

**PO FEAMP**

**ITALIA 2014 | 2020**

**Priorità 2 – Obiettivo tematico 3**

**Misura 2.47 – “Innovazione in acquacoltura”**

***Art. 47 Reg. (UE) n. 508/2014***

**Avviso pubblico annualità 2019**

**Miglioramento eco-sistemico e produttivo delle valli costiere e della molluscoltura off-shore regionali sviluppando nuove tecnologie di allevamento ecosostenibili**

**(Progetto n. 2/INA/19)**

**Responsabile della ricerca: Alessio Bonaldo**

**Relazione Tecnica**

## **Premessa**

Con determinazione n. 5341 del 31 marzo 2020, la Regione Emilia Romagna ha finanziato il presente progetto che, secondo quanto comunicato, è cominciato il 4 maggio 2020 e terminato il 7 maggio 2022. Nella presente relazione vengono descritte le attività svolte durante il progetto.

## **Descrizione delle attività svolte**

### **Azione 1 – Vallicoltura**

#### **a) validazione di un protocollo alimentare naturale e sostenibile per lo svezzamento dell'anguilla (*Anguilla anguilla*) e la semina in valle**

Il progetto condotto dal Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna prevedeva tre obiettivi principali:

- ***Mettere a punto un adeguato protocollo alimentare in grado di svezzare e accrescere proficuamente ragani garantendo quindi loro maggiori probabilità di sopravvivenza una volta liberati nell'ambiente naturale (valle).***
- ***Utilizzare fonti alimentari reperibili nei bacini vallivi, al fine di garantire la maggiore sostenibilità delle produzioni e, al contempo, adattare dal punto di vista sensoriale gli animali al pabulum più frequentemente riscontrabile in valle.***
- ***Confrontare i risultati zootecnici fra due lotti liberati in valle (“ragani appastati” vs ragani non appastati”)***

### **Ricerca Bibliografica**

Al fine di procedere nel modo più efficace alla fase sperimentale, è stata eseguita una attenta ricerca bibliografica per accedere alle più recenti ricerche scientifiche a livello nazionale ed internazionale relative principalmente all'alimentazione delle forme giovanili di anguilla.

### **Individuazione area sperimentale**

E' stata eseguita un'analisi del territorio emiliano-romagnolo al fine di individuare un'area valliva avente le caratteristiche ambientali idonee per ospitare le anguille e dare avvio alla sperimentazione tenendo in considerazione anche problematiche di carattere tecnico-logistico e organizzativo, quale la possibilità di avvicinamento con un automezzo in grado di trasportare le attrezzature utilizzate. La scelta è ricaduta in una valle privata (**Valle Nuova**) posizionata a Sud del Po di Volano, grazie anche ad un accordo con l'Azienda che ha messo a disposizione 2 bacini per la sperimentazione che presentavano caratteristiche dimensionali ed ambientali del tutto sovrapponibili.

Numerose sono le motivazioni che hanno spinto i ricercatori a scegliere questa valle come luogo per la sperimentazione:

1. zona umida costiera adriatica caratterizzata da forte ambientazione naturalistica;
2. vicinanza dal mare;
3. esistenza di bacini di dimensioni e profondità adeguate alla sperimentazione, idraulicamente indipendenti e di facile accessibilità in fase di campionamento e/o monitoraggio;

4. presenza di personale specializzato (vallanti) e di attrezzature (barche e reti) a supporto delle operazioni di campo.



Area sperimentale e bacini di sperimentazione

### ***Reperimento dei ragani ed analisi***

I ragani utilizzati per la sperimentazione (kg 200) erano di origine selvatica e sono stati reperiti al termine del mese di maggio del 2020 da un'azienda specializzata nella commercializzazione delle specie ittiche da ripopolamento. Inizialmente gli animali sono stati trasferiti presso la serra ittiologica dell'Università e stoccati in vasche rettangolari funzionanti a ciclo chiuso.



Acclimatazione ragani

Successivamente è stata avviata una procedura di acclimatazione dei pesci mediante alcuni ricambi d'acqua nei sacchi di trasporto, allo scopo di minimizzare le differenze ambientali sussistenti tra le condizioni di trasporto e quelle relative all'impianto in cui sono stati ospitati, dopodiché si è proceduto al prelievo di un campione rappresentativo (n.150 ragani) per le analisi biometriche, genetiche e sanitarie.

Per quanto riguarda le analisi biometriche sono stati raccolti i seguenti parametri:

- **lunghezza del corpo** (BL in cm),
- **peso del corpo** (BW in gr),
- **fattore di condizione K:**

$$\text{Condition factor } K = 100 \cdot BW \cdot BL^{-3},$$

Al fine di agevolare le operazioni di rilievo e per non apportare ulteriore stress ai pesci, si è provveduto ad anestetizzare preventivamente gli animali mediante l'impiego di fenossietanolo (0,4 mL/L). Per il rilievo del peso ci si è avvalsi di una bilancia elettronica (grado di precisione:  $\pm 0,1$  g) specifica per animali vivi. La lunghezza totale dei soggetti è stata misurata dall'apice del muso, a bocca chiusa, all'estremità posteriore della pinna caudale, utilizzando un apposito strumento in plexiglass (ittiometro) in grado di immobilizzare e mantenere rettilineo il pesce per la durata delle operazioni. Il fattore di condizione di Fulton (K) è un indice in grado di evidenziare in modo efficace la condizione corporea del pesce esaminato e quindi il suo stato nutrizionale. La particolarità di questo indice è che pone una condizione di crescita del pesce isometrica, cioè che la forma del pesce non vari al crescere dell'individuo. Proprio per questo, data l'estrema variabilità di forma fra le varie specie ittiche, ogni specie considerata presenta indici differenti, che assumono valori inferiori nei pesci caratterizzati da una forma più longilinea (come nel caso dell'anguilla). Nell'ambito dunque della stessa specie tale indice, influenzato da innumerevoli situazioni ambientali e soprattutto trofiche, è in grado di esprimere quantitativamente lo stato di maggiore o minore benessere degli individui in relazione alla loro corposità, valutata attraverso il peso e la lunghezza. Il riscontro di valori di K che si discostano da quelli tipici della specie di appartenenza può indicare la scarsità o assenza di fonti alimentari, situazioni di sovrappopolamento o presenza di fattori ambientali/antropici che limitano il periodo utile all'accrescimento.



*Analisi Biometriche dei ragani*

Ad alcuni animali sottoposti a biometria, sempre previa anestesia, è stato prelevato un campione di tessuto (porzione di pinna pettorale), collocato in provette eppendorf contenenti una soluzione di

etanolo al 95% e trasportate successivamente ai laboratori dell'Università di Bologna - sede di Cesenatico per le relative analisi di carattere genetico.



*Prelievo di un campione di tessuto (pinna pettorale) ed analisi del DNA*

I campioni di tessuto prelevati sono stati sottoposti ad estrazione del DNA sotto vuoto tramite il kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega), secondo il protocollo fornito dal produttore e successivamente sottoposti ad amplificazione genica di tratti di DNA mitocondriale specifici per l'identificazione di specie, dopo averne messo a punto le condizioni sperimentali ottimali. Gli ampliconi sono poi stati separati su gel di agarosio al 2,5% al fine di verificare che le dimensioni dei frammenti fossero corrispondenti a quelle note in bibliografia per la specie anguilla europea (*Anguilla anguilla*).

### **Attività sperimentale**

Come da progetto i ragani sono stati suddivisi in 2 lotti omogenei;

- **il primo lotto** è stato direttamente seminato in valle al termine del mese di maggio 2020 (sistema classico) utilizzando uno stagno chiuso (**Stagno A**), delle dimensioni di circa 20.000 m<sup>2</sup> ed una profondità di 80±30 cm.
- Sono stati seminati n.3000 ragani ad una densità pari ad 1,5 soggetti ogni 10m<sup>2</sup>



*Liberazione dei ragani non appastati (Stagno A)*

- **il secondo lotto** è stato mantenuto nella serra ittiologica per la fase di appastamento dopo la quale tutte le anguille sono state trasferite e seminate in valle in uno stagno chiuso (**Stagno**

**B)**, aventi caratteristiche dimensionali, di profondità e di qualità delle acque sovrapponibili allo stagno A.

La prova si è conclusa nell'autunno del 2021 (novembre) per una durata complessiva di 17 mesi.



*Stagni adibiti alla sperimentazione*

I ragani che facevano parte del secondo lotto sono stati trasferiti presso la serra ittiologica dell'Università ubicata a Cesenatico dotata di numerose vasche, alcune delle quali sono state adottate per la sperimentazione.

Le vasche presentavano forma rettangolare, costruite in materiale atossico, erano in grado di garantire n.2 ricambio/h e di mantenere la concentrazione di ossigeno disciolto nell'acqua su livelli vicini al punto di saturazione grazie alla presenza di n. 4 diffusori porosi/vasca collegati ad un generatore d'aria. Al fine di evitare possibili fughe degli animali, date le spiccate doti di movimento dell'anguilla anche al di fuori dell'ambiente acquatico, sono state applicate coperture in vetro.

Ciascuna vasca adottata nella sperimentazione funzionava a circuito chiuso, dotata di elettropompa, di filtro meccanico e biologico. Le vasche erano dotate di sistemi di controllo della temperatura (refrigeratore/riscaldatore), di disinfezione dell'acqua (lampade UV e/o ozonizzatore). Per mantenere un'adequata qualità dell'acqua di allevamento all'interno del circuito, è stato previsto un ricambio parziale con acqua esterna pari a 10%/giorno.

I ragani sono stati equamente divisi nelle vasche e mantenuti per una **durata complessiva di 52 giorni**. Per tutta la durata della sperimentazione gli animali sono stati mantenuti in condizioni di temperatura e fotoperiodo naturale.

Per l'appastamento ed accrescimento dei ragani inerenti alla prova è stato elaborato un programma alimentare che prevedeva l'impiego di fonti alimentari naturali reperibili nel bacino vallivo di Valle Nuova. Tale programma prevedeva la somministrazione di un pastone umido semisolido costituito da pesce fresco tritato associato a farina micronizzata per anguille (Skretting – Classic Eel Mash) e olio di pesce che garantivano una buona tenuta in acqua del pastone (azione legante). Come pesce fresco è stato utilizzato un mix in gran parte composto da:

- latterini (*Atherina boyeri*),
- gamberetti di laguna (*Palaemon* spp.),
- sardine (*Sardina pilchardus*),



*Principali specie ittiche utilizzate nella preparazione del pastone*

Il pastone è stato ottenuto previa omogeneizzazione e pesatura dei vari alimenti freschi (sardine, latterini, gamberi), dopodiché si è provveduto alla determinazione dei quantitativi delle altre componenti secondo la seguente percentuale:

- Latterini: **30%**
- Sardine: **15%**
- Gamberetti: **30%**
- Farina micronizzata: **20%**
- Olio di pesce: **5%**

Pesate adeguatamente le componenti si è proceduto all'amalgamazione con l'aggiunta di acqua e quindi alla preparazione delle razioni giornaliere.



*Preparazione pastone umido per ragani*

Dopo un periodo iniziale di una settimana in cui è stato somministrato pesce fresco intero (pesce azzurro) è stato dato avvio all'alimentazione a base di pastone umido che veniva distribuito manualmente su griglie galleggianti 2 volte/giorno (ore 8:00 e ore 15:30) in quantità pari al 10% della biomassa/vasca/giorno fino al giorno 15 compreso, dopodiché la razione alimentare è stata aumentata al 15% della biomassa/vasca/giorno.

Quotidianamente il personale effettuava una pulizia delle vasche mediante un sifone munito di setaccio. Gli eventuali soggetti deceduti venivano prontamente rimossi e registrati per la determinazione della mortalità. Tutte le anguille morte durante la prova sono state raccolte e conservate in contenitori chiusi all'interno dell'apposito congelatore aziendale (ai sensi del D. Lgs 148/2008) in attesa di essere smaltite secondo normativa. Inoltre per tutto il periodo della sperimentazione sono stati controllati i principali parametri ambientali (salinità/temperatura/pH/ossigeno/composti azotati). Alcuni parametri, quali temperatura (°C), ossigeno disciolto (ppm) e pH, sono stati determinati quotidianamente direttamente in vasca attraverso l'utilizzo di strumentazioni elettroniche portatili (YSI mod.55 con sonda Crison mV-506); a cadenze variabili veniva determinata la salinità grazie all'ausilio di un rifrattometro (Milwaukee mod. MR100ATC); per la determinazione dell'ammoniaca totale ( $\text{NH}_3 - \text{NH}_4^+$ ) e dei nitriti ( $\text{NO}_2^-$ ) venivano prelevati settimanalmente dei campioni d'acqua ed analizzati presso i laboratori dell'Università di Bologna – sede Cesenatico.

Al termine della prova tutti gli animali sono stati raccolti, sottoposti ad analisi biometrica ed infine acclimatati gradualmente alle condizioni di salinità presenti nella Valle per il successivo rilascio nello **Stagno B**.



*Liberazione ragani appastati (Stagno B)*

A partire dal 30mo giorno di permanenza nei 2 bacini della valle, hanno preso avvio le azioni di campionamento attraverso l'utilizzo di reti da posta e bertovelli/cogolli innescati con pesce fresco e posizionate in aree di richiamo (in prossimità delle chiaviche). Tutte le anguille catturate sono state sottoposte a biometrie (peso totale, lunghezza totale e fattore di condizione k) e a verifica dello stato sanitario. I campionamenti sono proseguiti per tutto l'autunno del 2020 e sono ripresi nella primavera 2021 fino al termine della sperimentazione (novembre 2021).

In prossimità della fine dell'Azione, al fine di catturare più esemplari possibile, ha preso avvio la fase di abbassamento del livello dell'acqua dei 2 stagni con lo scopo di eseguire la raccolta totale degli animali. Questa operazione purtroppo ha funzionato da richiamo degli uccelli ittiofagi ed al terzo giorno causa la fortissima presenza di quest'ultimi, ha costretto i vallanti ad interrompere l'operazione e a ripristinare il livello dell'acqua per evitare grosse perdite di anguille e compromettere la sperimentazione.



*Fasi di campionamento con bertovelli innescati*

### ***Determinazione e valutazione del benthos***

I macroinvertebrati bentonici sono organismi acquatici, d'acqua dolce e salata, che vivono in stretto contatto con il fondo di un bacino. Comprendono le alghe pluricellulari e gli animali che camminano o strisciano, animali sessili e tubicoli.

Il benthos può essere distinto in:

- *macrobenthos*, dimensioni  $> 1 \text{ mm}$
- *meiobenthos*, dimensioni  $> 0.063 \text{ mm}$  e  $< 1 \text{ mm}$
- *microbenthos*, dimensioni  $< 0.063 \text{ mm}$

L'analisi del benthos prevede il riconoscimento tassonomico per crostacei, molluschi, policheti ed echinodermi e la misurazione di abbondanza e ricchezza specifica.

