione del settore ittico, lo sviluppo di prodotti di qualità più salubri, con miglioramento dell'immagine del prodotto ittico e del settore ittico in generale. Il messaggio sulla accertata sicurezza/qualità del prodotto di acquacoltura diverrà in questo modo familiare e affidabile per il consumatore aumentando la competitività delle imprese e dando loro un vantaggio commerciale attraverso il miglioramento del margine di profitto e di vendite più stabili.

#### I. QUALITÀ, PARAMETRI DI QUALITÀ E FATTORI DI INFLUENZA

Come noto, la norma UNI EN ISO 8402 (1995) dà una definizione molto generale di *Qualità* indicandola come il complesso delle caratteristiche di un'entità che ne determina la capacità di soddisfare esigenze espresse o implicite del consumatore. Riferendosi ai prodotti alimentari, quelli ittici in particolare, il concetto di qualità assume contorni assai complessi, implicando i numerosi aspetti che interessano il consumatore. Infatti, ferma restando la sicurezza, pre-requisito di qualità per tutti gli alimenti (Regg. CE 852, 853/ 2004), ciascuna specie possiede sue proprie caratteristiche morfologiche, organolettiche e nutrizionali che determinano la scelta della specie da parte del consumatore. In particolare freschezza, *shelf life* e integrità/qualità/salubrità al consumo assumono primaria importanza anche per la peculiare maggiore suscettibilità al deterioramento dei prodotti ittici rispetto alle altre carni. Nondimeno, taglia, tipo di prodotto (intero o variamente lavorato e preparato), disponibilità sul mercato, praticità di uso e convenienza, ovvero rapporto qualità/prezzo, sono aspetti importanti come per tutti gli alimenti (Oehlenschläger et al., 1998; Olafsdóttir et al., 2004).

Per ciascuna specie, l'aspetto esteriore appropriato del prodotto viene valutato mediante parametri che ne descrivono la morfologia, le caratteristiche merceologiche e il colore della livrea. Le caratteristiche fisiche e organolettiche vengono valutate mediante l'andamento delle fasi di *rigor mortis* (fase *pre rigor*, pieno *rigor*, fase di rilascio del *rigor*), delle proprietà dielettriche del pesce, dello stato di freschezza/qualità ovvero aspetto generale, odore e colore

delle branchie, consistenza, elasticità e colore della carne sul crudo e consistenza, colore, sapore, aroma e succosità delle carni sul cotto. La *shelf life* può essere valutata sia monitorando l'evoluzione dei parametri di freschezza sopra menzionati, che tramite l'evoluzione della proliferazione microbica, determinata come carica batterica totale o come carica dei singoli organismi specifici del deterioramento (S.S.O) che si sviluppano alle condizioni di conservazione prescelte (*Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Shewanella*...). Per lo più, comunque, il prodotto viene considerato da scartare prima che la carica batterica totale giunga alla soglia dello scarto ( $10^7$  ufc/g), con un'accelerazione legata all'effetto dominante dell'entità dei processi autolitici *post mortem*.

Anche la carica energetica delle carni è un buon indice di qualità del pesce ed è valutata sulla base della concentrazione di ATP e dei suoi cataboliti e loro rapporti, misurandole tramite uso di HPLC o con biosensori, in grado questi ultimi di fornire risultati attendibili e specifici in breve tempo. Tali parametri sono particolarmente utili sia per valutare lo stato del pesce alla morte che la condizione di freschezza del pesce e i cambiamenti di qualità durante il periodo di conservazione. Veri estimatori di questi parametri sono i giapponesi, grandi esperti di freschezza del pesce da consumare crudo.

Le caratteristiche chimiche, nutrizionali e dietetiche, tipiche della specie (risultato anche dei parametri esogeni che si sono esercitati *in vita*, quantità, qualità e strategia di alimentazione in particolare), vengono valutate tramite analisi delle proteine, dei lipidi, di sostanze minerali ma soprattutto della quantità e qualità di aminoacidi, acidi grassi, colesterolo, fosfolipidi e lipidi neutri, somma EPA+DHA, rapporto n-3/n-6 e così via. In proposito deve essere ricordato che il consumatore europeo mostra da tempo un crescente interesse nei confronti di una condotta alimentare rivolta alla salubrità ed è stato proprio questo atteggiamento che ha favorito il crescente apprezzamento dei prodotti ittici, il cui consumo è stato correlato positivamente a una minore incidenza di malattie coronariche, a discapito dell'utilizzo delle carni degli animali terricoli (Verbeke et al., 2007). Nel caso di significativi cambiamenti di dieta dei pesci allevati, che vadano a riflettersi in cambiamenti della composizione in acidi grassi della porzione edule, il parametro "salubrità al consumo" del prodotto diviene un altro importante aspetto della qualità da misurare. Per avere una indicazione su tale parametro vengono utilizzate prove di intervento su soggetti umani, valutando i cambiamenti dei biomarkers circolatori di patologie nell'uomo in seguito al consumo del prodotto da esaminare. Questo sistema permette di controllare che siano effettivamente mantenuti gli effetti benefici protettivi sulla salute riconosciuti al consumo di pesce.

Altri aspetti utili per la valutazione dei cambiamenti di qualità nelle fasi finali della *shelf life* sono i tenori di amine biogene (istamina, putrescina, cadaverina), i composti secondari della ossidazione dei lipidi (malonaldeide) e le diverse combinazioni di composti volatili dell'odore, esaminate tramite metodi strumentali colorimetrici, HPLC, gas cromatografia, spettrometro di massa o naso elettronico di diversa tipologia.

Quanto ai principali fattori di variazione delle principali caratteristiche qualitative del prodotto ittico, nell'ambito della specie, possono essere ricordate l'origine, la tipologia di produzione (ovvero se sono stati pescati o allevati), le condizioni di allevamento, le strategie alimentari, la taglia commerciale e la stagione della cattura/raccolta. Fra i più importanti fattori di variazione delle caratteristiche morfologiche, nutrizionali e dietetiche nei pesci allevati possiamo ricordare la tipologia di allevamento. Generalmente i soggetti allevati in gabbie galleggianti presentano, rispetto a quelli allevati in vasche a terra, meno grasso sia a livello dei visceri che del filetto e migliore qualità sensoriale. Questo può essere dovuto al maggiore sforzo natatorio dei pesci, anche per contrastare le correnti marine, ma soprattutto al più basso livello nutritivo che deriva dalla più discontinua distribuzione dell'alimento per problemi meteo-marini. Nel complesso il diverso stato nutrizionale, un più alto consumo energetico/attività di nuoto e l'idrodinamismo nella gabbia sono alla base delle principali differenze che li fanno avvicinare alle caratteristiche del prodotto pescato. Sempre in relazione al fattore "sistema di allevamento", i pesci prodotti in condizioni estensive, vedi allevamenti in laguna ormai molto ridotti, presentano generalmente alcune differenze nella morfologia (meno corpulenti), colore più accentuato, maggiore compattezza delle carni, meno grasso e diversa composizione acidica (generalmente maggiore incidenza di saturi) nel filetto rispetto ai pesci allevati in condizioni intensive. Non ci sono notizie documentate per quanto riguarda il prodotto di acquacoltura biologica per cui è evidente l'interesse e l'utilità di studiare standard specifici della qualità anche per i pesci prodotti in acquacoltura biologica. Forse è utile sottolineare che la maggior parte delle differenze legate alla diversa condizione di allevamento sono dovute soprattutto alla diversa strategia alimentare a essa legate. I fattori dietetici, infatti, contribuiscono al controllo del metabolismo dei soggetti allevati, come dimostrano i cambiamenti riscontrati nella espressione di molte proteine in seguito a cambiamenti di dieta e la possibilità di indirizzare diversamente l'andamento dell'accrescimento relativo dei tessuti osseo, muscolare e adiposo con cambiamenti negli aspetti morfologici e composizione corporea del pesce. Le differenze nella dieta possono arrivare anche a comportare alcune differenze nei parametri di qualità fisico-chimica

e nutrizionale dei prodotti. Un chiaro esempio è fornito dai cambiamenti nella composizione del quadro acidico e nella texture che si sono verificati nei soggetti alimentati con elevati livelli di sorgenti vegetali in sostituzione della farina di pesce (de Francesco et al., 2004; de Francesco et al., 2007).

A prescindere dalla storia alimentare, inoltre, alcuni aspetti di qualità possono differire anche a seconda della taglia commerciale e sono dovuti al fatto che con l'aumentare del peso corporeo e dell'età del pesce, il tessuto muscolare e soprattutto il grasso mesenterico aumentano la loro incidenza mentre quella del tessuto osseo diminuisce. Un aspetto decisamente positivo che si manifesta con l'aumentare della taglia del pesce, entro certi limiti, è la più favorevole resa in porzione edule per il consumatore rispetto alla taglia minima "porzione".