Durante la sperimentazione, a cadenza periodica, sono stati eseguiti dei campionamenti di macrobenthos nei 2 bacini sottoposti a sperimentazione in quanto i macroinvertebrati bentonici costituiscono la maggiore fonte di cibo per predatori acquatici come le anguille. Sono state eseguite le seguenti fasi:

- *prelievo*,
- *setacciatura, stoccaggio e fissazione*,
- *determinazione tassonomica*.

Nel caso specifico sono stati utilizzati i carotatori in quanto non provocano un significativo disturbo del sedimento ed il dilavamento del materiale è relativamente limitato. Per ogni singolo bacino sono stati identificati più punti di prelievo, al fine di avere una uniforme distribuzione di campioni di benthos sulla superficie indagata.

In seguito tutti i campioni sono stati sottoposti a setacciatura allo scopo di eliminare l'acqua, i sedimenti fini e quant'altro non necessario per la ricerca. Il carotatore, dopo che è stato tirato a bordo, è stato posto su un setaccio che permette di raccogliere il materiale e di setacciarlo senza alcuna perdita importante. Al termine della setacciatura tutto il materiale raccolto (organismi, resti di conchiglie, detrito vegetale, sedimento grossolano e quant'altro) è stato trasferito negli appositi

contenitori e portato nei laboratori dell'Università dove ha preso avvio la determinazione tassonomica.



Prima dell'identificazione del benthos, tutti i campioni sono stati sottoposti ai seguenti passaggi procedurali:

- *rimozione della soluzione di fissaggio,*
- *lavaggio del campione,*
- *suddivisione in subcampioni (se necessaria),*
- *eventuale prima selezione con lente,*
- *selezione fine con stereomicroscopio,*
- *suddivisione nei principali gruppi tassonomici.*

In questa prima fase di smistamento gli organismi sono stati separati in base al loro principale gruppo tassonomico, solitamente nelle seguenti categorie facilmente identificabili come quelle dei gasteropodi, dei bivalvi e dei policheti. In seguito gli animali sono stati identificati sino al livello tassonomico più basso tassonomico possibile (LPT= *Lowest Possible Taxon*), in relazione alla maturità degli individui osservati ed al loro stato di conservazione. Il LPT coincide quasi sempre con il livello di specie. La determinazione è stata eseguita con l'ausilio di uno stereomicroscopio binoculare su organismi completi o, se necessario, di un microscopio da vetrini per le osservazioni dei caratteri morfologici fini. Nella determinazione sono state usate le chiavi analitiche più recenti per la regione geografica da cui proviene il campione.



## RISULTATI

Il progetto si è proposto di indagare il comportamento di ragani di anguilla europea (*Anguilla anguilla*, L.) mantenuti in ambiente controllato per una valutazione sul loro accrescimento e la loro sopravvivenza utilizzando le potenzialità alimentari reperibili all'interno dei bacini vallivi. Di seguito è indagato il loro comportamento in termini di prestazioni zootecniche mettendoli a confronto con una popolazione di ragani non appastati.

### *Principali caratteristiche dei ragani*

I giovanili di anguilla utilizzati per dare avvio alla sperimentazione in serra ed in valle hanno presentate le seguenti *caratteristiche biometriche*:

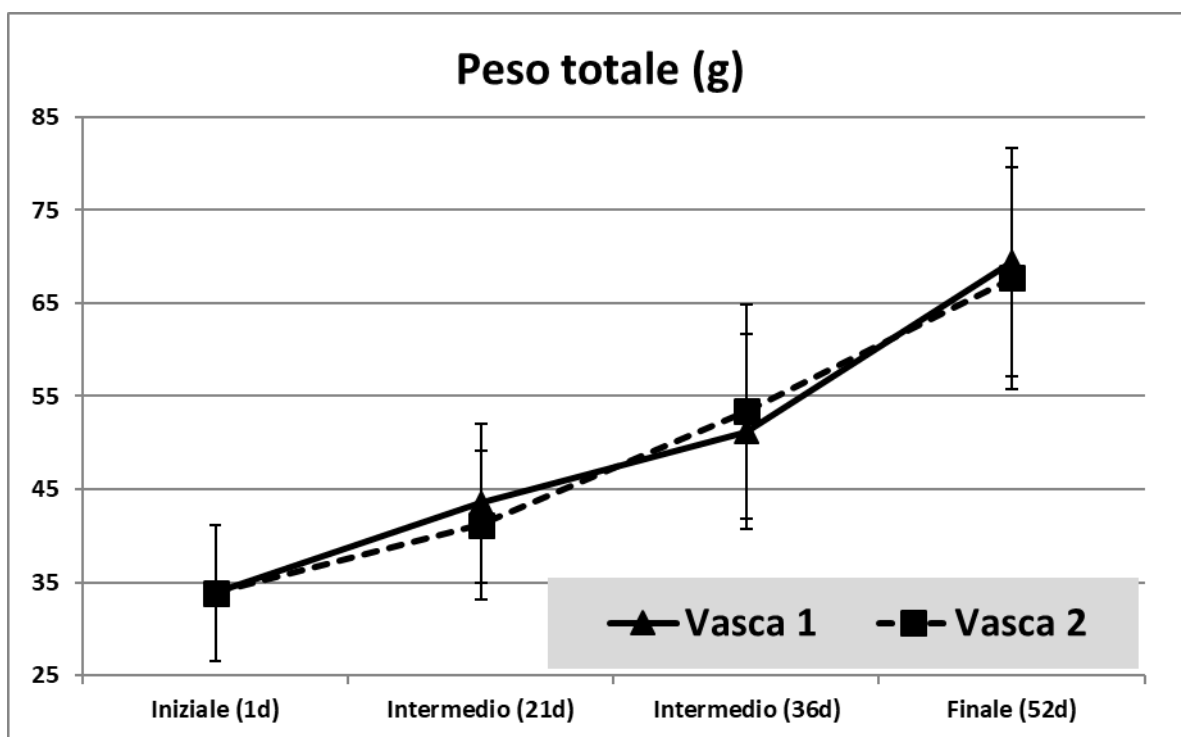
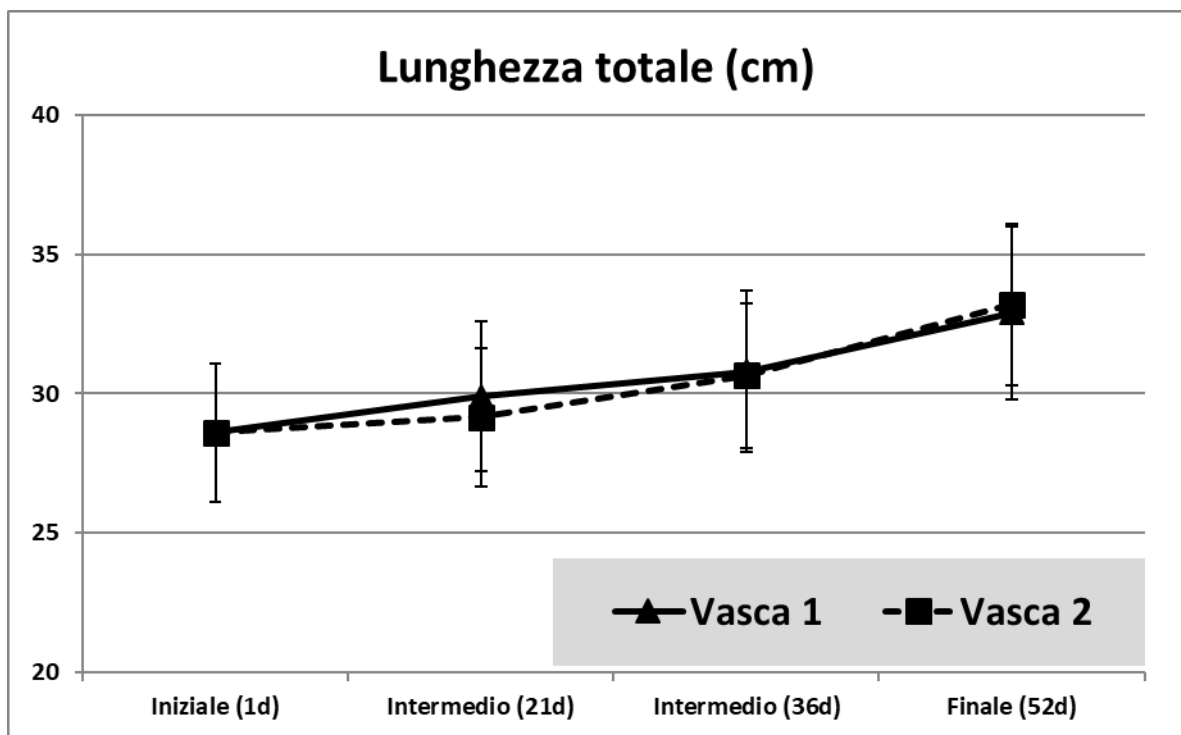
| <b>Peso medio (g)</b>          | <b>33,9±7,3</b> |
|--------------------------------|-----------------|
| <b>Lunghezza media (cm)</b>    | <b>28,6±2,5</b> |
| <b>Fattore di Condizione K</b> | <b>1,4±0,26</b> |

I risultati delle *analisi genetiche* condotte sui ragani prelevati casualmente all'arrivo del lotto sperimentale, hanno mostrato su tutti i campioni analizzati frammenti di dimensioni compatibili con quelle note per *A. anguilla*, confermando pertanto la specie di appartenenza.

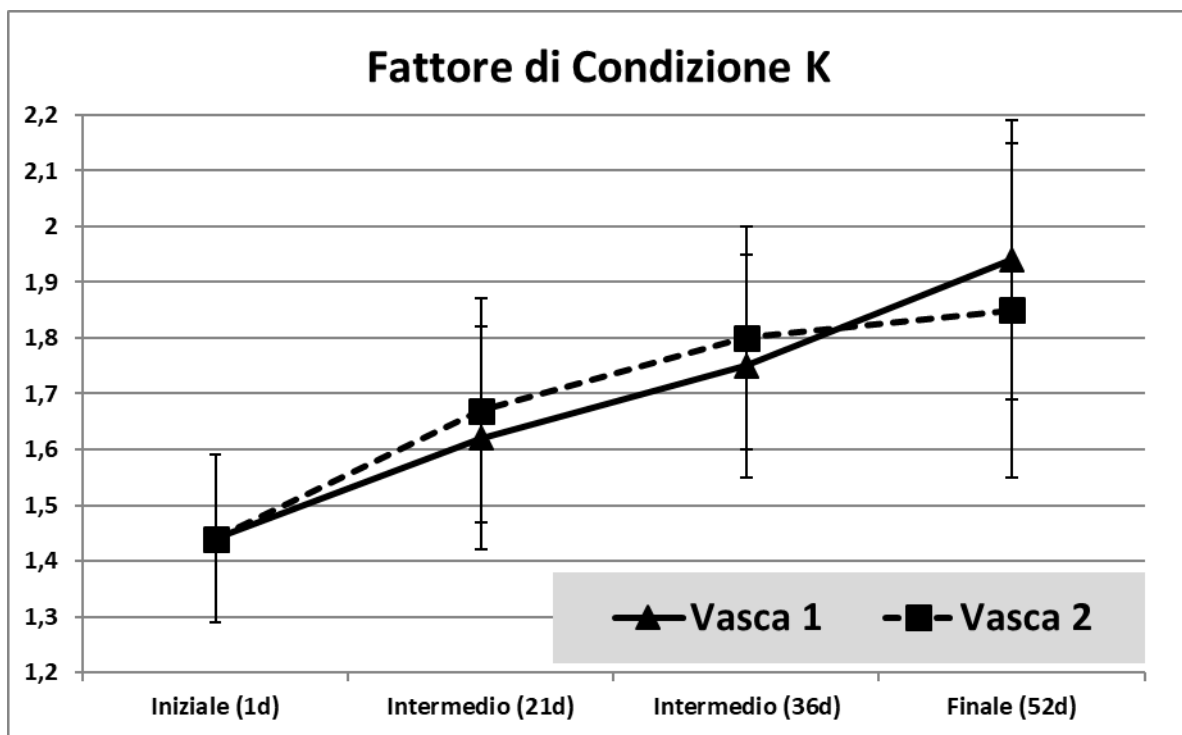
Per quanto riguarda l'*aspetto sanitario*, su alcuni soggetti prelevati a inizio prova, è stata riscontrata una moderata infestazione da *Ichthyophthirius multifiliis*, protozoo ciliato parassita d'acqua dolce in grado di determinare elevate mortalità se presente in misura eccessiva. Tuttavia, la fase di ambientamento in acqua salata è risultato efficace come trattamento nei confronti del parassita che non è stato più riscontrato nei campionamenti successivi all'intervento.

### *Appastamento in serra*

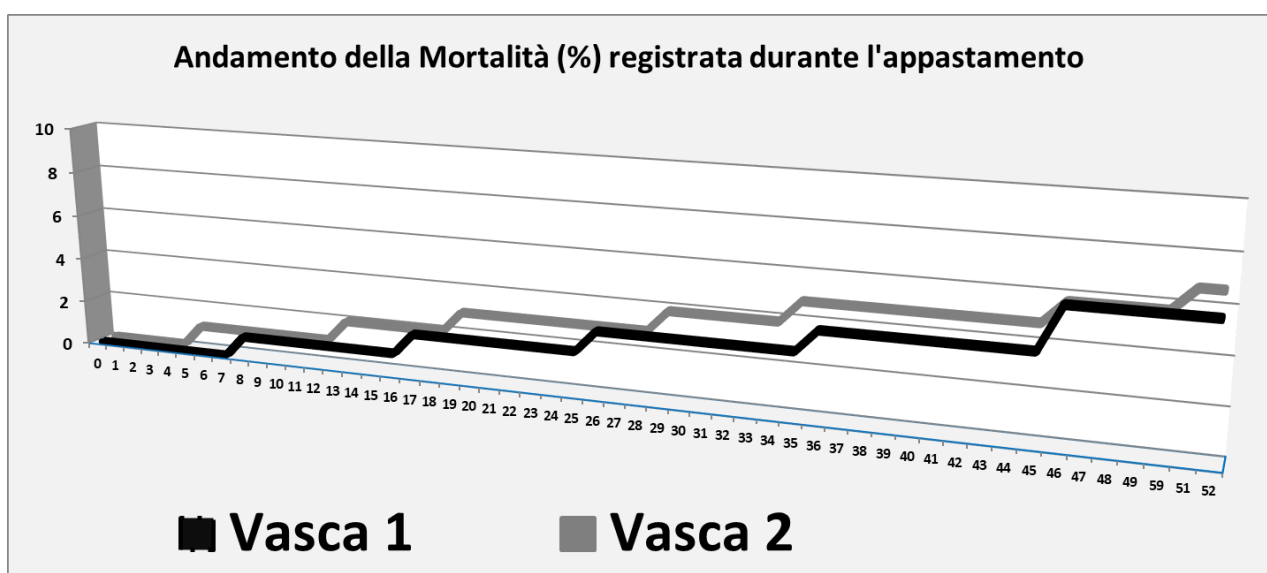
Per quanto riguarda la prova eseguita in serra ittiologica (secondo lotto), per tutta la durata della prova gli animali hanno evidenziato una costante crescita ponderale che li ha portati, a fine appastamento, a raddoppiare il **peso**, sfiorando i 70g, e a raggiungere una **lunghezza** totale di circa 33cm. Da osservare la notevole deviazione standard dei ragani a fine sperimentazione (peso ±12g, lunghezza ±3cm) che mette in evidenza la forte eterogeneità di taglia degli animali a fine prova dovuta alla elevata competizione alimentare in vasca tipica di questa specie.