Anche la diversa stagione è importante nei paesi mediterranei: alla fine dell'estate e inizio autunno vengono riscontrati incrementi nella resa in filetti e nei depositi di grasso, perché in questo periodo i pesci mangiano di più, mentre alla fine dell'inverno vengono trovati minori depositi di grasso e maggiore resa in peso eviscerato, per il minor peso del pacchetto viscerale.

Una condizione di benessere animale, garantita durante l'allevamento grazie al controllo di tutta una serie di parametri relativi alla qualità dell'acqua e dell'alimento, alla corretta densità e al buono stato di salute, è alla base di un buon accrescimento e sviluppo degli animali da carne che diverranno in grado di fornire un ottimo prodotto per il consumatore. Tuttavia, analogamente a quanto verificato in tutti gli animali da carne, sono le corrette procedure al momento della raccolta e della uccisione a essere determinanti per ottenere un prodotto finale che rispecchia la qualità posseduta dall'animale in vita al momento della cattura. Procedure che causano condizioni di stress severo negli animali, infatti, si riflettono in una serie di risposte endocrine/ fisiche e biochimiche prima della morte e fisiche e biochimiche dopo la morte che possono danneggiare significativamente la qualità e l'attitudine alla conservazione potenzialmente possedute dal prodotto animale. La qualità del prodotto finale dipende dunque anche dallo stress che il pesce subisce durante l'allevamento, la selezione, la manipolazione, il trasporto, e, soprattutto, dalle pratiche di raccolta, stordimento e uccisione. Il passaggio dal pesce vivo al prodotto alimentare interferisce sul metabolismo del muscolo e la risposta allo stato di stress del pesce, in seguito alle procedure di raccolta e uccisione, è naturalmente seguita da reazioni biochimiche e fisiche che influenzano i diversi parametri della qualità della materia prima pesce. Le procedure di raccolta e macellazione fanno parte delle procedure produttive e devono essere regolamentate da codici di buona pratica. Per ora l'EFSA ha stilato delle opi-

nioni in proposito che possono essere un buon punto di riferimento (EFSA 2004; 2008; 2009 a, b, c). Lo stress alla morte può infatti provocare:

- precoce sviluppo del *rigor*;
- precoce discesa del pH muscolare;
- precoce perdita di compattezza;
- minore capacità di ritenzione dell'acqua;
- peggiori proprietà dielettriche;
- maggiore lucentezza delle carni;
- ridotta *shelf life*.

Non è facile stabilire metodi etici e nello stesso tempo adatti nella pratica di *routine* per uccidere le diverse specie ittiche destinate all'alimentazione umana. I metodi di uccisione relativi devono ancora essere approvati dall'EFSA sezione salute e benessere (EFSA 2009a, b, c).

## 2. SCELTA DEGLI STANDARD DI QUALITÀ DEL PRODOTTO DI ACQUACOLTURA

Naturalmente, come per ogni altro alimento, anche per il prodotto ittico pescato o allevato è necessario un lavoro preliminare di raccolta dei parametri disponibili e scelta dei più affidabili che possano divenire standard di qualità, tramite valutazione delle specifiche più utili allo scopo: origine geografica, metodo di produzione, metodo di cattura o di uccisione, data di cattura/raccolta e di sbarco, dettagli sulla lavorazione, manipolazione e conservazione, caratteristiche del prodotto finale (specie, taglia/peso, classe di freschezza, caratteristiche microbiologiche, nutrizionali e organolettiche), parametri di servizio (fornitura costante e corretta informazione al consumatore), rintracciabilità. Deve essere riconosciuto che la massima potenzialità ad avere un completo quadro e controllo della filiera produttiva esiste solo nel caso del prodotto allevato. In particolare, proprio per questa sua peculiarità, la scelta degli standard di qualità del prodotto allevato dovrà tenere conto, per ciascuna specie, anche di indicatori di stress/qualità e dei loro cambiamenti durante la conservazione, in relazione alle procedure di allevamento, alimentazione, raccolta/uccisione e modalità di conservazione previsti per il prodotto.

Per una corretta standardizzazione della qualità del prodotto di una determinata specie e per la sua potenzialità al corretto uso in campo, appare indispensabile utilizzare “un sistema di descrittori” basato su una solida base scientifica, utilizzando parametri misurabili, affidabili e possibilmente di semplice applicazione e in grado di valutare efficacemente anche il mantenimento di tali caratteristiche dopo la macellazione del pesce allevato e di rilevare, nel

caso di significativi cambiamenti alimentari o tecnologici apportati durante l'allevamento, gli eventuali cambiamenti verificatisi nelle caratteristiche qualitative del prodotto. Gli standard di qualità dovrebbero essere attentamente selezionati fra i numerosi parametri disponibili, scegliendo i più affidabili, i più facili da misurare correttamente in campo e possibilmente non distruttivi. Di seguito alcune considerazioni tese alla individuazione degli standard di qualità che potrebbero essere considerati più applicabili.

Come noto la morfologia e i tratti merceologici appropriati del pesce possono essere valutati grazie a un numero di misure lineari e ponderali tramite tecniche tradizionali o più innovative. Alcune di queste misure lineari e ponderali possono essere messe in correlazione con aspetti qualitativi che interessano ed essere poi utilizzate per la elaborazione di utili indici morfometrici. Le più utilizzate fra le misure lineari sono la lunghezza totale o standard, oppure l'altezza, la circonferenza e lo spessore massimi del corpo del pesce. Fra gli indici morfometrici derivati dalle misure lineari e ponderali, indubbiamente il fattore di condizione, che descrive la corpulenza (spesso legata all'adiposità del pesce), la resa in peso eviscerato, che tiene conto di una significativa frazione degli scarti, e la resa in filetti, che indica senza alcun dubbio la porzione edule del pesce, assumono un elevato interesse merceologico.

Fra i parametri fisici, il colore del filetto, importante per i pesci con carne pigmentata, viene valutato tramite colorimetri con i quali si determinano parametri quali la luminosità, l'indice del rosso e quello del giallo, che permettono anche di risalire a indici colorimetrici composti, quali tinta e saturazione. Un altro parametro fisico interessante è la texture (consistenza), misurazione che può essere anche non distruttiva e può essere considerata importante sia sotto l'aspetto sensoriale che come attributo utile per il prodotto trasformato. Come noto la durezza/consistenza delle carni viene influenzata dalla struttura istologica intrinseca, a sua volta legata alle proprietà delle proteine miofibrillari/sarcoplasmatiche e del tessuto connettivo. In particolare la consistenza aumenta con la densità e il diametro delle fibre muscolari e con la quantità e l'invecchiamento delle strutture di collagene. A parità di peso, i pesci selvatici hanno generalmente carni più consistenti di quelle dei pesci allevati anche per la loro frequente minore quantità di grasso e il loro più alto livello di attività del tessuto muscolare per il nuoto, senza dimenticare che per una minore disponibilità degli alimenti (che devono ricercare attivamente) raggiungono uno stesso peso generalmente a una età maggiore, quando la struttura del collagene è divenuta assai più consistente. Una maggiore consistenza è stata riscontrata anche nelle trote alimentate con elevata sostituzione di sorgenti vegetali (de Francesco et al., 2004). La misurazione della texture sul corpo

dell'animale e quindi con misura non distruttiva, può essere effettuata con un misuratore di durezza o durometro, (apparecchio manuale molto semplice e adatto all'uso a livello industriale) oppure direttamente sulle carni tramite un più ingombrante e complesso strumento da tavolo assai più affidabile (Stable Micro Systems), la cui capacità di misura arriva a includere, insieme alla durezza, altri aspetti di qualità fisica quali fratturabilità, adesività, elasticità, coesività, gommosità, masticabilità, resilienza.

Di particolare interesse fra tutti i parametri chimici del filetto sono quelli chimico-nutrizionali e in particolare il tenore in lipidi e il quadro acido delle carni, il tenore in selenio e in proteine oltreché in alcuni aminoacidi interessanti (taurina) determinabili anch'essi con metodi tradizionali o innovativi.

Per fare un esempio di come è possibile muoversi nella scelta dei parametri migliori fra i numerosi disponibili, ecco un elenco di alcuni potenziali standard di qualità, scelti inizialmente da una lunga serie, per una eventuale certificazione IGP nella spigola di Orbetello fra quelli misurati su 708 pesci di taglia diversa (taglia porzione, media e grande) in un range di pesi che va da 280 a 1162 g (Poli et al., 2008). Da notare che tutte le spigole erano state allevate con lo stesso protocollo da 3 aziende con mangimi estrusi (44% PG, 22% EE, 1,6% FG, 9,5% Ceneri, 19,8MJ/kg ED, 12% EPA, 12% DHA, 30% PUFA n-3, 9% PUFA n-6) e circa 60 pesci venivano campionati ogni 20 giorni per un anno intero. L'entità del coefficiente di variazione di ciascun parametro dovuta ai tre fattori principali considerati, taglia commerciale (n. 3: porzione, media e grande), azienda (n. 3) e stagione (n. 4), è servita come punto di riferimento per scegliere i parametri più stabili. I risultati hanno confermato che l'alta variabilità di alcuni parametri era dovuta soprattutto alla differente taglia commerciale e a fattori stagionali, risultando invece limitata quella dovuta alla diversa azienda. Tanto per dare un'idea, la resa in filetti media delle tre taglie commerciali era massima in autunno (50%) e minima in primavera (46%) e risultava diversa fra la taglia porzione (250-450g) e la taglia media (451-750g), quest'ultima non differente dalla taglia più grande (751-1200g) (47 vs 48 vs 49%) (Poli et al., 2008).