Per quanto riguarda il **fattore di condizione di Fulton (K)**, i campionamenti hanno evidenziato fin dalle prime fasi un trend positivo in entrambe le vasche, passando da un valore iniziale di 1,44 ad inizio appastamento sino a sfiorare il valore di 2,0 (1,94 e 1,85) in fase di fine prova. Questi valori hanno in definitiva evidenziato un aumento costante della corporosità dei ragani sottolineando come la dieta utilizzata sia risultata ben accetta già dai primi giorni di alimentazione ed abbia portato gli animali ad un buon stato nutrizionale.



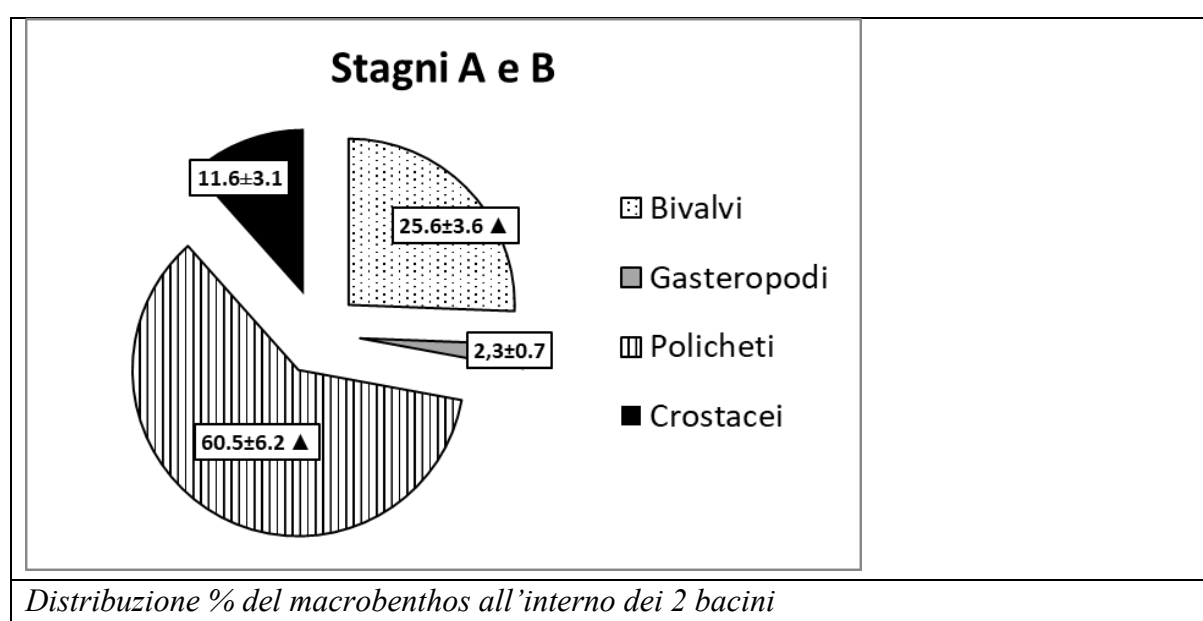
Il buon livello nutrizionale delle anguille è stato confermato anche dal basso grado di **mortalità** che è stato registrato a fine prova e che si è attestato intorno al 6%. Non si è verificato, come era presumibile accadesse, un picco di mortalità iniziale dovuta alla difficoltà di alcuni soggetti ad abituarsi all'alimentazione col pastone umido. Probabilmente l'elevato contenuto di pesce fresco contenuto nel cibo è risultato molto attraente e ben accettato dai ragani fin dai primi giorni di alimentazione.



Il quadro generale delle **analisi dell'acqua** di allevamento condotte non ha evidenziato particolari aspetti negativi. Dai parametri chimico-fisici è emersa una situazione favorevole alla vita dei pesci: la concentrazione di azoto ammoniacale ( $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ ) si è sempre mantenuta su valori piuttosto

contenuti e non ha mai superato gli 0,43 mg/L, valore quest'ultimo, registrato in seguito all'introduzione delle anguille in vasca. Analogamente, i nitriti ( $\text{NO}_2^-$ ) hanno presentato valori iniziali di 0,55 mg/l, poi scesi progressivamente durante il corso della prova. I valori massimi dei composti azotati registrati ad inizio prova sono ragionevolmente da imputarsi ad una maturazione non completa del biofiltro. Relativamente al pH, questo si è mantenuto attorno a valori di 7,9 – 8,4. Per quanto riguarda l'ossigeno disciolto, le concentrazioni riscontrate in occasione delle misurazioni giornaliere sono risultate comprese tra 5,3 e 9,2 ppm; la percentuale di saturazione è risultata sempre superiore al 65% e comunque sempre al di sopra dei valori di criticità valutabili attorno ai 3–4 ppm e 60% rispettivamente.

### ***Accrescimento in valle***



Per quanto riguarda la sperimentazione in campo aperto, in accordo con i responsabili ed il personale tecnico della valle, si è deciso di prolungare la sperimentazione fino all'autunno del 2021 al fine di sfruttare in pieno un periodo di accrescimento (primavera/estate 2021).

Per quanto riguarda l'analisi macrobentonica, i due bacini campionati hanno presentato una omogenea composizione della fauna sia dal punto di vista qualitativo (tipologia delle specie) che della composizione in termini quantitativi: è stato possibile individuare un quantitativo di 12 specie composte per circa il 25% da bivalvi, per il 2,3% da gasteropodi, per oltre il 60% da policheti e per circa l'11% da crostacei.

In definitiva la fauna macrobentonica ritrovata nei bacini campionati, pur presentando differenze significative in relazione al periodo di campionamento, è risultata abbondante ed ha rispecchiato un ambiente che è quello tipico di transizione con fondo prevalentemente sabbioso.

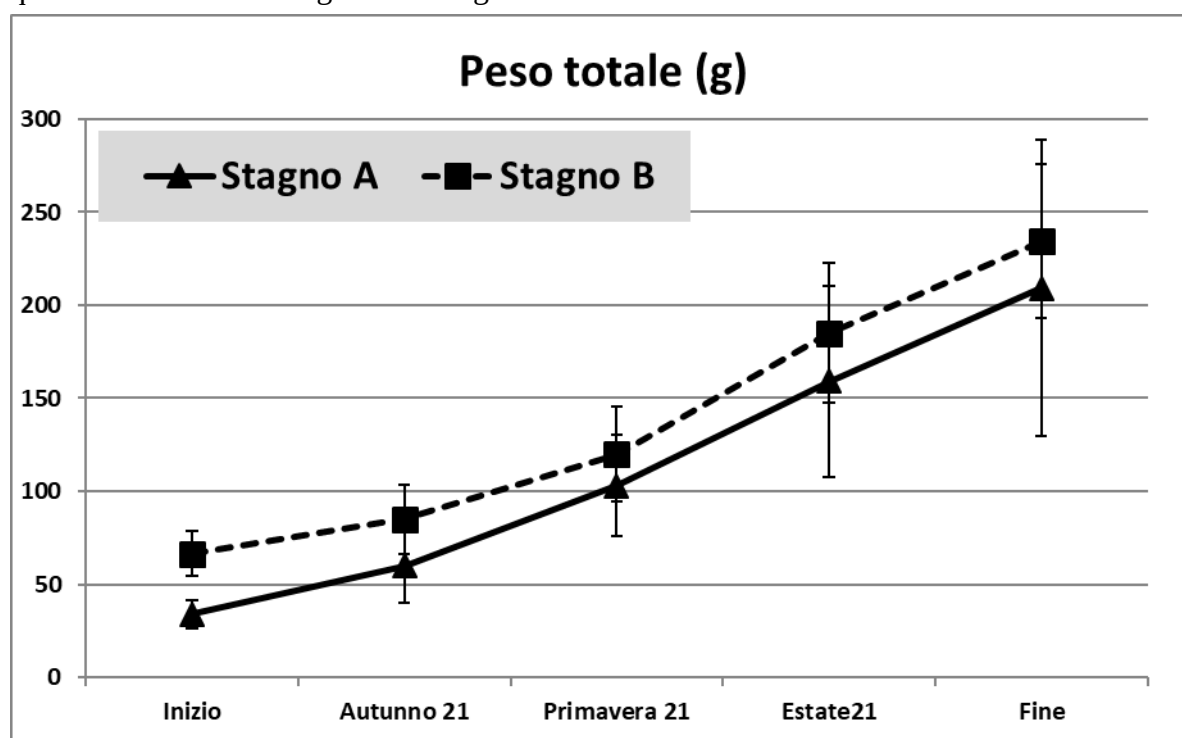
La buona situazione ambientale è stata confermata anche da un campionamento del plancton eseguito in primavera che ha evidenziato una buona presenza di molluschi, crostacei, piccoli pesci e larve di insetti.

Le analisi di campo sui campioni di acqua eseguiti durante il periodo sperimentale hanno evidenziato una elevata uniformità dei parametri osservati all'interno dei due bacini sperimentali (A e B). Il quadro generale delle analisi condotte non ha evidenziato particolari aspetti negativi: sia dai parametri fisici che chimici dell'acqua emerge una situazione favorevole alla vita dei pesci ed all'insediamento degli organismi macrobentonici (basso tasso dei composti azotati). Per quanto riguarda l'ossigeno, le concentrazioni riscontrate in occasione dei campionamenti sono risultate comprese tra i 4,50 mg/l (stagno A) del campionamento estivo e i 9,2 mg/l (stagno B) del campionamento autunnale (comunque sempre al di sopra di valori di criticità valutabili intorno ai 3-4mg/l). Unica criticità riscontrata nei due bacini è risultata la temperatura che ha fatto registrare valori superiori ai 30 °C in alcuni campionamenti estivi. La discreta profondità dei bacini può tuttavia aver evitato problemi relativi ad un eccessivo surriscaldamento in quanto non sono stati osservati fenomeni di mortalità delle anguille.

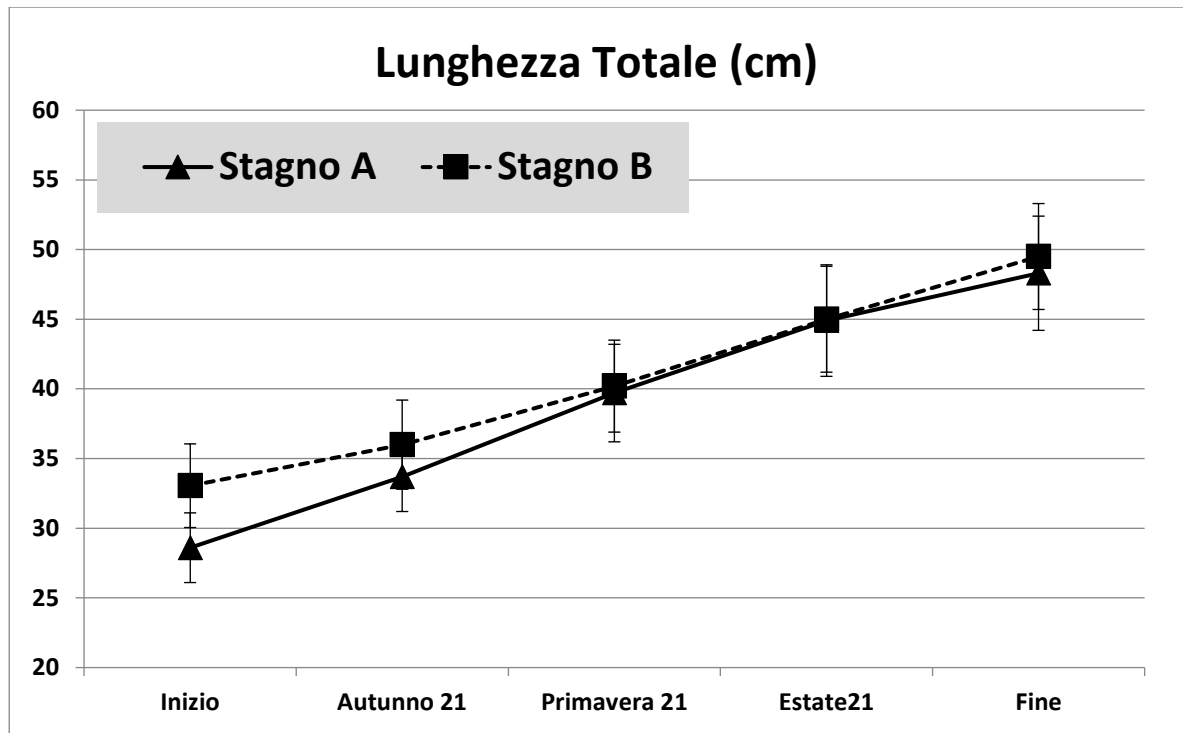
Per quanto riguarda la prova in campo, nello **stagno A** (non appastati) sono stati liberati **n.3000 (0,15 ragani/m<sup>2</sup>)** ragani pari ad una biomassa di **50,85g/10m<sup>2</sup>**, mentre nello **stagno B** al termine dell'appastamento i ragani liberati sono risultati **2800 (0,14 ragani/m<sup>2</sup>)** pari ad una (biomassa) di **95,97g/10m<sup>2</sup>**.

I campionamenti eseguiti nel periodo autunno2020-primavera/estate 2021 attraverso l'utilizzo di reti da posta e bertovelli/cogolli innescati con pesce fresco e posizionate in aree di richiamo hanno permesso la cattura di un totale di **n.122 anguille**, di cui n.37 provenienti dallo stagno A e n.85 provenienti dallo stagno B. I risultati hanno permesso di individuare la seguente curva di crescita:

Il **peso finale** delle anguille si è attestato in entrambe gli stagni sulla **fascia dei 200-250g**, con valori leggermente superiori nello stagno B (234,3±41,2g) rispetto allo Stagno A (209,2±79,4g). Importante osservare che le anguille presenti nello stagno B hanno mostrato una minore deviazione standard e quindi una minore eterogeneità di taglia.



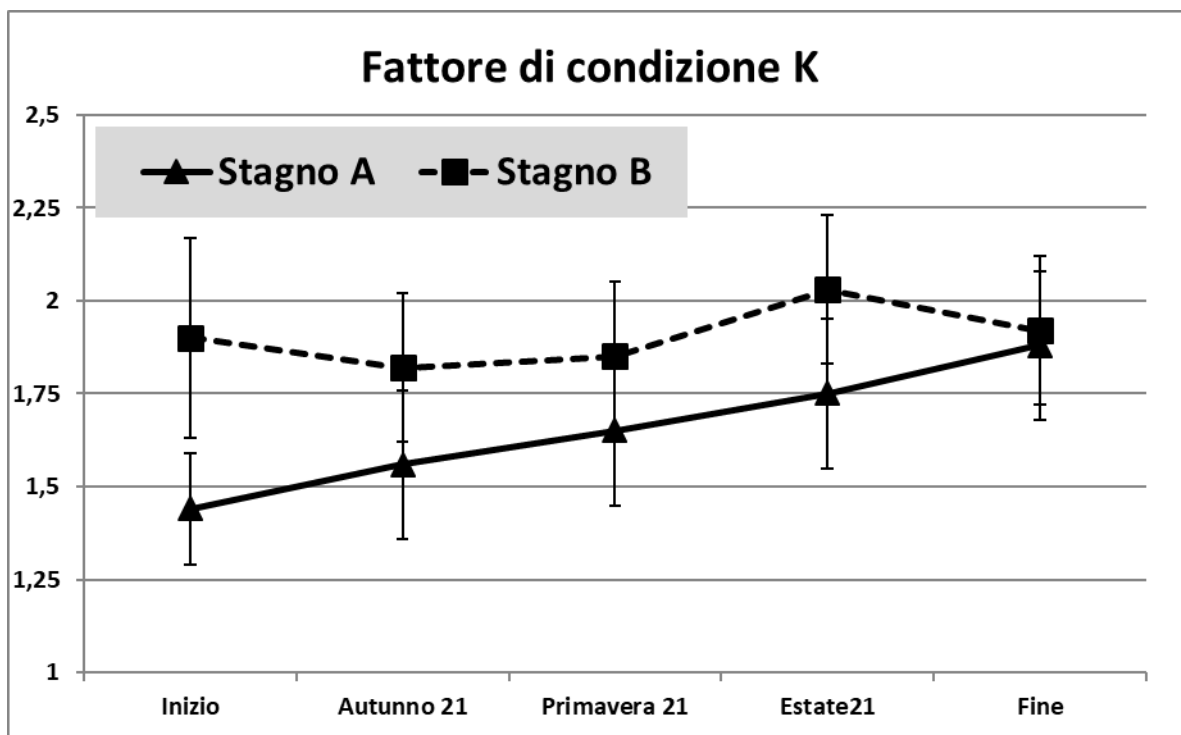
La **lunghezza totale finale** delle anguille ha sfiorato in entrambe le tesi i 50 (Stagno A 48,3cm vs 49,5cm Stagno B). Come per il peso, anche per la lunghezza totale le anguille presenti nello stagno B hanno mostrato una minore deviazione standard.



L'aver superato in entrambe gli stagni una taglia superiore ai 200 g di peso può essere considerato un aspetto estremamente favorevole, poiché è indice che la popolazione di anguilla che si è accresciuta in valle è composta in forte maggioranza da soggetti di sesso femminile. Infatti, mentre la femmina di anguilla può continuare ad accrescersi fino a superare i 2 kg di peso, il maschio (*buratello*) ad un certo punto arresta la crescita e non è in grado solitamente di superare i 150-180g di peso.

E' provato scientificamente che le fasi giovanili (ceche e ragani) delle anguille non sono ancora differenziate sessualmente (è possibile osservare una gonade *intersex* nei soggetti fino a taglie superiori ai 30 cm) e che in acquacoltura le elevate densità di allevamento in vasca delle forme giovanili porta solitamente ad una alta percentuale di maschi. L'aver trovato gli stessi livelli di accrescimento nello stagno B, dove i ragani erano stati sottoposti ad una fase di appastamento in vasca, sta ad indicare che il momentaneo passaggio in cattività non ha influito sulla sessualità degli animali e di conseguenza sulla produttività della valle.

Per quanto riguarda il **fattore di condizione K**, le anguille appastate (Stagno B) hanno evidenziato fin da subito valori più elevati che si sono mantenuti su livelli costanti per tutta la durata della prova. Le anguille dello Stagno A hanno invece fatto registrare livelli inferiori ma costantemente crescenti che le hanno portate a recuperare e a portarsi sugli stessi livelli delle anguille B nei campionamenti finali. La maggiore corposità delle anguille appastate può sicuramente aver contribuito ad affrontare in una condizione nutrizionale più favorevole il periodo invernale favorendo, in questo modo l'avvio della seconda fase di crescita (primavera-estate 2021). Inoltre, questo aspetto può aver contribuito favorevolmente sulla percentuale di sopravvivenza degli animali nella stagione fredda.



Per quanto riguarda il **livello di sopravvivenza** dei due gruppi di anguille messi a confronto nei due stagni, purtroppo non è stato possibile calcolarlo in modo definitivo. Infatti, come già segnalato in precedenza, al termine della sperimentazione si è proceduto alla fase di abbassamento del livello dell'acqua dei 2 stagni con lo scopo, se non di eseguire la raccolta totale degli animali, perlomeno di favorire la cattura di più esemplari possibile, mettendo bertovelli/cogolli in prossimità delle paratoie delle chiaviche di scarico delle acque sfruttando le basse maree. Purtroppo questa operazione, che solitamente ha una durata di parecchi giorni viste le dimensioni degli stagni, è stata abbandonata in quanto la riduzione del livello dell'acqua e la maggiore visibilità del fondale ha funzionato da richiamo degli uccelli ittiofagi costringendo i vallicoltori a ripristinare quanto prima il livello ottimale della colonna d'acqua per evitare perdite consistenti.



Tuttavia una considerazione importante può essere fatta: se consideriamo le catture durante i campionamenti periodici, il numero di animali campionati nel Stagno B è risultato nettamente

superiore rispetto al bacino in cui sono stati seminati i ragani non appastati (Stagno A). Questo risultato evidenzia una minore presenza di anguille dovuta probabilmente ad una maggiore mortalità dei ragani liberati direttamente nello stagno senza alcuna alimentazione preventiva.

## CONCLUSIONI

Il progetto condotto in una valle emiliano-romagnola è risultato altamente innovativo in quanto si è configurato come uno studio sull'accrescimento delle forme giovanili di anguilla europea (*Anguilla anguilla*) mediante l'impiego di pastoni umidi semisolidi costituiti da fonti alimentari facilmente reperibili all'interno dei bacini vallivi caratterizzati da una ricca comunità bentonica e planctonica.

In particolare i risultati hanno messo in evidenza come diete costituite da prodotti vallivi, quali gamberetti di laguna (*Palaemon* spp.) e latterini (*Atherina boyeri*), utilizzate nell'alimentazione di ragani di *A. anguilla* mantenuti in cattività, abbiano garantito una crescita sovrapponibile, se non superiore, a quella ottenuta con le metodiche standard utilizzate in anguillicoltura intensiva. Per quanto concerne la tipologia di alimento utilizzata per la preparazione delle diete sperimentali, la scelta del pastone umido semisolido sembra essere vincente in quanto:

- è risultato molto apprezzato dai ragani fin dalle fasi iniziali;
- ha garantito performance zootecniche favorevoli;
- ha evidenziato ridotte mortalità;
- è risultato di facile preparazione anche da personale non specializzato.

Considerato inoltre che l'anguilla è un pesce piuttosto sensibile ai cambi di alimentazione, impiegare una tipologia di pastone con caratteristiche simili al *pabulum* presente in natura, può garantire indubbi vantaggi in fase post-semina (riduzione dello stress e della mortalità).

Ne consegue che eseguire una fase di svezzamento/accrescimento in cattività, anche non molto prolungata, con alimenti freschi autoprodotti, evitando quindi la semina diretta dei giovanili di *A. anguilla* appena acquistati, può diventare un passaggio obbligatorio per garantire, nella fase di ingrasso in valle, un risultato positivo in termini di sopravvivenza ed accrescimento.

Per quanto riguarda la prova in campo nei due bacini vallivi monitorati è stata riscontrata una ricca comunità bentonica e planctonica, costituita principalmente da molluschi, crostacei, policheti, larve di insetti e piccoli di pesci: questa abbondante presenza trofica ha determinato una crescita dei ragani che li ha portati, già dopo due stagioni di crescita ad una buona percentuale di animali ad una taglia pronto-vendita.

L'appastamento naturale in vasca non sembra influire la *sex-ratio* della popolazione a favore del sesso maschile andando a scapito della taglia finale delle anguille.

Infine, l'utilizzo di pastone umido formato fonti alimentari reperibili nei bacini vallivi ha evidenziato un sicuro miglioramento in termini di sopravvivenza ma sembra non contribuire nel migliorare la taglia finale dei raganelli.

## Azione 1 – Vallicoltura

### b) recupero di specie autoctone: ghiozzo gò (*Zosterisessor ophiocephalus*)

Il progetto condotto dal Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna prevedeva come obiettivo principale quello di creare all'interno della valle delle aree chiuse specifiche per la frega della specie utilizzando dei nidi artificiali per favorirne la riproduzione ed aumentare la produttività della valle.

Tale obiettivo è stato indagato attraverso due prove:

- ***Indagare le potenzialità riproduttive del ghiozzo gò attraverso una prova di riproduzione artificiale in cattività e contemporaneamente mettere a punto la tipologia di nido artificiale per le prove in campo.***
- ***Mettere a punto una metodica di riproduzione in valle della specie e verificarne la produzione di avannotti***

### Ricerca Bibliografica

Al fine di procedere nel modo più efficace alla fase sperimentale, è stata eseguita una attenta ricerca bibliografica per accedere alle più recenti ricerche scientifiche a livello nazionale ed internazionale relative alla biologia riproduttiva di questa specie.

### Individuazione area sperimentale

Per la prova in valle, è stata scelta la stessa Azienda (**Valle Nuova**) utilizzata per le prove con i ragani, che ha messo a disposizione uno stagno di circa 550 m<sup>2</sup>.



Stagno adibito alla riproduzione del ghiozzo gò

L'area utilizzata presentava caratteristiche idonee alla sperimentazione in quanto:

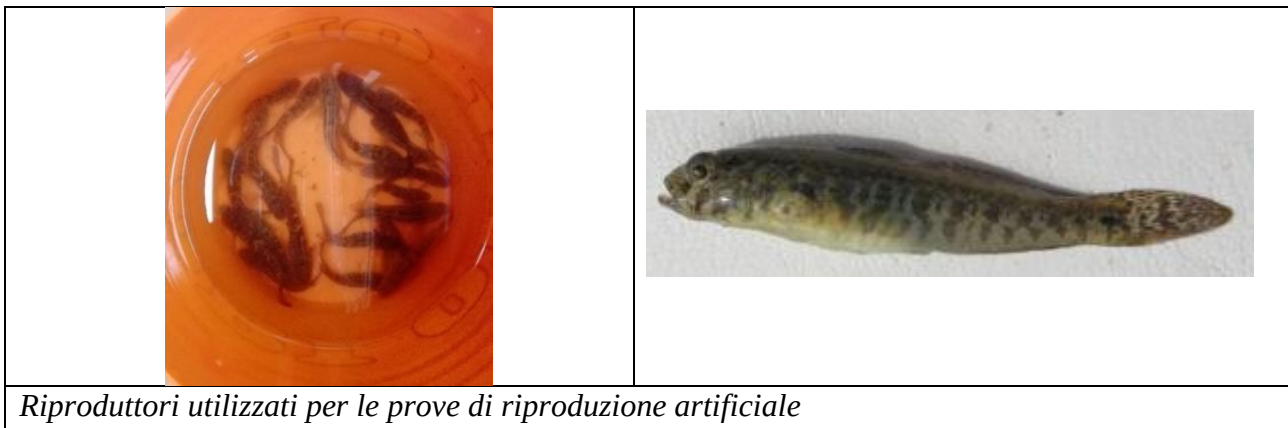
- presentava acque estuariali tipiche delle zone umide lagunari italiane dell'Alto Adriatico;
- il fondo dello stagno era caratterizzato da un substrato fangoso/sabbioso adatto alla vita di questa specie.

### **Riproduzione in cattività**

Nell'autunno/inverno 2020 ha preso avvio la campagna di reperimento di adulti di gò catturati nei lavorieri delle valli e/o mediante reti da posta (bertovelli). Per la prova di riproduzione sono stati selezionati **n. 24 gò adulti** che sono stati trasferiti nella serra ittiologica dell'Università

Gli animali sono stati stabulati momentaneamente in una vasca e dopo un periodo di ambientamento sono stati suddivisi per sesso e sottoposti all'esame delle seguenti caratteristiche biometriche:

- peso totale (g);
- lunghezza totale (cm);
- indice di condizione K.

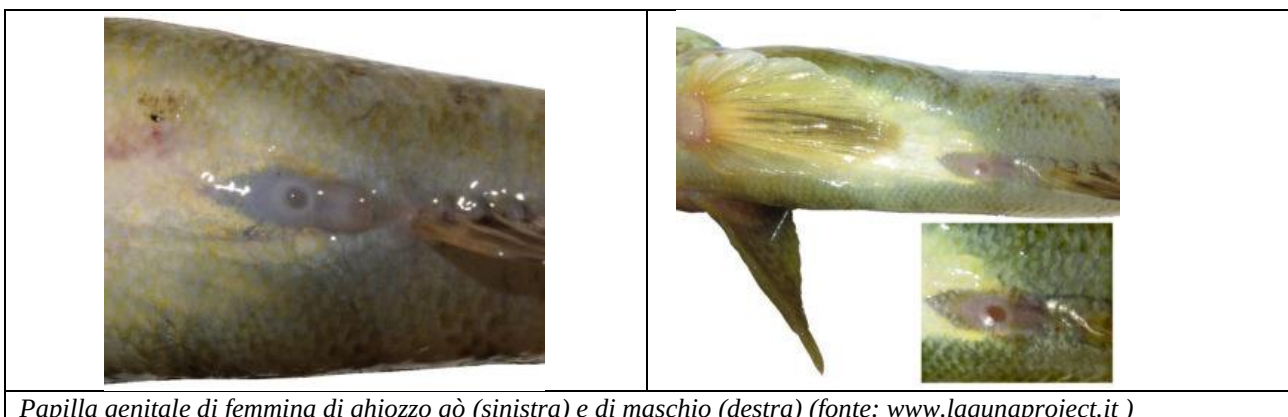


Le femmine sono distinguibili in quanto presentano una papilla genitale dotata di due punte terminali mentre nei maschi risulta essere conica ed allungata. Inoltre i maschi durante il periodo riproduttivo presentano colori più brillanti delle femmine.