Nella tabella 1, per semplicità, è riportata una selezione di parametri e la relativa variabilità delle medie generali che potrebbero rappresentare potenziali standard di misurazioni lineari (CV circa il 10%), di indici morfologici (CV 2–40%) e di aspetti nutrizionali del filetto (CV dal 2 al 28%). Per una più puntuale standardizzazione sarebbe opportuno considerare i parametri valutati separatamente per taglia e per stagione. Tenendo conto del coefficiente

te di variazione (nonostante la diversa taglia, la diversa stagione e la diversa impresa) la lista dei parametri più stabili e più promettenti per essere scelti e inseriti in un disciplinare come standard erano i seguenti:

Aspetti morfometrici:

1. Resa in peso eviscerato (CV 2,12 %)
2. Resa in filetto (CV 6,53 %)
3. Fattore di Condizione (CV 10,10 %)

Caratteristiche del filetto:

1. Umidità (CV 3,07 %)
2. Proteina (CV 6,16 %)
3. Acidi grassi saturi % (CV 3,48 %)
4. PUFA n-3 % (CV 5,68 %)
5. EPA+DHA % (CV 6,18 %)
6. PUFA n-6 % (CV 9,83 %)
7. n-3/n-6 (CV 10,01 %)

Di grande interesse a livello nutrizionale anche se meno stabile

8. Lipidi del filetto (CV 27,48 %)

Dunque una prima bozza di standard minimo di qualità del prodotto finale dovrebbe innanzi tutto tenere conto dei fattori di variazione dei parametri di qualità che si ritiene più importanti per il maggiore o minore impatto sulla qualità del prodotto e sulle scelte di interesse commerciale e del consumatore. Fissati i fattori di variazione da considerare (ovvero Specie, Sistema di allevamento/Strategia alimentare, Stagione, Taglia) i criteri di qualità (misurabili) di maggior interesse caratterizzanti la qualità del prodotto potrebbero essere:

- Resa in filetti (range di valori per taglia e/ o stagione)
- Contenuto in lipidi (range di valori per taglia e/o stagione)
- Stato di Freschezza/ data di raccolta
- Rapporto acidi grassi polinsaturi n-3/n-6
- EPA+DHA (somma dei contenuti di ecosapentaenoico-C20:5 n-3 e di docosaesanoico-C22:6 n-3 )

cui potrebbero essere aggiunti

- fattore di condizione
- compattezza (texture) corporea
- altri parametri sensibili allo stress (es. tempo di pieno *rigor*, pH liquido oculare, ATP/IMP...)

Il perché della scelta della *resa in filetti* appare chiaro: si tratta dell'indice merceologico di maggior interesse per l'allevatore e il consumatore in quanto rappresenta la porzione edule del pesce. Tale resa viene determinata previa filettatura, peso dei filetti, rapportando quindi percentualmente tale peso a quello corporeo del pesce.

Più complesso appare il motivo del suggerimento dell'uso del *fattore di condizione*, ottenuto dal rapporto fra peso corporeo e cubo della lunghezza, indice della forma generale del pesce, della sua condizione corporea, del suo stato nutrizionale e anche della maturità sessuale. Ogni specie presenta un range di valori a seconda dei diversi fattori di influenza ma in generale più elevato è il suo valore e più corpulento è il pesce. Per non essere falsati, i confronti vanno fatti nello stesso momento dell'anno in modo che i soggetti siano allo stesso stadio riproduttivo, condizione che influenza significativamente il parametro. Il fattore di condizione è apparso essere un utile indice della adiposità e del contenuto in lipidi nelle carni di spigola della prova su menzionata (Poli et al., 2008).

Il tenore in *lipidi del filetto* viene determinato su un suo campione (meglio se ottenuto da un omogenato di un intero filetto senza pelle) sottoponendolo all'analisi del contenuto in "grasso" come estratto etereo (A.O.A.C., 1995) o, più precisamente, all'analisi dei "lipidi totali" tramite diversi metodi analitici (Folch et al., 1957; Blight and Dyer, 1959; Smedes, 1999). Entrambi i dati vengono quindi espressi su 100g di filetto. Generalmente il dato ottenuto come "estratto etereo" risulta più basso di quello in "lipidi totali" perché mentre il primo dato rappresenta solo la frazione dei trigliceridi, il secondo gruppo di metodi riesce a estrarre anche la frazione dei fosfolipidi. Per una stima non distruttiva dei lipidi (anche *in vivo*) può essere usato un tester non distruttivo quale il Fatmeter (Distell). L'apparecchio, di uso semplicissimo, stima il contenuto di grasso sulla base del contenuto di acqua del pesce (come noto, il tenore in acqua dei prodotti animali è caratterizzato da una strettissima correlazione negativa con il tenore in lipidi). La correlazione fra i dati stimati e quelli analizzati per via chimica presenta generalmente un coefficiente variabile da 0,71 a 0,93 e quindi risulta abbastanza affidabile.

VARIABILE	MEDIA	MIN.	MAX.	COEFF. VARIAZIONE
<b>Caratteristiche corporee</b>				
Lunghezza totale (cm)	37,85	29,90	47,00	10,24
Resa peso eviscerato (%)	91,17	83,50	95,66	2,12
Resa in filetti (%)	48,27	33,35	62,28	6,53
Indice viscerale (%)	9,74	4,53	19,75	24,11
Fattore di condizione	1,12	0,6	1,76	10,10
<b>Composizione filetto</b>				
Lipidi (%)	8,11	3,06	16,19	27,48
Proteine (%)	19,94	16,45	23,18	6,16
Umidità (%)	69,65	62,98	75,31	3,07
Ceneri (%)	1,43	0,85	2,79	19,93
C20:5n-3 (% tot. a.g.)	9,02	7,70	10,10	5,46
C22:6n-3 (% tot. a.g.)	15,01	12,70	20,50	9,87
Saturi (% tot. a.g.)	25,60	23,70	27,70	3,48
PUFA n-3 (% tot. a.g.)	30,11	26,60	39,90	5,68
PUFA n-6 (% tot. a.g.)	11,06	9,20	13,20	9,83
n-3/ n-6	2,82	2,25	3,29	10,01
EPA+DHA (% tot. a.g.)	24,03	20,70	28,40	6,18
I.A.	0,47	0,33	0,53	5,79
I.A. = C12 + C14 (x4) + C16 / monoisaturi + polinsaturi n-6 + polinsaturi n-3				

Tab. 1 *Potenziali standard morfometrici e chimici della qualità della spigola*

Lo stato di *freschezza* è l'unico parametro di qualità che *anche da solo* è in grado di indicare con buona affidabilità la qualità del pesce. Esso viene generalmente determinato con metodo sensoriale. Può essere usato il metodo ufficiale in Europa (Reg. UE 2406/96), che individua tre classi di freschezza del pesce molto fresco (Extra), fresco (A) e sempre edule ma stantio (B), o quello più moderno ovvero il Quality Index Method, un indice di demerito per cui il pesce migliore ha  $QI=0$  e il peggiore raggiunge generalmente un valore intorno a 20. Questo ultimo viene utilizzato in molti Paesi, soprattutto del Nord Europa ma non solo, perché più affidabile e specifico. Infatti, contrariamente allo schema europeo, per il quale esistono sei schemi (pesce bianco, pesce azzurro, selaci, cefalopodi, crostacei/gamberetti, crostacei/scampi), per questo metodo si usa uno schema di riferimento per ciascuna specie di pesce (Luten e Martinsdøttir, 1997). Lo stato di freschezza di un prodotto allevato, che sia gestito subito dopo la raccolta in modo da assicurare una catena del freddo ininterrotta, potrebbe essere stimato, sempre nell'ambito di

ciascuna specie, anche dalla data della raccolta. In proposito si ricorda che la legge 99/2009 all' art. 18 obbligherebbe alla presenza di tale data in etichetta. La qualità può essere valutata anche estendendo la stima al prodotto cotto testando colore, odore, consistenza, masticabilità, aroma e succosità mediante prove descrittive dalle quali deriva un profilo sensoriale del prodotto (Hyldig e Nielsen, 1997).

L'importanza degli aspetti dietetici del *rapporto n-3/n-6* e della *somma EPA+DHA* come standard di qualità dei prodotti di acquacoltura è legata alla loro confermata importanza nell'alimentazione umana, soprattutto nel caso di consumatori con problemi cardio-circolatori. In primo luogo deve essere ricordato che gli acidi grassi insaturi della serie n-3 che si ritrovano nei lipidi delle piante e degli animali terricoli sono diversi da quelli che si trovano negli animali acquatici. Infatti il C18:3 n-3 (acido linolenico, indispensabile per l'uomo) si trova in quantità variabile ma significativa in tutti i prodotti vegetali e animali, mentre gli acidi grassi C20:5 n-3 (Eicosapentaenoico - EPA) e C22:6 n-3 (Docosaesanoico - DHA) si trovano in quantità significative solo nei prodotti ittici. L'essere animali acquatici rende infatti le loro carni speciali perché sono le uniche naturalmente ricche degli acidi grassi polinsaturi della serie omega 3 a catena molto lunga (LC PUFA n-3) EPA e DHA, i cui benefici effetti verso molte patologie cardiovascolari, infiammatorie, immunitarie e certi tipi di tumori, sono stati ampiamente confermati, tanto da convincere Agenzie internazionali dell'alimentazione a consigliare un consumo minimo bisettimanale di pesce. In particolare per la somma EPA+ DHA viene suggerito il consumo di almeno 3,5g la settimana per il mantenimento di una buona salute cardiocircolatoria. Il motivo di tale suggerimento è legato soprattutto al fatto che una dieta ricca di LC PUFA n-3 porta alla disponibilità di EPA (C20:5 n-3) che è competitore dell'acido arachidonico (C20:4 n-6). È proprio la sostituzione di quest'ultimo che esercita un benefico effetto a livello della risposta infiammatoria e insieme ad altri processi collegati, riduce il rischio cardiovascolare. Al contrario, una dieta ricca di acidi grassi polinsaturi della serie n-6 porta a elevati livelli di acido arachidonico (C20:4 n-6) che interviene nella chemiotassi dei neutrofili con aumento della permeabilità vascolare, aumento dell'attività proinfiammatoria e proliferazione cellulare, con effetti negativi sulla salute. In più è stato recentemente individuata la Resolvina D2, derivata dal DHA n-3, che induce la produzione di ossido di azoto da parte delle cellule endoteliali, il quale esercita un effetto inibente il legame dei leucociti circolanti (processo caratteristico di molte malattie infiammatorie). È dunque importante mantenere più possibile costante il peculiare quadro acidico presentato dai pesci allo stato selvatico, se vogliamo

sfruttarne gli effetti benefici, non sottovalutando quindi gli effetti che una sua modificazione eccessiva può causare. L'importanza che sia mantenuto anche un buon rapporto n-3/n-6, a prescindere dalla quantità di EPA + DHA, può essere dimostrata anche da un esempio relativo ai risultati di una nostra sperimentazione sulla valutazione della salubrità al consumo di orate alimentate con diversa dieta (Sofi et al., 2008; Poli et al., 2009). Il controllo dell'effetto del consumo di orate alimentate con il 100% di farina di pesce e di orate che avevano consumato una dieta in cui il 50% di quella farina di pesce era stata sostituita da componenti di origine vegetale è stato realizzato tramite lo studio dei biomarker circolatori di aterosclerosi di soggetti dislipidemicici. Si ricorda in proposito che la dislipidemia nei soggetti umani è definita da livelli di biomarker circolatori: Colesterolo totale > 200 mg/dL; Colesterolo LDL > 130 mg/dL; Trigliceridi > 150 mg/dL. Alla fine della prova i soggetti che avevano consumato le orate a dieta vegetale avevano consumato maggiore quantità di filetti (6,9 vs 5,9 kg) risultando in un apporto identico della somma di EPA + DHA (12,2g/settimana, quantità 3,5 volte maggiore di quella suggerita dall'American Health Association) ma della metà del valore del rapporto n-3/n-6 (1,2 vs 2,4) rispetto all'altro gruppo, che aveva consumato le orate con il 100% di farina di pesce. Questo era dovuto proprio alle sorgenti vegetali della dieta il cui quadro acidico si è riflesso su quello delle carni delle orate e hanno comportato consumi settimanali doppi di acido linoleico (C18:2 n-6 : 13 g vs 6g) da parte dei soggetti umani. Sulla base dei cambiamenti mostrati dai biomarker circolatori lipidici, infiammatori ed emoreologici dei soggetti consumatori, è risultato chiaro che il consumo di orate alimentate con farina di pesce ha determinato nei soggetti dislipidemicici un profilo biochimico significativamente più favorevole rispetto a quello dei soggetti che avevano consumato pesci alimentati con il 50% di sorgenti vegetali. Ecco dunque la ragione per cui la necessità di modificare i mangimi per l'acquacoltura mediante la sostituzione della farina e olio di pesce con alternative di origine vegetale produrrà cambiamenti nella composizione in acidi grassi del filetto e quindi della loro salubrità al consumo. Il controllo degli effetti di questi cambiamenti sul pesce diverrà importante per fare le scelte giuste per ottenere pesce realmente salubre per il consumatore.

In questo senso l'acquacoltura biologica con i suoi paletti nella quota di mangimi vegetali nella dieta (non più del 60% di sorgenti vegetali) può forse contribuire a un migliore mantenimento del quadro acidico.

Un altro parametro che appare utile considerare come un potenziale standard di qualità è la *consistenza* o *texture*. Infatti l'analisi della consistenza corporea è una misurazione non distruttiva che potrebbe essere considerata

importante sia per la sua relazione con le caratteristiche sensoriali del prodotto fresco che come attributo utile per una eventuale trasformazione del prodotto. La texture diminuisce via via che la freschezza del pesce decade per cui può anche essere un indice di freschezza dato che misura i cambiamenti strutturali che si verificano durante la conservazione in ghiaccio.

### 3. STANDARD DI QUALITÀ INTEGRATA DEL PRODOTTO

Così come la gestione tecnica dei processi e delle imprese sta passando con frequenza crescente dal Quality System Management, che ha guidato l'organizzazione delle imprese negli ultimi 20 anni, all'Integrated Risk Management che guiderà l'organizzazione nei prossimi 20 anni – per cui il responsabile della gestione tecnica dei processi e filiere tenderà a divenire un “multihazard manager” – anche nel caso della individuazione di standard di qualità del prodotto di acquacoltura, probabilmente dovrà essere messo a punto un sistema di standard di qualità integrata del prodotto. Nel complesso si potrebbe arrivare a procedere a una valutazione della qualità integrata tenendo conto nel contempo sia della qualità statica che di quella dinamica utilizzando indicatori di stress/qualità/cambiamento di qualità.

Il set di indicatori potrebbe essere dunque suddiviso in 4 sottotemi (fig. 1):

- indicatori di qualità merceologica del prodotto valutati sul pesce di taglia commerciale (prodotto finale);
- indicatori di qualità nutrizionale del prodotto valutati su filetto del pesce di taglia commerciale (prodotto finale);
- indicatori di stress (stato di benessere degli animali) valutati entro le 24 ore dalla morte;
- indicatori di freschezza del prodotto valutati durante il periodo di conservazione.

Per ciascun indicatore potrebbe essere individuato un range che indichi le condizioni buone, intermedie e di allarme relative allo stress subito e alla dinamica della qualità del prodotto in seguito all'uccisione in acqua e ghiaccio, ad esempio.

A ogni indicatore dovrà essere associato un “peso” che indichi la sua importanza rispetto agli altri. Sulla base dei pesi e dell'attribuzione a una delle classi di valutazione sarà possibile calcolare l'importanza relativa di ogni indi-

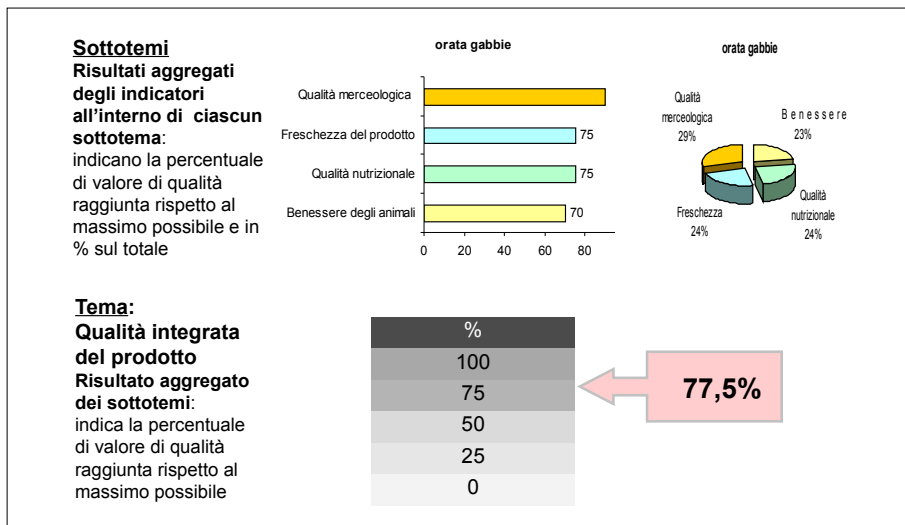


Fig. 1 Esempio di valutazione della qualità integrata su orate sulla base degli indicatori misurati

catore. Con la somma pure pesata degli indicatori sarà possibile infine ottenere una valutazione aggregata per i diversi sottotemi. I risultati aggregati dei sottotemi possono anche essere espressi come percentuale di valore di qualità raggiunta rispetto al massimo possibile. Naturalmente sarà necessario pensare anche alle modalità con cui arrivare a proporre degli standard di qualità su basi scientifiche per il prodotto allevato per migliorare, tramite questa via, la competitività delle industrie europee, piccole e medie imprese soprattutto. L'iniziativa potrebbe partire proprio dalle Associazioni nazionali ed europee di produttori, e da organizzazioni di produttori di singole specie, che coinvolgano ricercatori di laboratori europei specializzati nella qualità del pesce e organizzino consultazioni con i vari organismi addetti alla certificazione e con organizzazioni dei consumatori. Questi soggetti, tutti insieme potrebbero prendere l'iniziativa di proporre uno specifico programma di ricerca finanziato da fondi nazionali e/o europei sulla messa a punto di standard di qualità per l'acquacoltura nazionale ed europea.