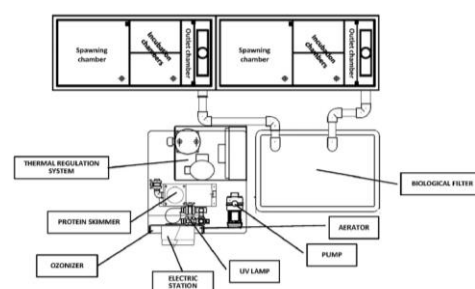
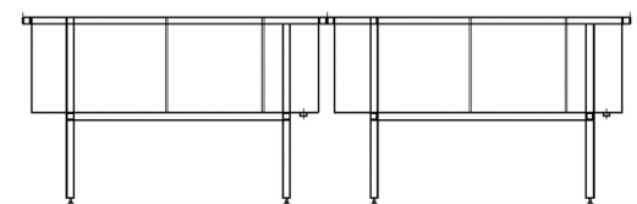
Tre femmine sono state sacrificate con un sovradosaggio di anestetico (fenossietanolo) e sono state prelevate le gonadi attraverso le quali è stato calcolato:

- l'Indice Gonado-Somatico ( $IGS = \text{Peso gonade} / \text{Peso femmina} \times 100$ );
- la fecondità relativa (numero uova per grammo di peso vivo della femmina);
- la fecondità assoluta (numero di uova per femmina).

Infine un campione di un grammo di uova/femmina è stato prelevato per la conta degli oociti al microscopio.



Tutti gli animali sono stati trasferiti in un sistema funzionante a ricircolo (*recirculating aquaculture system* - RAS), composto da due vasche di allevamento di volume 0,7 m<sup>3</sup>, con superficie 1,8 m<sup>2</sup>, da uno schiumatoio di proteine (0,05 m<sup>3</sup>) e da una vasca di volume 1,0 m<sup>3</sup> con filtro biologico. Inoltre, l'impianto era dotato di una lampada sterilizzatrice UV (portata massima 500 L/h, 36 W), di un ozonizzatore (250 mg O<sub>3</sub>/h), di un aeratore (compressore d'aria elettromagnetico con portata 170 L/min, pressione 34 kPa, 150 W), di un sistema di controllo della temperatura dell'acqua (gruppo refrigerante/riscaldante compatto, potenza 1,4 kW) e di un filtro biologico/meccanico. Il volume di acqua totale, pari a 1,12 m<sup>3</sup>, viene movimentato attraverso l'ausilio di una pompa di carico di potenza 1,1 kW e portata massima 16.000 L/h.



*Schema impianto RAS per prove di riproduzione*

Per tutta la durata della sperimentazione i ghiozzi sono stati mantenuti nei seguenti parametri ambientali:

- Tenore di Ossigeno disciolto O<sub>2</sub> = 7 ± 1,5 ppm;
- Salinità = 28 ± 1,5 ppm;
- pH = 8 ± 0,5;
- Ricambio idrico parziale giornaliero del 20%.

Al fine di ottenere la completa maturazione gonadica e l'emissione dei gameti è stato eseguito il seguente programma termo-fotoperiodico:

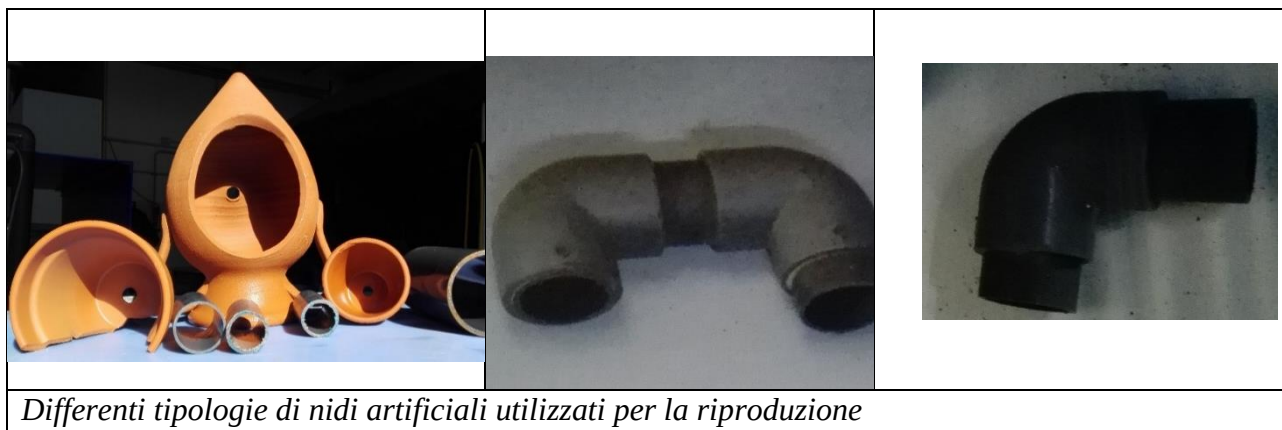
- dagli 11°C iniziali è stato eseguito aumento della temperatura di 2,0°C/settimana fino al raggiungimento dei 15°C raggiunti i quali la temperatura è rimasta costante;
- mantenimento del fotoperiodo tipico del periodo riproduttivo (aumento ore luce di 2ore/settimana) passando da 10 a 14 ore/luce.

Per tutta la durata dell'allevamento, i riproduttori sono stati alimentati ogni due giorni *ad libitum* con *Tubifex*, gamberetti, mitili, alici e sardine freschi o decongelati.

### ***Test su nidi artificiali***

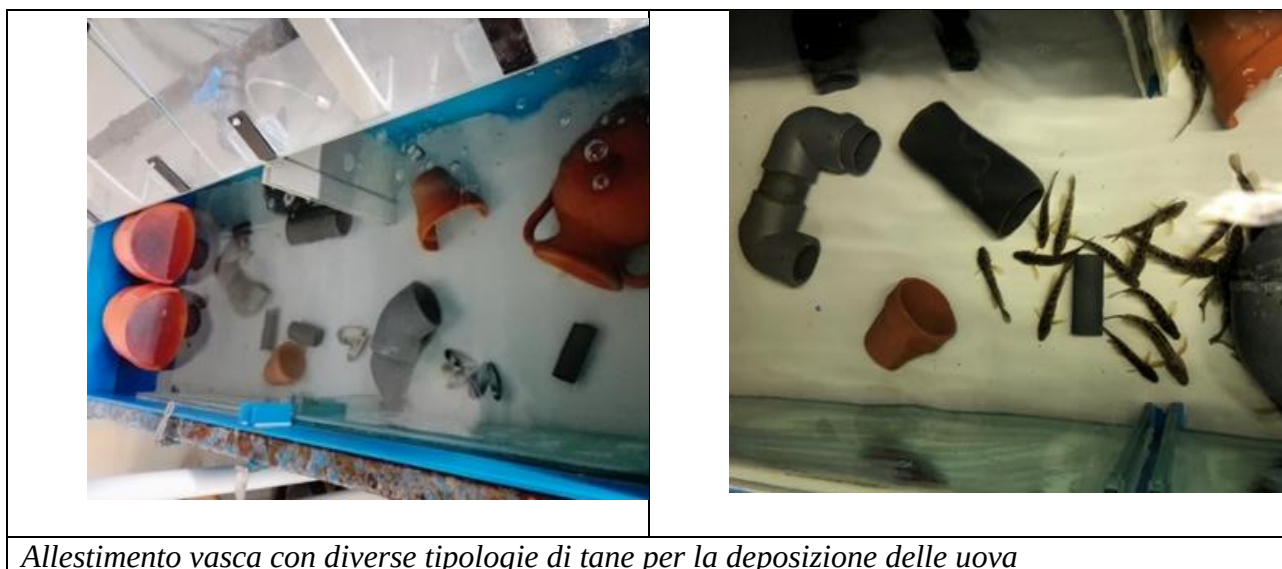
Durante le prove di riproduzione sono stati testate differenti tipologie di nidi artificiali. In particolare sono state testate tane artificiali in relazione a:

- tipologia del materiale (PVC, terracotta e di origine organica (guscio noce di cocco);
- struttura del materiale (liscio o poroso);
- forma del materiale (cilindriche, sferiche e semicurve, completamente aperte o semichiusate).



Per la deposizione delle uova questi manufatti sono stati inseriti all'interno delle vasche dopodichè sono stati inseriti i riproduttori di ghiozzo gò.

La sperimentazione ha avuto una durata complessiva di 90 giorni (febbraio-aprile).



Al termine della sperimentazione sono stati raccolti i dati riproduttivi ed individuate le migliori caratteristiche dimensionali/strutturali dei nidi artificiali da utilizzare per le prove in campo.

### ***Test di alimentazione larvale***

Con una parte di larve ottenute dalla riproduzione artificiale del ghiozzo gò il gruppo di ricerca ha pensato di eseguire un primo test di prima alimentazione larvale per verificare la possibilità di mantenere produrre avannotti da utilizzare in valle per l'allevamento. Per la prova è stato utilizzato un piccolo impianto a ricircolo per acquacoltura (RAS), formato da 4 vasche (30L/vasca) con fondo piatto e dotato di gruppo tecnico (filtro biologico, lampada UV, pompa, sistema di controllo della temperatura).

La sperimentazione è stata condotta lavorando a densità crescenti:

- vasca A - 2 larve/litro;
- vasca B - 5 larve/litro;

- vasca C - 10 larve/litro;
- vasca D - 20 larve/litro.

Il programma prevedeva il seguente programma alimentare:

**1=>6** giorni di età: nessuna alimentazione esogena (assorbimento del sacco vitellino)

**6=>16** giorni di età: alimento micronizzato (5-10 micron) del commercio su base liquida (*Snow Reef*) (composizione: lieviti attivi vivi, polpa di calamaro, e microalghe);

**14=>30** giorni di età: alimento micronizzato (75 micron) del commercio (*Skretting*) ad alto contenuto proteico (59%);

**14=>30** giorni di età: alimento a base di idrolizzato di krill e gambero.

Tutti gli alimenti sono stati somministrati *ad libitum* ed i principali parametri fisico-chimici dell'acqua (composti azotati, pH, Ossigeno disciolto, temperatura).



*Impianto utilizzato per il test alimentare ed alcuni prodotti utilizzati nell'alimentazione*

### **Riproduzione in valle**

Per la prova di riproduzione in valle lo stagno utilizzato è stato schermato nelle vie di uscita da una rete con maglia da 500 µm per impedire la fuga non solo degli adulti ma anche delle larve/avannotti eventualmente presenti grazie all'attività riproduttiva dei ghiozzi.

Nella Primavera del 2021 all'interno dello stagno sono stati inseriti n. 15 tane artificiali aventi le medesime caratteristiche dei nidi utilizzati per le prove di riproduzione artificiale

Questi, sono stati posizionati sia vicino agli argini che al centro dello stagno, ad una profondità di 30-70 cm. Per la loro individuazione e recupero, sono stati agganciati con una cima ad un galleggiante in polistirolo, che ha permesso di effettuare i controlli sull'attività riproduttiva.



*Nidi artificiale utilizzati per la prova di riproduzione in valle*

Una volta preparato lo stagno è stato liberato un secondo lotto di riproduttori costituito da **25 pesci** (n. 10 soggetti di sesso maschile e n. 15 soggetti di sesso femminile) tutti provenienti da catture in valle.



*Liberazione dei riproduttori in stagno*

Per tutta la durata del periodo riproduttivo (aprile-maggio) settimanalmente i nidi venivano sollevati dal fondo per la verifica dell'avvenuta deposizione delle uova.

Nel periodo estivo fino al termine della prova (ottobre) mensilmente sono state eseguite verifiche della presenza delle forme giovanili ed il loro sviluppo all'interno dello stagno.

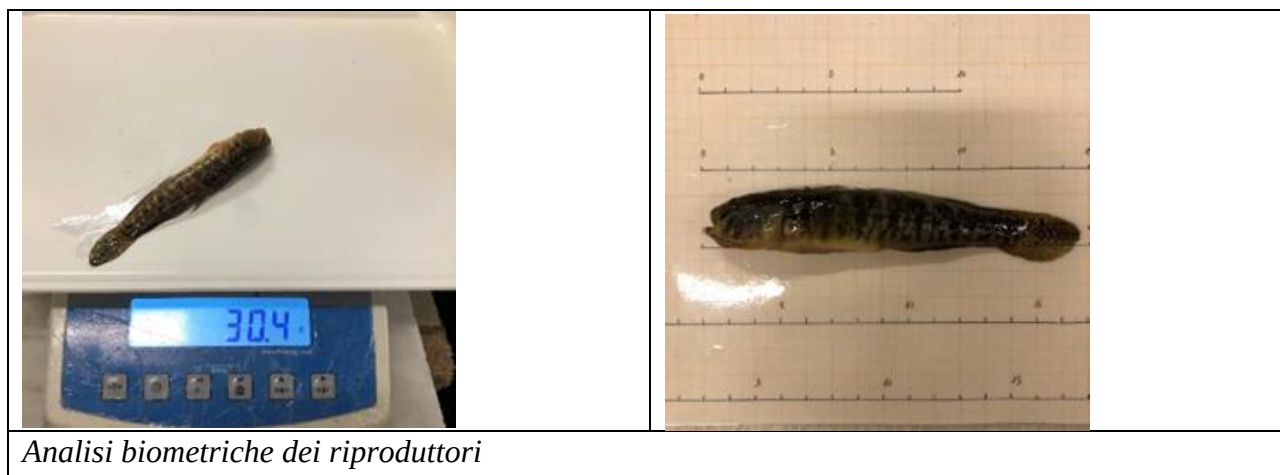
Tutti i dati raccolti relativi alla riproduzione del ghiozzo gò e della presenza ed accrescimento degli avannotti sono stati elaborati e sottoposti ad analisi critica.

## **RISULTATI**

### ***Riproduzione in cattività***

L'analisi del sesso dei 24 ghiozzi catturati, 8 soggetti sono risultati di sesso maschile e 16 di sesso femminile.

Le biometrie del parco riproduttori hanno evidenziato una taglia media superiore delle femmine rispetto ai maschi. Anche il fattore di condizione K nei soggetti di sesso femminile ha mostrato una maggiore corporosità delle femmine, probabilmente dovuto ad uno sviluppo gonadico in fase piuttosto avanzata.



|                         | Femmine    | Maschi     |
|-------------------------|------------|------------|
| Numero                  | 13         | 8          |
| Peso totale             | 32,55±8,13 | 25,48±7,06 |
| Lunghezza totale        | 13,60±1,63 | 13,08±1,55 |
| Fattore di condizione K | 1,29±0,07  | 1,14±0,05  |

Dell'analisi delle gonadi delle 3 fattrici è risultato che il peso delle gonadi hanno sfiorato il 15% del peso del corpo (IGS). Considerando una presenza di circa 2500 oociti in 1 g di gonade ne risulta un **potenziale riproduttivo** pari a quasi **12.000 uova per femmina**.