Lo sviluppo e applicazione di schemi di standard di qualità pan europei per l'acquacoltura dovrebbe aumentare la competitività delle imprese, con un miglioramento del margine di profitto e prezzi più stabili. L'occasione iniziale potrebbe essere proprio quella di cominciare a lavorare su una produzione come l'acquacoltura biologica recentemente regolamentata e vergine di dati sulla qualità del prodotto.

## CONCLUSIONI

L'uso di standard di qualità per l'acquacoltura nazionale ed europea del prodotto ittico funzionerà a condizione che il messaggio sulla sicurezza e sulla qualità superiore del prodotto locale divenga familiare e affidabile per il consumatore. Nonostante i problemi attuali, quali i costi di applicazione, lo scarso interesse e le poche motivazioni degli operatori, la mancanza di informazione e formazione, i risultati positivi potrebbero essere 1) il miglioramento dei margini di profitto, 2) la maggiore razionalizzazione del settore, 3) una maggiore salubrità dei prodotti, 4) il miglioramento dell'immagine del prodotto e dell'industria ittica.

L'attuale forza e credibilità dell'acquacoltura sarebbe aumentata tramite una completa standardizzazione, dai processi di produzione fino alla qualità misurabile del prodotto finale e rappresenterebbe una grande opportunità per il futuro. Peraltro si deve riconoscere che è proprio la produzione acquacolturale a essere potenzialmente in grado di realizzare questo ambizioso obiettivo. In questo mercato globale e competitivo la capacità di differenziare e rendere riconoscibile la qualità del prodotto locale, nazionale o europeo, dovrebbe aumentare la competitività rispetto a quello di importazione grazie a un miglioramento dell'immagine pubblica – fattore essenziale per lo sviluppo nel settore – conferendo alle imprese un vantaggio commerciale rappresentato da un migliore margine di profitto e prezzi più stabili. In questo contesto una interessante possibilità potrebbe essere rappresentata dall'acquacoltura biologica recentemente regolamentata e praticamente vergine di dati sulla qualità del prodotto.

## RINGRAZIAMENTI

Questo studio è stato realizzato nell'ambito del progetto di ricerca "Azione concertata per l'identificazione di contributi scientifici per lo sviluppo dell'acquacoltura biologica in Italia. Sottoprogetto: Stress alla morte e qualità/conservabilità del prodotto biologico" finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, Bando d.m. 2 ottobre 2008.

## RIASSUNTO

La prospettiva futura dell'acquacoltura, che ormai rappresenta oltre il 50% della produzione ittica, è quella di orientarsi verso una vera sostenibilità in termini di graduale

sostituzione della farina e/o dell'olio di pesce nei mangimi, cui seguiranno alcuni cambiamenti nella qualità del prodotto finale. Il controllo periodico del prodotto finale è dunque importante per le corrette scelte degli allevatori e degli operatori della catena di distribuzione, perché possano fornire con continuità un prodotto ittico sicuro, di alta qualità e salubre per il consumatore, aumentandone per questa via la competitività e la credibilità. Auspicabile dunque stabilire standard di qualità per ciascuna specie allevata in Europa, tenendo conto delle differenti condizioni di allevamento, incluso il biologico, e delle differenti strategie di alimentazione, da utilizzare come una guida per garantire che l'evoluzione delle tecniche produttive non risulti in un peggioramento della qualità del prodotto al di sotto di uno standard stabilito. Esistono molti parametri indicatori di qualità e cambiamenti di qualità, fra i quali scegliere i più affidabili, anche a seconda delle specifiche procedure di allevamento, alimentazione, raccolta/uccisione. In prospettiva, tenendo conto del diverso peso dei diversi parametri indicatori dei diversi aspetti della qualità si potrebbe arrivare a costruire standard di qualità integrata.

#### ABSTRACT

Due to the gradual depletion of fish stock and overfishing, nowadays over 50% of global products comes from aquaculture and more than 65% is imported. The future perspective of aquaculture industry is the movement towards true sustainability in terms of gradual substitution of fish meal and/or fish oil in aquafeeds, with some related changes in final product quality. Final products monitoring is then important for the right choices of the farmers and the distribution chain operators to offer a safe, high quality and healthy seafood to consumer and in this way increasing its competitiveness and credibility. So it would be useful establishing quality standards for each European farmed species, considering the different rearing conditions, organic included, and the different feeding strategies, to be used as a guide ensuring that any production developments do not result in a deterioration of product quality below the established standard. Fish quality is a complex object of research due to the high number of the different aspects involved. On the whole, the quality standards that could be checked on the final product concern the correct morphology, the nutritional traits, healthy eating aspects included, the texture, the *rigor* and the freshness status, the identification of origin and/or farming condition and the stress at death. At present many quality and quality changes indicators exist and a choice of some of the more reliable can be managed. The quality standards have to take into account both quality and quality changes parameters, affected by farming, feeding and harvesting/slaughtering procedures. A periodic measure of the healthy eating quality of the different products by intervention trials on humans has also to be carried out to check and maintain the beneficial protective effects of fish intake on a number of human diseases. In perspective an integrated quality standard could be structured taking into account different weighed quality indicators.

#### BIBLIOGRAFIA

A.O.A.C. (1995): *Official Methods of analysis of the Association of the official Analysis Chemists*, "Association of official Analytical Chemists" Arlington USA.

- BLIGH E.G., DYER W.J. (1959): *A rapid method of total lipid extraction and purification*, «Can. J. Biochem. Physiol.», 37, pp. 911-917.
- DE FRANCESCO M., PARISI G., MÉDALE F., LUPI P., KAUSHIK S.J., POLI B.M. (2004): *Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*, «Aquaculture», 236, pp. 413-429.
- DE FRANCESCO M., PARISI G., PEREZ-SANCEZ J., GOMEZ-REQUENI P., MÉDALE F., KAUSHIK S.J., MECATTI M., POLI B.M. (2007): *Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillets quality traits*, «Aquaculture Nutrition», 13, pp. 361-372.
- EFSA (2004): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals*, «EFSA Journal», 45, pp. 1-29, <http://www.efsa.eu.int>
- EFSA (2008): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Animal Welfare on a request from the European Commission on the Animal welfare aspects of husbandry systems for farmed trout*, «The EFSA Journal», 796, pp. 1-22, <http://www.efsa.eu.int>.
- EFSA (2009a): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed sea bass and sea bream*, «The EFSA Journal», 1010, pp. 1-52, <http://www.efsa.eu.int>
- EFSA (2009b): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed fish: rainbow trout*, «The EFSA Journal», 1013, pp. 1-55, <http://www.efsa.eu.int>
- EFSA (2009c): *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from European Commission on Species-specific welfare aspects of the main systems of the stunning and killing of farmed Atlantic salmon*, «The EFSA Journal», pp. 1-77, <http://www.efsa.eu.int>.
- FAO (2006): *The state of world fisheries and aquaculture*. <http://www.fao.org/DO-CREP/003/X8002/X8002E00.htm>
- FOLCH J., LEES M., STANLEY G.H. S.A. (1957): *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*, «J. Biol. Chem.», 226, pp. 497-509.
- HYLDIG G., NIELSEN J. (1997): *A Rapid Sensory Method of Quality Management*, in G. Olafsdóttir et al. (eds), *Methods to determine the freshness of Fish. Proceedings of the Final meeting of the Concerted action "Evaluation of Fish Freshness"*, AIR3CT94 2283, Nantes Nov. 12-14, 1997, "International Institute of refrigeration", pp. 297-305.
- LUTEN J.B., MARTINSDÓTTIR E. (1997): *QIM – A European Tool for Fish Freshness evaluation in the Fishery Chain* in G. Olafsdóttir G. et al. (eds), *Methods to determine the Freshness of Fish. Proceedings of the Final meeting of the Concerted action "Evaluation of Fish Freshness"*, AIR3CT94 2283, Nantes Nov. 12-14, 1997, "International Institute of refrigeration", pp. 287-296.
- OEHLENSCHLÄGER J. (1998): *Sensory evaluation in inspection. Methods to determine the freshness of fish in research and industry*, in *Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness"*, AIR3CT94 2283, pp. 339-344, Paris: Institut International du Froid.
- OLAFSDÓTTIR G., NESVADBA P., DI NATALE C., CARECHE M., OEHLENSCHLÄGER J., TRYGGVADÓTTIR S.V., SCHUBRING R., KROEGER M., HEIA K., ESAIASSEN M., MACAGNANO A., JORGENSEN B.M. (2004): *Multisensor for fish quality determination*, «Trends in Food Science and Technology», 15, n. 2, pp. 86-93.

- POLI B.M., PARISI G., GIORGI G., GALIGANI I., MICHELOTTI D., BONELLI A., COSTANTINI L. (2008): *Studio dei parametri morfologici/merceologici e di adiposità generale della spigola allevata ad Orbetello per l'individuazione di indici semplici, non distruttivi e poco costosi, utili alla definizione di standard di qualità da utilizzare in schemi di certificazione*, in *Acquacoltura in Toscana. Studi e analisi di settore*, M. Bonanzinga e L. Balestrieri (eds), ARSIA, Firenze (Italia), pp. 147-162, ISBN 978-88-8295-099-6.
- POLI B.M., SOFI F., PARISI G., CESARI F., GORI A.M., MANNINI L., GIORGI G., ABBATE R., GENSINI G.F. (2009): *Partial fish meal replacement by plant proteins in diet of gilt-head sea bream (Sparus aurata) effects on body/fillets traits and evaluation of the healthy eating quality by an intervention trial*, "Acquacoltura med 2009", Verona, 22-23 Ottobre 2009, Book of abstract, p. 33.
- Reg. CE 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio *sull'igiene dei prodotti alimentari*.
- Reg CE 853/ 2004 del Parlamento europeo e del Consiglio che *stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale*.
- Reg. CE 834/2007 del Consiglio del 28 giugno 2007 *relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici* che abroga il regolamento CEE n. 2092/91.
- Reg. CE 889/2008 del 5 settembre 2008 recante modalità di applicazione del reg. CE 834/2007 del Consiglio *relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli*.
- Reg. CE 710/2009 del 5 agosto 2009 che modifica il regolamento CE 889/2008 *recante modalità di applicazione del reg. CE 834/2007 del Consiglio per quanto riguarda l'introduzione di modalità di applicazione relative alla produzione di animali e di alghe marine dell'acquacoltura biologica*.
- SMEDES F. (1999): *Determination of total lipid using non-chlorinated solvents*, «Analyst», 124, pp. 1711-1718.
- SOFI F., CESARI F., GORI A.M., MANNINI L., PARISI G., GIORGI G., GALIGANI I., ABBATE R., GENSINI G.F., POLI B.M. (2008): *Influence of dietary intake of differently fed sea bream on lipid and hemorheological parameters*. In.: *Seafood from Catch and aquaculture for a Sustainable supply*, in Poli B.M. and Parisi G. Eds., 38<sup>th</sup> Annual Wefia Meeting, Florence, Italy, pp. 17-19 September 2008, Book of Abstracts, F4.02, 126. ISBN 978-88-8453-746-1 (on line) and ISBN 978-88-8453-745-4 (print).
- TONON T., HARVEY D., LARSON T.R., GRAHAM I.A. (2002): *Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacyl-glycerols in four microalgae*, «Phytochem.», 61, pp. 15-24.
- UNI EN ISO 8402. (1995): *Sistemi Qualità. Gestione per la Qualità ed assicurazione della Qualità - Termini e definizioni*.
- VERBEKE W., VERMEIR I., BRUNSO K. (2007): *Consumer evaluation of fish quality as basis for fish market segmentation*, «Food quality and preference», 18, pp. 651-661.



## Problematiche relative alla produzione di acquacoltura

Sempre più, soprattutto in periodi di crisi come questi, si sente l'esigenza se non l'obbligo di ridurre i costi, di ottimizzare la filiera, di razionalizzare la burocrazia, di una nuova collaborazione con il mondo della ricerca: di fare una squadra che sia competitiva in un mondo globalizzato. La giornata di lavoro presso la prestigiosa sede dell'Accademia dei Georgofili in Firenze ha evidenziato quanto sopra esplicitato.

La produzione offre la massima disponibilità e apertura affinché l'acquacoltura italiana diventi un'attività strategicamente sempre più forte e determinante nel dare la possibilità a tutti di inserire nella propria dieta i prodotti ittici. Si deve attuare e supportare un'acquacoltura sostenibile. Dobbiamo dedicare attenzione all'acquacoltura biologica/organica, che deve essere l'eccellenza e palestra di ricerca e sperimentazione che vanno riversate poi, in maniera adeguata, nell'acquacoltura tradizionale.

Una fattiva collaborazione del comparto produttivo e di tutti gli stakeholders è necessaria per prodotti di acquacoltura sempre più innovativi che vanno a soddisfare le nuove esigenze dei consumatori attraverso la Grande Distribuzione, ma non trascurando l'HO.RE.CA e il catering sociale – vedi mense scolastiche –. In questo settore c'è veramente molto da fare e noi dell'API vediamo molte possibilità di sviluppo e nuovo impiego.

Bisogna sempre più coinvolgere le ditte che producono e commercializzano alimenti per pesce perché è solo con loro che si può migliorare e far progredire l'acquacoltura.

La ricerca e il comparto produttivo devono poi, attraverso una fattiva collaborazione, ricercare standard misurabili e applicabili all'allevamento nel rispetto del:

\* *Presidente della Associazione Piscicoltori Italiani ([www.api-online.it](http://www.api-online.it))*

- ambiente
- pesce allevato
- consumatore
- profitto.

Siamo certi che in Italia gli acquacoltori hanno raggiunto un buon livello, che la ricerca è ottima, che l'apparato di controllo è tra i migliori al mondo: dobbiamo quindi concentrare le forze per promuovere al massimo i prodotti italiani di acquacoltura.

La UE importa circa il 70% del prodotto ittico consumato, questo deve essere il limite massimo. Dobbiamo pertanto tutti lavorare assieme per ridurre questo spaventoso dato: contrariamente abbiamo perso la sfida.

## Problematiche relative alla produzione di mangimi per acquacoltura biologica

“Natura” sta a significare l’attenzione all’ambiente, al benessere animale e alla qualità e sicurezza dei prodotti derivati; “Alleva” evidenzia il ruolo di VRM come partner per l’allevatore, nell’ottica della fornitura di servizi personalizzati, e leader nello sviluppo di progetti di filiera.

VRM è una realtà nuova e dinamica nel panorama dell’agro alimentare italiano e svolge l’attività di produzione di alimenti e commercializzazione dei prodotti di acquacoltura all’interno della stessa società. Naturalleva è l’unica azienda mangimistica italiana a produrre alimenti per acquacoltura biologica. In questo settore di mercato siamo anche tra le poche aziende a livello mondiale ad avere un’esperienza pluriennale sviluppata su disciplinari di produzione privati come quelli di QC&I, Bio Suisse e Naturland, schemi rispetto ai quali siamo accreditati.

Il collo di bottiglia nella produzione di mangimi per acquacoltura biologica è rappresentato dalla scarsa disponibilità di materie prime, sia in termini quantitativi (le materie prime di origine vegetale devono provenire da agricoltura biologica) che qualitativi in quanto le materie prime disponibili o ammesse non hanno le caratteristiche nutrizionali ottimali per le specie oggetto di allevamento.

Le farine di pesce devono provenire da pesca sostenibile; pur essendoci innumerevoli codici di condotta (IFFO, FAO) o disciplinari (MSC, Friend of the Sea) per la pesca sostenibile, sul mercato non sono ancora disponibili quantitativi significativi di prodotto certificato. L’alternativa attualmente più in uso è quella di farine di pesce ottenute da scarti di lavorazione di pesce destinato al consumo umano e questo vale anche per l’olio di pesce. Le prob-

\* Servizio Nutrizione e Qualità VRM srl – Naturalleva

lematiche derivanti da questo tipo di materia prima sono legate al fatto che il tenore proteico, pur essendo elevato, non è sempre costante, così come sono variabili i contenuti di ceneri e collagene che hanno influenza sul processo di estrusione.

Come ingredienti di origine vegetale non possono essere impiegate farine derivate dall'estrazione mediante solventi della frazione lipidica ma solo quelle derivanti da spremitura meccanica. Per questo motivo le farine (o panelli) vegetali presentano anch'esse problemi di variabilità in termini di composizione.

Alla luce di quanto sopra occorre, da parte dell'azienda mangimistica, una notevole attenzione nei processi di formulazione e produzione al fine di superare ai limiti legati alle materie prime autorizzate.