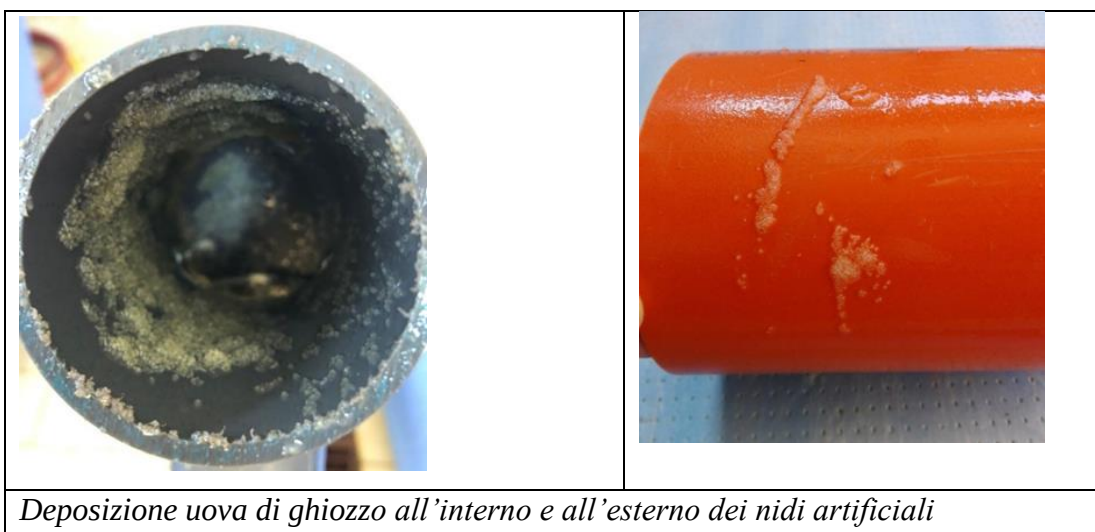
|                            | Femmine                        |
|----------------------------|--------------------------------|
| Numero                     | n. 3                           |
| Indice Gonado-Somatico     | 14,8±2,1                       |
| Numero oociti in 1 grammo  | n. 2483±115                    |
| Grammi di uova per femmina | g. 4,82±0,68                   |
| Fecondità Assoluta         | n. uova/femmina 11968±1688     |
| Fecondità Relativa         | n. uova/g peso vivo 367,7±51,8 |



*Calcolo dell'indice gonado-somatico ed osservazione delle uova*

Per quanto riguarda la riproduzione spontanea in vasca nei 90 giorni di sperimentazione, delle 8 femmine utilizzate 6 (75%) hanno emesso uova feconde che sono state depositate usufruendo delle tane artificiale presenti nell'impianto.

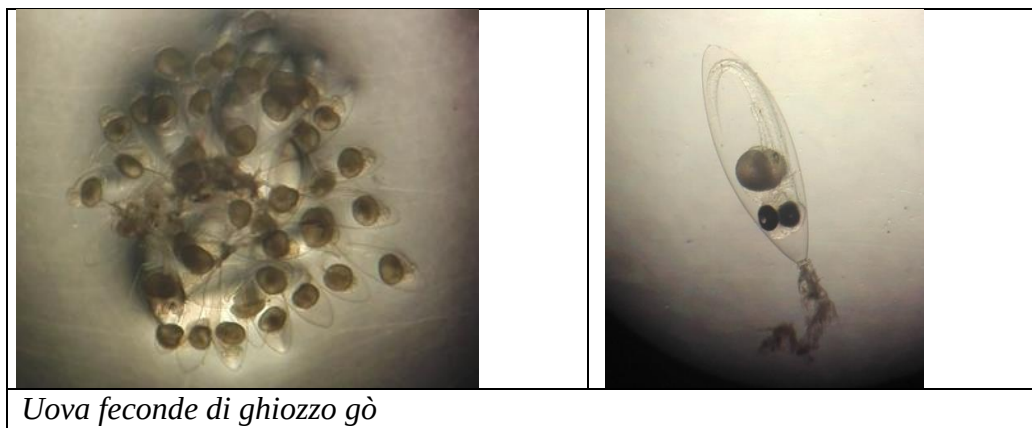
La produzione di uova è risultata abbondante anche se è risultato impossibile quantificarle in quanto risultavano fortemente adese alle pareti e intrecciate o accumulate a formare dei grappoli molto fitti. Da una osservazione di campioni di uova prelevate dai nidi e messi in acquario è stata osservata una percentuale di fecondazione dell' $87,2 \pm 3,7\%$  ed una schiusa del  $94,2 \pm 2,2\%$ .



*Deposizione uova di ghiozzo all'interno e all'esterno dei nidi artificiali*

Dai dati raccolti è tuttavia possibile ottenere con un buon grado di precisione la produttività di una femmina, in termini di produzione di larve, mantenuta in ambiente controllato:

- ipotizzando, in via prudenziale, una produzione di 12000 oociti/femmina, con una emissione di uova pari all'85%, una fecondità di circa l'85% ed una schiusa di circa il 90%, il **numero di larve ottenute da una femmina** si aggira intorno alle **8000**.



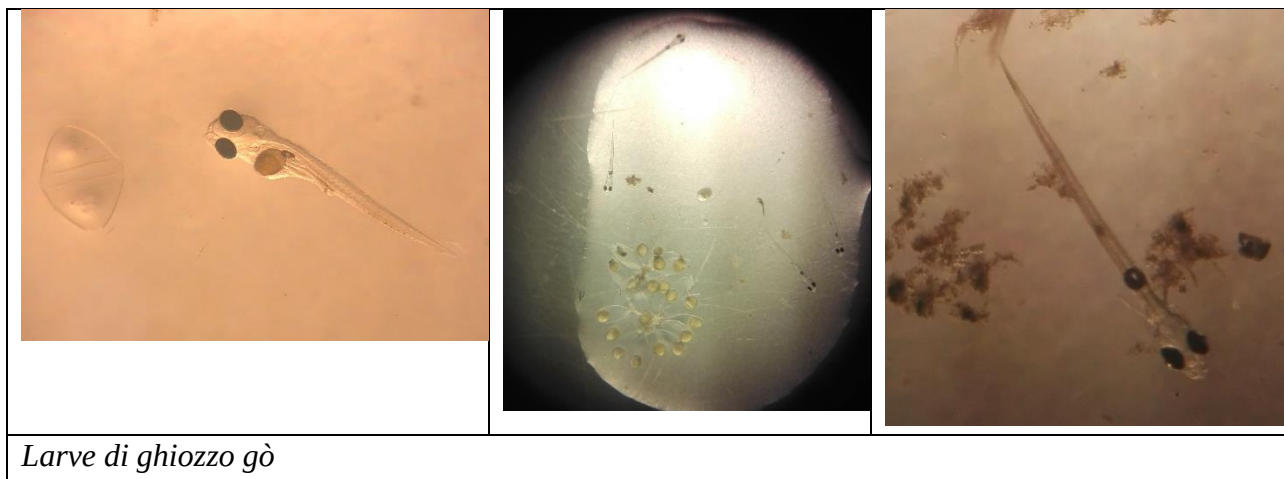
Per quanto riguarda la scelta dei **nidi artificiali** da parte dei riproduttori, i risultati hanno evidenziato quanto segue:

- *la presenza di uova è stata osservata in circa il 90% dei casi all'interno dei nidi artificiali (solo in 1 caso sono state osservate piccole produzioni di uova sulla parete esterna del nido);*
- *la scelta del nido si è rivolta nei confronti dei manufatti in grado di garantire una maggiore protezione grazie alla presenza di una curva o una estremità del nido completamente chiusa;*
- *i nidi con aperture troppo grandi (diametro superiore ai 15 cm) o troppo ridotte (inferiori agli 8 cm di diametro) non sono state utilizzate per la deposizione delle uova;*
- *il colore del materiale non sembra aver influito sulla scelta del nido;*
- *anche la porosità dei materiali non ha influito sul livello di deposizione. Evidentemente la forte presenza di mucoproteina colloidale sulle uova facilita la presa anche su materiali estremamente lisci come il PVC.*

### **Test di alimentazione larvale**

I risultati di questo test, seppur preliminare non hanno dato risultati incoraggianti: già al termine del riassorbimento del sacco vitellino (8vo giorno di età) in tutte le vasche, indipendentemente dalla densità adottata, è stata osservata una costante mortalità che ha raggiunto livelli elevati con il termine dell'alimentazione semi-liquida e l'introduzione del mangime secco (16mo giorno di età). Inoltre fin dall'avvio dell'alimentazione esogena le larve hanno manifestato una scarsa vitalità fino ad ottenere la perdita totale dei soggetti al 27mo giorno di vita.

Infine, da questo primo test di alimentazione è sorto un problema di carattere tecnico, che riguarda una non semplice gestione degli impianti a ricircolo (RAS) a causa delle ridottissime dimensioni delle forme larvali (circa 3,5mm) che hanno fatto emergere difficoltà nel mantenere condizioni ambientali favorevoli alla vita di questa specie: ad esempio, la schermatura degli scarichi con reti a maglia ridottissima e la forzata riduzione del ricambio idrico ha determinato problematiche di accumulo di alimento in vasca, proliferazione batterica ed anossia.



### ***Riproduzione in valle***

Dopo 3 settimane dalla liberazione in stagno dei gobidi è stato possibile osservare l'utilizzo dei nidi artificiali da parte dei riproduttori grazie alla presenza di uova all'interno delle tane. Tale deposizione si è protratta per altre 4 settimane dopodichè solamente un nido è risultato caratterizzato da una modesta presenza di uova. Probabilmente le alte temperature in valle raggiunte in piena estate ha bloccato l'attività riproduttiva dei ghiozzi.

Per quanto riguarda la scelta dei **nidi artificiali** da parte dei riproduttori, i risultati hanno confermato quanto osservato dalla riproduzione in cattività:

- *ricerca dei manufatti con una forma ad "U" o a forma cilindrica ma con una estremità chiusa;*
- *nessuna deposizione in tane in terracotta (anfore vasi) caratterizzati da aperture troppo ampie.*

Il numero di uova presenti all'interno dei nidi, seppur non quantificabile, è risultato inferiore rispetto a quanto osservato nella sperimentazione in vasca (i nidi presentavano visivamente deposizioni più modeste). Questo non necessariamente è indice di minore fecondità delle femmine in quanto i pesci probabilmente possono aver utilizzato altri substrati naturali presenti nel fondo dello stagno. Da una osservazione di campioni di uova prelevate dai nidi, trasportati in laboratorio e messi ad incubare in acquari, è stata osservata una percentuale di fecondazione inferiore rispetto alla riproduzione artificiale ( $62,4 \pm 8,1\%$ ) mentre per quanto riguarda la schiusa i valori sono risultati in linea con quelli osservati in cattività ( $92,2 \pm 3,1\%$ ).



*Controllo tane artificiali con la presenza di uova di ghiozzo*

La fase di campionamento estivo/autunnale per la verifica della presenza di giovanili di ghiozzo ha portato alla cattura di n. 72 soggetti aventi una lunghezza media di circa 5 cm ed un fattore k che evidenzia un buono stato nutrizionale favorito da una situazione ambientale trofica ricca di fauna bentonica e planctonica ed adatta anche alle forme larvali e di ghiozzetti di poche settimane di età.

| Giovanili di ghiozzi campionati |                                    |
|---------------------------------|------------------------------------|
| <b>Peso medio (g)</b>           | <b><math>0,88 \pm 0,29</math></b>  |
| <b>Lunghezza media (cm)</b>     | <b><math>4,896 \pm 0,51</math></b> |
| <b>Fattore di Condizione K</b>  | <b><math>0,73 \pm 0,10</math></b>  |



*Biometrie di avannotti di ghiozzo*

Inoltre, considerando che il metodo di campionamento utilizzato si basava sull'utilizzo di guadini di differenti dimensioni (diametro da 25 a 60 cm e maglia da 1 a 5mm) che venivano fatti scorrere manualmente sul fondo lungo il perimetro dello stagno, il numero di soggetti catturati evidenzia una abbondante presenza di ghiozzi e quindi un esito positivo sia in termini riproduttivi che di sopravvivenza larvale. L'utilizzo di altri sistemi di campionamento come cogolli o bertovelli innescati, non sarebbero state un metodiche idonee alla cattura di pesci di piccolissime dimensioni.



*Fasi di campionamenti di ghiozzo*

## CONCLUSIONI

La sperimentazione eseguita su questa specie ha evidenziato come sia possibile ottenere la riproduzione artificiale del ghiozzo gò e la prima alimentazione larvale in condizioni di cattività. Tuttavia, se la gestione dei riproduttori sembra piuttosto semplice ed in grado di sfruttare al massimo le potenzialità delle femmine garantendo una produzione abbondante di uova e di larve in spazi ristretti, molto più complessa risulta la gestione larvale, dove si sono evidenziate criticità nell'individuazione di una dieta idonea e di carattere tecnico, che riguardano l'impossibilità di utilizzare impianti a ricircolo (RAS), che garantirebbero condizioni ambientali ideali e ottimali da un punto di vista sanitario.

Parimenti la prova di riproduzione effettuata in valle, ha evidenziato come l'introduzione di nidi artificiali adeguatamente costruiti possa garantire una buona riproduzione spontanea, con indubbi benefici nella produzione di giovanili di ghiozzo.

In linea generale, dalla sperimentazione è possibile dedurre che al momento la modalità ottimale per dare avvio ad una attività di tipo acquacolturale sembra quella di eseguire la riproduzione di questa specie in cattività per poi utilizzare due strade entrambe efficaci:

1. una volta ottenute le uova immettere i nidi direttamente negli stagni;
2. attendere la schiusa e liberare le larve con sacco vitellino parzialmente riassorbito (3-4 giorni di età).

## **Azione 1 – Vallicoltura**

### **b) recupero di specie autoctone: schilla (*Crangon crangon*)**

Il progetto ha come scopo principale quello di verificare se sussistono nelle aree vallive emiliano-romagnole condizioni ambientali (temperatura, salinità, ossigeno disciolto, ecc.) e nutrizionali idonee a favorire il completo ciclo biologico del gambero grigio o “schilla” (riproduzione, sviluppo larvale ed accrescimento).