La normativa specifica di settore (Reg. CE 834/2007; Reg. CE 710/2009), che diventerà completamente applicativa a partire da luglio 2010, contiene tuttavia le premesse per uno sviluppo dell'acquacoltura biologica, che conseguentemente favorirà la disponibilità di strumenti in grado di risolvere le problematiche evidenziate. Occorre sottolineare che l'acquacoltura biologica rappresenta un'occasione importante per dare maggior rilievo alle caratteristiche di elevata salubrità e naturalità dei prodotti di allevamento e può essere uno strumento utile a fugare eventuali diffidenze che il consumatore finale ha verso il prodotto allevato.

## Produzione semi-intensiva di spigola, secondo il metodo biologico, in ambiente vallivo

Il Centro Bonello è una valle da pesca di proprietà dell'ente regionale Veneto Agricoltura. Situato nel Delta del Po, sulla Sacca degli Scardovari, venne definito nella sua conformazione attuale alla fine degli anni '60, successivamente ad importanti operazioni di bonifica, quale testimonianza delle attività vallive condotte nella zona. Il Centro è, quindi, storicamente attivo soprattutto sulle tematiche attinenti la valorizzazione e la gestione della vallicoltura. Tra le altre attività si citano le produzioni e sperimentazioni nel settore della gambericoltura estensiva e semi-intensiva, l'integrazione di quest'ultima con la fase di preingrasso del seme di vongola, nonché le prove di produzione di specie nuove per l'acquacoltura locale e/o nazionale.

Nel 2008 è stata avviata la prima esperienza di produzione semi-intensiva della spigola, effettuata in ambiente vallivo secondo il metodo biologico, sulla base dei disciplinari elaborati dalle associazioni internazionali del settore, prendendo spunto anche dalla constatazione di come, nel nostro Paese, il prodotto ittico biologico sia sostanzialmente mancante a livello di normale offerta commerciale. Ciò è conseguenza, probabilmente, dell'assenza per molti anni di una specifica normativa comunitaria in materia, fatto questo che ha quasi certamente ostacolato la crescita del settore in questione, sino ad oggi caratterizzato solo da iniziative isolate attuate da singoli allevatori su base volontaria. Il vuoto normativo è stato recentemente colmato grazie alla pubblicazione del Regolamento (CE) n. 710/2009, che dovrebbe costituire il punto di partenza per un'auspicata differenziazione delle produzioni ittiche nazionali. Per la novità che rappresenta, infatti, l'acquacoltura biologica sembra potenzialmente in grado di occupare una nuova nicchia commerciale del

\* *Veneto Agricoltura - Sezione Innovazione e Sviluppo*

mercato dei prodotti ittici in Italia. La produzione di pesci e altri organismi acquatici da acquacoltura biologica, si ritiene, dovrebbe venire incontro a quella frazione di consumatori, peraltro in continua crescita, orientata favorevolmente all'acquisto di prodotti biologici, nell'ottica anche dell'attenzione a temi di grande attualità quali il benessere animale ed il rispetto dell'ambiente garantiti dalle certificazioni di processo previste dalla normativa.

Le prove di allevamento biologico del branzino avviate da Veneto Agricoltura hanno l'obiettivo di incrementare le conoscenze per gli operatori del settore potenzialmente interessati ad avviare la specifica attività. I progetti in corso al Bonello si articolano secondo distinte linee di indagine, in collaborazione anche con alcuni enti di ricerca: esse mirano alle verifiche circa i protocolli operativi e le performances zootecniche dei soggetti allevati secondo il metodo bio, poiché tra le indicazioni obbligatorie dei protocolli per l'allevamento biologico del pesce figura l'utilizzo di mangimi bio certificati, prodotti pertanto utilizzando materie prime provenienti dalla pesca sostenibile (farine proteiche e grassi) e da coltivazioni bio, per ciò che riguarda la frazione vegetale inserita nell'alimento.

Sono state effettuate, inoltre, le analisi sui soggetti allevati per le valutazioni in merito alla qualità delle carni e al benessere dei lotti di pesce, filosofia quest'ultima cara agli operatori e ai consumatori dei prodotti biologici.

L'esperienza, infine, è completata dalle indagini socio-economiche relative all'accettabilità del prodotto sui mercati da parte dei consumatori, con riferimento particolare alla disponibilità all'acquisto. Sono state identificati in tal senso alcuni punti vendita, tra le pescherie tradizionali e la GDO, presso i quali si sono svolte le interviste mirate ai consumatori e ai responsabili dei banchi-vendita, al fine di valutare la loro propensione all'acquisto della spigola biologica, prodotta con tecnica semi-intensiva. Tutti i risultati dell'esperienza verranno divulgati in occasione di workshop o tramite il sito web di Veneto Agricoltura.

## Considerazioni conclusive

È ormai di dominio comune il fatto che l'acquacoltura sia una attività caratterizzata da rapida crescita i cui limiti sono, come facilmente prevedibile, principalmente di natura ambientale (risorse trofiche e controllo degli impatti) e di mercato (concorrenza leale, riferimenti condivisi per la sicurezza e la certificazione in un mercato globale).

Sempre nell'intento di inquadrare in generale l'acquacoltura, è noto che le regioni geografiche che hanno dato il contributo più importante alla crescita quantitativa delle produzioni da acquacoltura sono quelle asiatiche, con oltre l'80% della produzione globale.

A livello mondiale almeno il 50% dei prodotti acquatici destinati al consumo umano diretto sono prodotti negli allevamenti. Nel 2008 l'acquacoltura ha contribuito al 36,9% della produzione totale. Si pensi che in Cina l'80,2% del consumo di prodotti acquatici è rivolto al prodotto di allevamento. La crescita dell'acquacoltura in questo grande Stato è stata rapida, basti ricordare che negli anni '70 la famosa acquacoltura cinese copriva soltanto il 23,6% della domanda (SOFIA, 2010).

In questo scenario globale può essere comunque utile ricordare che quando si parla di una acquacoltura che ha eguagliato la pesca oceanica nell'assicurare alimenti per il consumo umano diretto, ci si riferisce soprattutto alle produzioni riportate nelle statistiche riguardanti le regioni asiatiche, e che nelle altre realtà economiche questa attività, pur rilevante, non gioca esattamente lo stesso ruolo assunto in quelle regioni.

Comunque l'acquacoltura è una attività di successo anche se non ha raggiunto tutti gli obiettivi attesi, soprattutto nelle aree più povere (Africa). An-

\* *Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma 'Tor Vergata'*

che nei Paesi più ricchi e in quelli a crescita più rapida, questa attività sta evidenziando evidenti punti di debolezza che andrebbero superati per restituire a questo settore strategico la spinta propulsiva necessaria.

Questo richiede, tra l'altro, innovazione e più avanzati sistemi di certificazione e controllo condivisi a livello internazionale.

Anche nelle nostre aree geografiche si è assistito a una rapida crescita dell'acquacoltura e alla nascita di vasti distretti specializzati e capaci di produrre elevate quantità. Basterebbe riferirsi al caso Norvegia per il Salmone atlantico o alla Grecia per quanto riguarda la Spigola e l'Orata, per confermare questa tendenza verso un modello di sviluppo diffuso con localizzazioni privilegiate.

Capacità di investimento, anche attraverso politiche di incentivazione, potenzialità ambientali, disponibilità di tecnologie e di supporto alla ricerca, e domanda di mercato, sono state fino a oggi i motori dello sviluppo dell'acquacoltura.

Nel caso specifico dell'Unione Europea i contributi in conto capitale dai fondi strutturali messi a disposizione dalla CE, nei vari programmi legati alle politiche settoriali, hanno certamente aumentato le opportunità di sviluppo incentivando imprenditori a investire in acquacoltura.

L'acquacoltura marina, che rappresenta la vera innovazione epocale, ha seguito una tendenza evolutiva, fortemente basata sulla crescita tecnologica, che ha guidato l'evoluzione settoriale da impianti basati a terra a moduli produttivi localizzati in mare. La conquista degli spazi marini aperti è stata accelerata grazie allo sviluppo di tecnologie sempre più appropriate per fronteggiare le dinamiche meteo marine, primo fattore di rischio negli allevamenti in gabbie localizzati in mare aperto e/o esposti ai venti. La conquista degli spazi marini ha ampliato gli orizzonti produttivi a un crescente numero di specie, aprendo anche la prospettiva di allevare i pesci grandi pelagici marini, che si vanno ad aggiungere alle oltre 350 specie di organismi acquatici oggi allevati, anche se le produzioni rilevanti sono basate sostanzialmente su poche specie.

Per completare questo quadro sommario, va sottolineato come l'acquacoltura, nel mondo occidentale, abbia perso parte dei consensi di cui godeva alla fine degli anni Settanta, per una serie di conflitti di natura ambientale generati dall'impatto reale e presunto di questa attività. Si è anche generata una crescente diffidenza dei consumatori, spesso dovuta a scorretta comunicazione e al ricorrere a luoghi comuni negli argomenti utilizzati a favore della conservazione ambientale.

Il dibattito sul futuro dell'acquacoltura è comunque tutto aperto e molti ritengono che con opportuni accomodamenti il settore resti ancora uno di quelli a maggior potenziale di crescita nel comparto alimentare.

Se si considerano gli spazi marini aperti come potenziali siti per lo sviluppo di forme innovative di acquacoltura (molte delle quali sono tutte da inventare), certamente lo spazio per ulteriori crescite non rappresenterebbe un limite. Resterebbero comunque irrisolti gli altri limiti già presi in esame, considerando lo stato attuale delle conoscenze scientifiche disponibili, ad esempio nella ricerca di nuove materie prime per la nutrizione animale.

Una crescita rapida potrebbe proprio dipendere da un lato dalla possibilità di innovazione nel campo della nutrizione animale, dalla capacità di controllo delle patologie e dalla possibilità di mitigare gli impatti ambientali; dall'altro da una corretta capacità di programmazione che inserisca a pieno l'acquacoltura nell'ambito delle politiche strategiche per l'uso sostenibile degli ecosistemi acquatici migliorando le performances energetiche e ambientali di questa attività.

Ad esempio la corretta programmazione dovrebbe evitare di considerare l'allevamento di organismi acquatici *tout court* come alternativa alla pesca. Questo infatti risulta essere un errore concettuale di grande portata, che è consentito ai portatori di interessi settoriali ma non ad amministratori e ricercatori che dovrebbero inserire l'acquacoltura in un contesto sistemico in cui le relazioni siano ben identificate.

Pesca e acquacoltura operano in parte sugli stessi spazi, sugli stessi mercati, e la crescita dell'acquacoltura si basa sul consumo di risorse di origine marina prodotte dalla pesca ( farine, olio di pesce, prodotti della pesca freschi o surgelati).

Come pensare a un mondo futuro ricco di tonni riprodotti e allevati senza calcolare la quantità di pesci, molluschi e crostacei necessarie per portare i grandi pelagici alla taglia commerciale?

Si stima che, nel 2008, 44,9 milioni di persone hanno lavorato nel mondo in pesca e acquacoltura. Sono solo il 3,5% delle persone impegnate in agricoltura, ma certamente l'acquacoltura ha avuto un ruolo importante nella crescita occupazionale, con un ruolo sociale crescente.

Analogamente il rapporto fiduciario tra consumatori e prodotti allevati, come sopra già menzionato, andrebbe rinforzato su basi scientifiche più avanzate da comunicare e divulgare con linguaggi appropriati.

Nel 2010 si è tenuta a Roma, presso la FAO, una consultazione sulla definizione delle linee guida per la certificazione in acquacoltura, lavoro avviato su richiesta del Sottocomitato Acquacoltura del COFI fin dal 2006, proprio perché questo tema appare come uno dei più potenti regolatori del sistema acquacoltura ai livelli locali e nel più ampio contesto della globalizzazione.

Sanità e benessere animale, Sicurezza alimentare, Integrità degli ecosistemi, e Aspetti socio-economici, sono stati identificati come i temi cardine intorno ai quali costruire un sistema di riferimento capace di dare maggiore sostenibilità al settore.

Gli aspetti relativi alla sicurezza (per cui esistono molte norme) e alla qualità non possono essere materia regolata prevalentemente dalla comunicazione in mano a portatori di interessi spesso contrapposti. Ambientalisti che denunciano il flagello dell'acquacoltura, o Associazioni di produttori che diffondono la lista di loro meriti e di quelli delle loro produzioni, non rappresentano la modalità per dare un futuro solido all'acquacoltura.

Pur nel rispetto delle posizioni espresse dalla società civile organizzata è necessario anche recuperare modelli di giudizio basati su criteri obiettivi, su metodi ripetibili. È forse necessario recuperare le basi scientifiche per mettere a punto sistemi di certificazione, protocolli utili alla salute dei consumatori, a quella dell'ambiente, e al benessere reale degli organismi allevati.

Partendo dall'assunto che ci muoviamo in contesti del tutto nuovi, su basi scientifiche deboli, dove le impressioni dei "guru" della cucina, degli opinion leader, vengono esattamente valutate come quelle di una scienza ormai debole e poco competitiva, perché spesso priva dell'indipendenza necessaria, ancor più emerge la necessità di una forte ricerca scientifica.

Tra i limiti dobbiamo considerare che spesso le pressioni di alcuni gruppi condiziona le fasi di programmazione e le priorità della ricerca spingendo proprio le istituzioni a trascurare le esigenze di una ricerca pubblica finalizzata alla difesa dei diritti e degli interessi diffusi. È emblematica la modalità "così detta europea", cui tutti dovremmo aderire come ricercatori, in cui si propongono piattaforme per l'innovazione a tutto campo (dalla ricerca a difesa dei beni collettivi a quella per l'innovazione tecnologica e scientifica delle imprese) ma in cui multinazionali alimentari danno le linee programmatiche alle Istituzioni.

Tali affermazioni non negano il ruolo necessario della ricerca per l'innovazione industriale e il vantaggio di coordinare gli sforzi su scale geografiche più ampie, ma tale esigenza, proprio a beneficio della competitività delle imprese, non deve essere posta in competizione con i ruoli della ricerca pubblica al servizio della tutela dei beni collettivi.

In sintesi, emerge come tra i limiti che regoleranno la crescita dell'acquacoltura nei prossimi anni, unitamente alla disponibilità delle risorse alimentari disponibili da trasformare in pesci allevati, alle dinamiche di mercato che stanno assumendo una crescente rilevanza, in un sistema sempre più globalizzato, giocherà un ruolo primario la capacità di disporre di una comunicazione

corretta, basata sulla scienza e non solo sulle precauzioni e sulle spinte ideologiche (spesso regolate da interessi non evidenti), con una crescente capacità delle istituzioni di reprimere le frodi alimentari, e fare politiche serie per le etichettature e la certificazione.

In questo quadro è stato più volte sottolineato che la ricerca scientifica si pone ancora come acceleratore dello sviluppo e strumento a supporto della regolazione.

In Italia, grazie alla leggi di riferimento settoriale prima la 41/82 e poi la 154/04 che hanno consentito lo svolgimento di programmi di ricerca gestiti dalla Direzione Generale della Pesca e dell'Acquacoltura del MIPAAF, molti Istituti di Ricerca si sono occupati di ricerche in acquacoltura con un elevato grado di coordinamento, così come richiesto dai bandi e seguendo un indirizzo della Amministrazione.

In particolare, tra i progetti coordinati, due hanno affrontato i temi che potremmo considerare "di nuova generazione" pur non trattandosi certo di novità.

Il primo relativo alla "Qualità" in acquacoltura, il secondo che riguarda una azione concertata sulla "Acquacoltura biologica", progetti che hanno coinvolto le stesse unità operative, e che sono stati presi come base per organizzare il seminario "Misurare la qualità in acquacoltura. Un approccio scientifico al servizio delle aziende e dei consumatori" che l'Accademia dei Georgofili ha deciso di ospitare e di pubblicarne gli Atti.

Il titolo del seminario sintetizza una serie di obiettivi complessi e ambiziosi, che corrispondono a tanto lavoro scientifico e allo sforzo di molti attori pubblici e privati consapevoli che il ruolo dell'acquacoltura del futuro dipenderà fortemente dalla capacità di offrire ai produttori e ai consumatori, per i propri ruoli, sistemi di riferimento obiettivi e condivisi.

In questo quadro i ricercatori italiani coinvolti nei due progetti discussi nella giornata organizzata dalla Accademia dei Georgofili, stanno cercando di contribuire con evidenze scientifiche al consolidamento di un modello produttivo per la sicurezza e per la qualità tipico delle produzioni alimentari italiane.

#### BIBLIOGRAFIA

SOFIA (2010): *The State of World Fisheries and Aquaculture*, FAO, Rome.



## Premio Giancarlo Geri 2009

Il 4 marzo 2010, durante la Giornata di Studio su “Misurare la qualità in acquacoltura. Un approccio scientifico a servizio delle aziende e dei consumatori”, è stato assegnato il Premio di Laurea Edizione 2009 in memoria del prof. Giancarlo Geri, emerito di Zootecnica dell’Università di Firenze, eminente gergofilo, già presidente della Associazione scientifica di produzione animale, presidente della Commissione Tecnica centrale del libro genealogico dei suini.

Il premio è assegnato al dott. Beatrice Coizet, per la tesi di laurea su “Ricerca di polimorfismi di singolo nucleotide in geni candidati per la fertilità maschile nella razza Bruna Italiana” con la seguente motivazione: «La tesi è impostata in maniera metodologicamente rigorosa e corretta, partendo dall’analisi dei caratteri fenotipici per sviluppare in seguito una ricerca di genetica molecolare che potrebbe essere in grado di dare risposte significative nelle indagini riguardanti geni candidati per la fertilità maschile nella razza Bruna Italiana».

Finito di stampare in Firenze  
presso la tipografia editrice Polistampa  
nel marzo 2011