Tale obiettivo è stato perseguito attraverso:

- **una indagine sulle potenzialità riproduttive della schilla attraverso test di riproduzione artificiale in cattività;**
- **una indagine sulla capacità di riprodursi in aree vallive e sulla possibilità di crescita delle forme larvali e/o giovanili.**

Il gambero grigio (*Crangon crangon*) è conosciuto con diversi nomi che cambiano da regione a regione e frequentemente è confuso con un'altra specie molto più comune e abbondante, il *Palaemon elegans* o gamberetto comune. Per questo motivo, erroneamente, sono commercializzate entrambe con il nome di schilla o squilla, generando molta confusione sia tra gli operatori del settore sia tra i commercianti.

La normativa (D.M. n. 19105 del 22/09/2017) specifica quali sono i casi in cui si può usare in commercio la dizione "gambero" senza aggettivi (*Solenocera membranacea*), in quali si può usare la dizione "gambero" seguita da un aggettivo (p.es. Gambero grigio, *Crangon crangon*, gambero rosso, *Aristaeomorpha foliacea*), in quali "gamberetto" (p.es. *Palaemon elegans*) o "gamberone" (ad esempio *Metapenaeus intermedius*).

Nel primo anno di sperimentazione è stato quindi necessario dare le necessarie informazioni ai fornitori per poter distinguere agevolmente le due specie. Tuttavia il numero di schille ottenuto è risultato modesto e si è deciso di dare avvio alla ricerca eseguendo:

- un test in cattività, presso la serra ittiologica di Cesenatico, per prove di maturazione gonadica, riproduzione e valutazione dei potenziali riproduttivi (fecondità relativa e fecondità assoluta) sia di *C. crangon* che di *P. elegans*;
- un test di valutazione sulla maturazione gonadica in acque salmastre utilizzando un'area di poche decine di metri quadri;

Nell'autunno/inverno dell'anno seguente (2021), grazie al reperimento di un numero adeguato di adulti di gambero grigio è stato possibile dare avvio alla prova di riproduzione e sviluppo delle forme larvali in aree vallive.

### **Ricerca Bibliografica**

Al fine di procedere nel modo più efficace alla fase sperimentale, è stata eseguita una attenta ricerca bibliografica per accedere alle più recenti ricerche scientifiche a livello nazionale ed internazionale relative alla biologia riproduttiva di questa specie.

***Prove di maturazione gonadica, riproduzione e valutazione dei potenziali riproduttivi in C. crangon e in P. elegans;***

Nell'autunno/inverno 2020 ha preso avvio il reperimento di adulti di schilla: per lo scopo sono stati contattati commercianti, vallicoltori e pescatori e, come già precedentemente ricordato, si è evidenziata una certa difficoltà da parte degli operatori del settore nel distinguere il gambero grigio dal comune gamberetto. Per questo motivo la partita giunta alla serra ittiologica di Cesenatico era composta da adulti facenti parte delle due specie.



*Liberazione riproduttori in vasca*

Gli animali sono stati stabulati momentaneamente in una vasca e dopo un periodo di ambientamento sono stati suddivisi per specie seguendo le rispettive chiavi dicotomiche e sono stati raccolti i principali parametri biometrici (peso e lunghezza):



***Crangon crangon***

- primo paio di piedi a forma di pinza;
- rostro breve, con bordo tondeggiante che non oltrepassa la linea oculare;
- corpo di colore grigio-bruno con una fitta e sottile maculatura a puntini neri;
- bordi del ventaglio caudale neri.



***Palaemon elegans***

- rostro con 7-9 denti nella parte superiore e 3 in quella inferiore;
- nei pereopodi azzurrastrati sono evidenti delle fasce arancio o gialle sulle articolazioni.



*Individuazione dei soggetti adulti e biometrie*

Per le prove di riproduzione gli animali adulti, suddivisi per specie, sono stati trasferiti in un impianto a circuito chiuso (*recirculating aquaculture system* -RAS): il sistema era composto da due vasche di allevamento di volume 0,35m<sup>3</sup>/cad (superficie 0,9m<sup>2</sup>) ed era dotato di proto-skimmer, filtro meccanico/biologico, lampada sterilizzatrice UV, ozonizzatore e due aereatori/scomparto. L'impianto era inoltre collegato ad un gruppo refrigerante/riscaldante compatto per regolare la temperatura dell'acqua. Per tutta la durata della sperimentazione i gamberi sono stati mantenuti nei seguenti parametri ambientali:

- Tenore di Ossigeno disciolto O<sub>2</sub> =7,0±1,5 ppm;
- Salinità =28±1,5 ppm;
- pH =8,2±0,3;
- Ricambio idrico parziale giornaliero del 50%
- Fotoperiodo naturale.

Al fine di ottenere la completa maturazione gonadica, l'accoppiamento e l'emissione dei gameti è stato necessario effettuare un innalzamento termico in vasca: si è passati da una temperatura di 11±1°C iniziale (temperatura media delle aree vallive dell'alto Adriatico nel periodo gennaio-febbraio) a 18±1°C in un range di tempo di 72ore.

Per tutta la durata dell'allevamento i riproduttori sono stati alimentati ogni due giorni *ad libitum* con una dieta mista composta da tubifex, mitili, alici e sardine freschi o decongelati.

Al termine della sperimentazione sono stati raccolti ed elaborati i principali dati riproduttivi delle due specie al fine di individuare informazioni utili per la sperimentazione in campo.

### ***Maturazione gonadica di adulti di C. crangon mantenuti in acque salmastre;***

Nel mese di dicembre 2020 grazie ad un esiguo numero di adulti di gambero grigio è stato possibile dare avvio ad un test relativo alla maturazione gonadica di adulti di gambero grigio in ambiente vallivo.

Per la prova è stato utilizzato un piccolo stagno all'interno di una valle schermato nelle vie di uscita da una rete con maglia da 500 µm per impedire la fuga dei gamberi: Inoltre la dimensione dello stagno è stata ulteriormente ridotta utilizzando una rete fissata sul fondo con dei pali in legno.



*Schille liberate in stagno e area utilizzata per la sperimentazione*

Una volta preparato lo stagno, le schille sono state liberate e mantenute fino al termine della sperimentazione avvenuta al termine del mese di marzo 2021. A cadenza quindicinale sono state eseguite delle verifiche sull'attività riproduttiva dei gamberi che erano stati catturati utilizzando dei guadini a maglia fine che venivano fatti scorrere lungo l'argine dell'area utilizzata per la sperimentazione.

### ***Indagine sulle capacità riproduttive di crescita delle forme larvali e/o giovanili di gambero grigio in aree vallive***

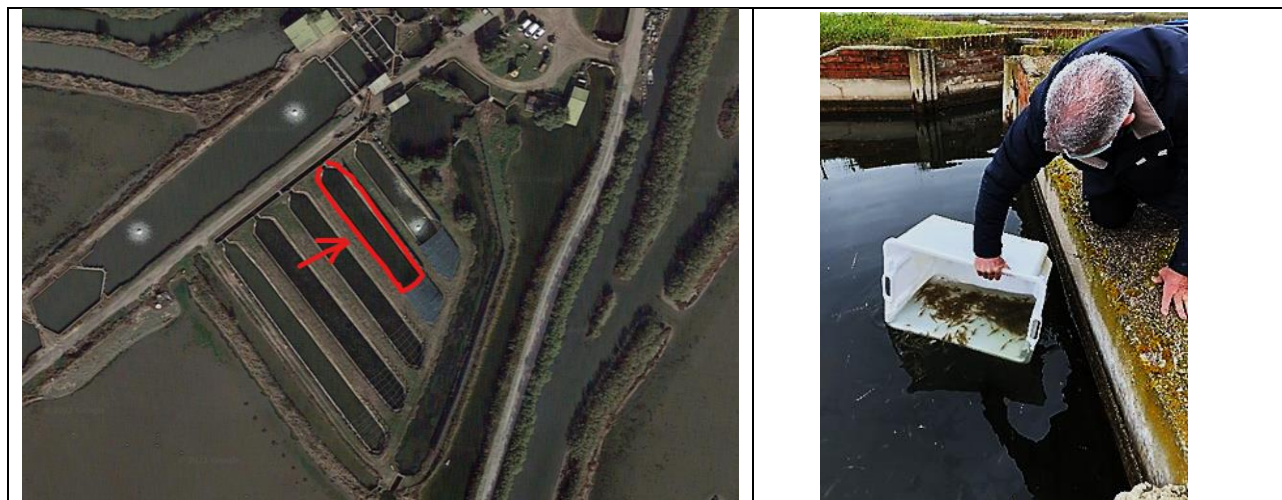
La prova ha preso avvio nel dicembre 2021 con il reperimento di 1 kg di adulti di gambero grigio che è stato stabulato momentaneamente in una vasca all'interno della serra ittiologica dell'Università. Gli animali sono stati sottoposti alla verifica della specie per eliminare l'eventuale presenza di *P. elegans*, dopodichè sono stati raccolti i principali parametri biometrici (peso e lunghezza), è stato osservato lo stato sanitario e l'eventuale presenza di uova sull'addome dei soggetti di sesso femminile.



*Preparazione dello stagno per la riproduzione gambero grigio*

Nel frattempo è stato predisposto all'interno di una valle emiliano-romagnola uno stagno di circa 50 m<sup>2</sup> schermato con una griglia in metallo fa 300 µm per impedire la fuga dei riproduttori e dei nauplii in caso di riproduzione.

In data 22 dicembre 2021 sono stati liberati in valle un lotto di 1 costituito da 350 soggetti adulti di *Crangon crangon*.



*Liberazione dei riproduttori nello stagno*

Per tutta la durata del periodo di sperimentazione fino al termine della prova mensilmente sono state eseguite verifiche della presenza delle forme giovanili ed il loro sviluppo all'interno dello stagno. Tutti i dati raccolti relativi alla riproduzione del gambero grigio e della presenza ed accrescimento delle forme larvali e giovanili sono stati elaborati e sottoposti ad analisi critica.

## **RISULTATI**

***Prove di maturazione gonadica, riproduzione e valutazione dei potenziali riproduttivi sia di C. crangon che di P. elegans;***

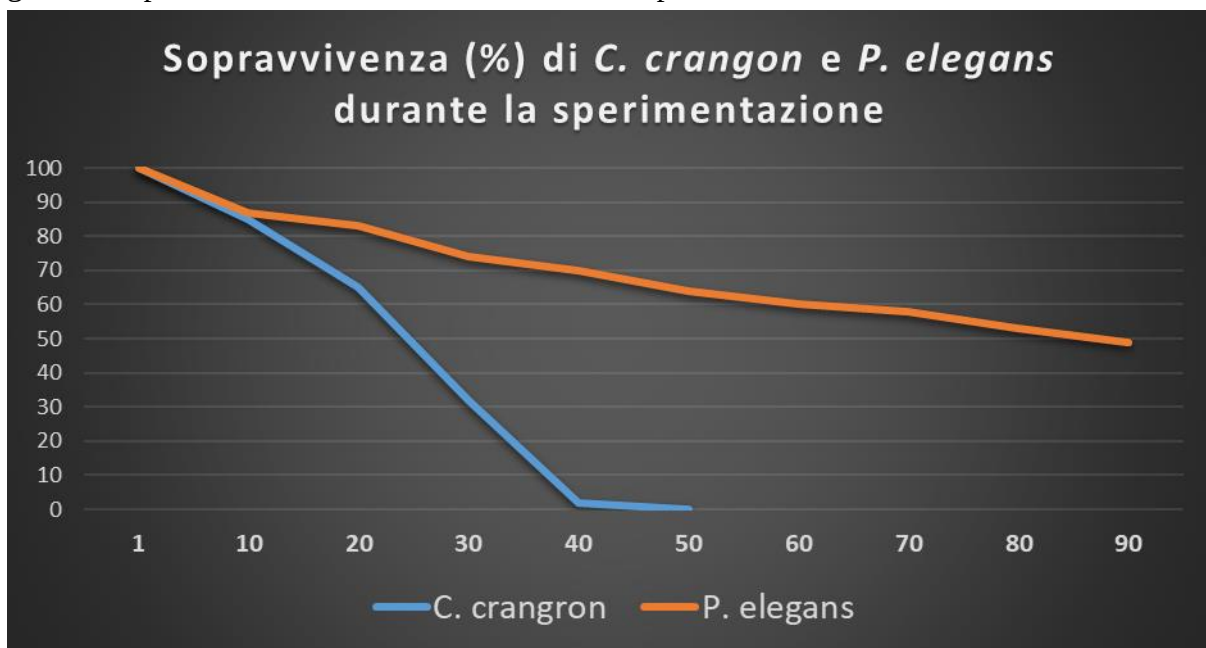
L'analisi dei parametri biometrici degli adulti utilizzati per le prove di riproduzione artificiale hanno evidenziato una dimensione maggiore da parte della schilla mentre è risultata pressochè sovrapponibile la corposità fra le due specie.

|                                | <i>Palaemon elegans</i> | <i>Crangon crangon</i> |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------|
| <b>Peso medio</b>              | 1,98±0,37               | 2,58±0,61              |
| <b>Lunghezza media</b>         | 5,66±0,98               | 6,2±0,83               |
| <b>Fattore di condizione K</b> | 1,09±0,12               | 1,08±0,17              |

Durante la sperimentazione che ha avuto, in questa fase una durata di 90 giorni, le due specie hanno comportamenti differenti che vengono di seguito riassunti e che evidenziano come il gamberetto comune sia in grado di adattarsi meglio alle condizioni di cattività rispetto al gambero grigio:

| <i>Crangon crangon</i>                                                                                                                                                                                                                              | <i>Palaemon elegans</i>                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• scarso appetito;</li> <li>• sviluppata territorialità anche a basse densità;</li> <li>• forte cannibalismo;</li> <li>• nuoto lento e bassa reattività;</li> <li>• nessuna attività riproduttiva</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ottimo approccio col cibo somministrato;</li> <li>• bassa territorialità;</li> <li>• ridotto cannibalismo;</li> <li>• vivace attività in vasca;</li> <li>• presenza di attività riproduttiva</li> </ul> |

Questa difficoltà da parte del gambero grigio è stata evidenziata anche dal grado di mortalità che fin dai primi giorni è risultata molto alta e che ha portato alla completa perdita dei riproduttori al 50mo giorno di sperimentazione e nessuna femmina con presenza di uova.

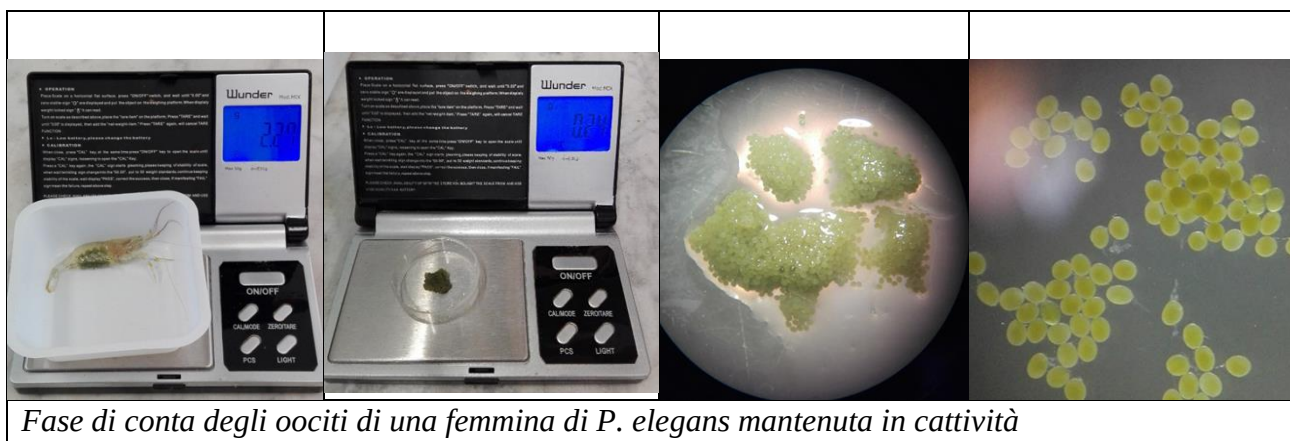


Differenti sono i risultati ottenuti con il *P. elegans* che ha raggiunto livelli di sopravvivenza prossimi al 50% al termine della sperimentazione. Inoltre già a partire dalla terza settimana in cattività ha dato avvio ad una buona attività riproduttiva che si è protratta per circa 60 giorni e che ha evidenziato una buona presenza di femmine ovigere.



I risultati riproduttivi hanno fatto registrare una produzione di circa 1000 oociti per grammo di peso vivo dell'animale e quindi una produzione di **2000-3000 uova per femmina**. Anche le percentuali di fecondazione e dischiusa sono risultati molto elevati e prossimi al 100%. Il calcolo del periodo di incubazione è risultato pari a 4302 gradi/giorno che ad una temperatura media  $18 \pm 1$  °C corrispondono a 24 giorni per ottenere la schiusa.

Ipotizzando di mantenere in una vasca una quantità di soli 500g di adulti di gamberetto con una sex ratio di 1:1, è possibile stimare una produzione di 230.000-270.000 larve di *P. elegans*.



#### ***Maturazione gonadica di adulti di C. crangon mantenuti in acque salmastre;***

Questo piccolo test, eseguito con lo scopo di aver indicazioni preliminari sulla maturazione gonadica del gambero grigio, ha dato risultati negativi. In quanto Infatti fin dai primi campionamenti eseguiti per le verifiche sull'attività riproduttiva non hanno mai portato alla cattura di un solo soggetto precedentemente liberato. Probabilmente si è verificato un errore durante la fase di preparazione dello stagno soprattutto nella fase di fissazione della rete con i pali in legno che ha causato la fuoriuscita dei gamberi.

#### ***Indagine sulle capacità riproduttive di crescita delle forme larvali e/o giovanili di gambero grigio in aree vallive***

Le fasi di campionamento protratte per 4 mesi per la verifica dell'attività riproduttiva hanno portato alla cattura di una sola femmina ovigera e quasi 200 giovanili di gambero grigio.

| Numero | Tipologia       | Peso       | Lunghezza  | Fattore K |
|--------|-----------------|------------|------------|-----------|
| 197    | giovanile       | 0,61±0,18g | 4,2±1,05cm | 0,82±0,1  |
| 1      | Femmina ovigera | 2,78       |            |           |

Il fattore di condizione k dei giovanili è risultato favorevole al parametro peso evidenziando il buono stato nutrizionale degli animali che evidentemente hanno trovato cibo adatto alle numerose fasi naupliari di questa specie.

Per quanto riguarda la femmina ovigera, l'osservazione al microscopio ha evidenziato una produzione di uova modesto e comunque al di sotto del potenziale riproduttivo del gambero grigio.



Campionamento e biometrie giovanili di schilla

La sperimentazione ha evidenziato quindi che la schilla è una specie in grado di riprodursi all'interno delle aree vallive e che le forme larvali possono trovare una situazione trofica adatta alla loro alimentazione. Ma nonostante il *C. crangon* abbia manifestato la possibilità di svolgere l'intero ciclo biologico in acque salmastre, i risultati riproduttivi risultano essere modesti e comunque insufficienti per garantire e pensare ad una attività di tipo zootecnico. Infatti se il numero di giovanili catturati, pensando anche alla metodica di campionamento adottata (unica possibile basata sull'utilizzo di guadini lungo riva), è risultato apprezzabile, non può essere detto altrettanto per il numero di femmine ovigere a causa probabilmente delle di condizioni ambientali non favorevoli per una attività riproduttiva.

## CONCLUSIONI

La sperimentazione eseguita su questa specie ha evidenziato *in primis* come non tutti gli operatori del settore siano in grado di distinguere la vera "schilla" dal comune gamberetto di valle.

Per quanto riguarda l'aspetto relativo alla riproduzione in condizioni di cattività, se per il *P. elegans* la gestione dei riproduttori sembra piuttosto semplice ed è possibile sfruttare al massimo le potenzialità delle femmine garantendo una produzione abbondante di uova e di larve in spazi ristretti,

totalmente diversa è la situazione riferita al *C. crangon*. Questo crostaceo mal si adatta ad essere mantenuto in impianti a ricircolo avendo evidenziato in questa sperimentazione di non essere in grado di riprodursi ed elevate criticità nella sopravvivenza in cattività. Per il gamberetto comune, in previsione di un suo utilizzo per la riproduzione controllata, è necessario migliorare la sincronizzazione delle produzioni di uova, con lo scopo di liberare contemporaneamente grosse quantitativi di forme larvali

Parimenti la prova di riproduzione effettuata in valle, ha evidenziato come la schilla, senza la migrazione in mare, manifesti risultati riproduttivi modesti e comunque insufficienti per garantire e pensare ad una attività di tipo acquacolturale vantaggiosa per il vallicoltore.

## Azione 2 – Sviluppo di mangimi sostenibili e circolari a basso/nullo contenuto di farina e olio di pesce per il cefalo (*Mugil cephalus*) allevato in ambiente vallivo in condizioni semi-intensive

### *Avanzamento rispetto all'ultima relazione*

L'azione 2 del presente progetto consisteva nella ricerca e sviluppo di mangimi contenenti ingredienti circolari per l'alimentazione del cefalo (*Mugil cephalus*) allevato in condizioni semi-intensive. Nello specifico, tre diete a diversa inclusione di farina batterica (PB) (Controllo 0% PB, Dieta A 10% PB e dieta B 20% PB) sono state somministrate in triplicato ad individui di cefalo, posti in nove vasche sperimentali. Le attività svolte rispetto a quelle evidenziate nella relazione sintetica sullo stato di avanzamento lavori (SAL2) (ottobre 2020 e maggio 2021), hanno previsto la conclusione della prova di alimentazione, il campionamento di fine esperimento e l'analisi dei risultati.

### *Conclusione prova di alimentazione*

Per tutto il periodo della sperimentazione è continuata la somministrazione dei mangimi sperimentali (controllo, dieta A e dieta B) ai cefali oggetto dello studio. L'alimento veniva caricato giornalmente in una mangiatoia automatica, posta sopra ogni vasca, regolata per garantire un pasto della durata di sei ore. Gli avanzati non consumati venivano raccolti in appositi colini posti sullo scarico in uscita di ogni vasca. Questi venivano fatti asciugare in stufa a 105 °C per una notte e sottratti al mangime somministrato per calcolare l'esatta quantità di alimento consumato.



Mangiatoia automatica e posizione sopra le vasche



Raccolta dell'alimento non consumato, asciugatura in stufa e pesatura

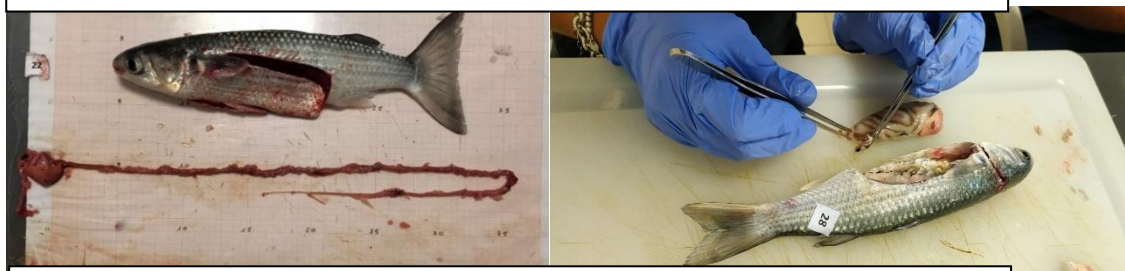
### *Campionamento di fine esperimento*

113 giorni dopo l'inizio della sperimentazione, è stato eseguito il campionamento di fine esperimento. Gli individui di cefalo nelle nove vasche sono stati anestetizzati, pesati individualmente e sottoposti ad un'attenta analisi del loro stato sanitario. Per ogni dieta (controllo, dieta A e dieta B) sono stati verificati i parametri di crescita e gli indici di utilizzazione dell'alimento. Il tasso di crescita specifico (SGR) è stato calcolato con la formula  $SGR (\% \text{ giorno}^{-1}) = 100 * (\ln FBW - \ln IBW) / \text{giorni}$  (dove FBW and IBW rappresentano i pesi finali ed iniziali). L'utilizzazione dei mangimi è stata dedotta con l'indice di conversione alimentare (FCR), che evidenzia l'efficienza dall'animale nell'utilizzare il

mangime per produrre biomassa ed è stato calcolato con la formula  $FCR = \text{alimento mangiato} / \text{incremento di peso}$ . Inoltre, sono state eseguite le analisi centesimali degli animali all'inizio della sperimentazione e dopo 113 giorni di alimentazione con le diete sperimentali, in modo da evidenziare differenze tra i contenuti di proteine, lipidi e umidità. La ritenzione di proteine (PER) è stata calcolata con la formula  $PER = FBW - IBW / \text{proteine assunte con la dieta}$ , la ritenzione dei lipidi (LER) è stata calcolata con formula  $LER = FBW - IBW / \text{lipidi assunti con la dieta}$  (dove FBW and IBW rappresentano i pesi finali ed iniziali). In aggiunta, alcuni animali sono stati campionati per rilevare gli indici biometrici del tratto gastrointestinale quali il rapporto VSI (peso visceri/peso animale), HSI (peso fegato/peso animale) e la lunghezza relativa dell'intestino RGL (lunghezza intestino/lunghezza animale). Infine, la digeribilità apparente della sostanza secca (ADC sostanza secca) e delle proteine (ADC proteina) è stata misurata in vivo grazie al rapporto tra i nutrienti somministrati ed i nutrienti digeriti, calcolato per mezzo di un marker aggiunto alle diete al momento della produzione.



Pesata degli animali e allestimento del tavolo da campionamento



Campionamento per rilevazione degli indici biometrici

### ***Analisi del microbiota intestinale***

Durante il campionamento di fine esperimento sono stati prelevati, dagli animali oggetto del presente studio, dei campioni di contenuto intestinale per la caratterizzazione del suo microbiota. Le analisi sono state svolte presso il dipartimento di scienze e tecnologie alimentari (DISTAL) dell'Università di Bologna. La quantificazione e la caratterizzazione dei ceppi batterici presenti a livello intestinale sono state eseguite sfruttando le più moderne metodiche di biologia molecolare disponibili.

### ***Risultati finali delle performance di crescita ed utilizzazione dei mangimi***

Dopo 113 giorni dall'inizio dell'esperimento, gli animali alimentati con le diete ad inclusione di farina batterica presentavano un peso finale minore rispetto al controllo. Inoltre, gli animali alimentati con la dieta A e B, presentavano un maggiore indice di conversione alimentare (FCR) ed un minore tasso di crescita specifico (SGR). Analogamente, la ritenzione delle proteine e dei lipidi è minore negli animali alimentati con la dieta A e B. Nessuna differenza è stata riscontrata tra indici biometrici considerati così come nei contenuti finali di proteina, lipidi ed umidità. Infine, la digeribilità apparente della sostanza secca e della proteina varia tra le diete (controllo, dieta A e dieta B). La causa di questo fenomeno non è nota e non sembra dipendere dall'inclusione di farine batteriche nelle diete.

I risultati finali sono di seguito riassunti:

|                            | <b>Controllo</b>           | <b>Dieta A 10% PB</b>       | <b>Dieta B 20% PB</b>      | <b>p value</b> |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------|
| IBW (g)                    | 67.65 ± 0.47               | 68.15 ± 0.34                | 68.18 ± 0.22               | 0.2071         |
| FBW (g)                    | 182.13 ± 8.27 <sup>a</sup> | 137.54 ± 10.32 <sup>b</sup> | 108.70 ± 2.57 <sup>c</sup> | 0.0001         |
| SGR (% day <sup>-1</sup> ) | 0.88 ± 0.04 <sup>a</sup>   | 0.62 ± 0.07 <sup>b</sup>    | 0.41 ± 0.02 <sup>c</sup>   | 0.0001         |
| FCR                        | 1.80 ± 0.10 <sup>a</sup>   | 2.69 ± 0.36 <sup>b</sup>    | 4.80 ± 0.12 <sup>c</sup>   | 0.0000         |
| Sopravvivenza (%)          | 98.5 ± 2.6                 | 99.3 ± 1.3                  | 97.0 ± 3.4                 | 0.5868         |

|                                           | <b>Controllo</b>        | <b>Dieta A 10% PB</b>   | <b>Dieta B 20% PB</b>    | <b>p value</b> |
|-------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------|
| <i>Digeribilità dei nutrienti</i>         |                         |                         |                          |                |
| ADC sost. secca (%)                       | 75.8 ± 3.0 <sup>a</sup> | 62.7 ± 3.7 <sup>b</sup> | 71.6 ± 5.2 <sup>ab</sup> | 0.0202         |
| ADC proteina (%)                          | 81.3 ± 1.6 <sup>a</sup> | 68.3 ± 6.6 <sup>b</sup> | 78.5 ± 5.2 <sup>ab</sup> | 0.0399         |
| <i>Indici biometrici</i>                  |                         |                         |                          |                |
| VSI                                       | 5.20 ± 0.60             | 5.79 ± 0.63             | 5.00 ± 1.19              | 0.1480         |
| HSI                                       | 1.07 ± 0.24             | 0.97 ± 0.15             | 1.10 ± 0.29              | 0.5059         |
| RGL                                       | 2.02 ± 0.26             | 1.94 ± 0.18             | 1.77 ± 0.32              | 0.1344         |
| <i>Analisi centesimale della carcassa</i> |                         |                         |                          |                |
| Proteina                                  | 18.09 ± 0.08            | 17.65 ± 0.11            | 17.70 ± 0.76             | 0.4506         |
| Lipidi                                    | 13.60 ± 0.84            | 13.83 ± 0.94            | 11.61 ± 1.50             | 0.0984         |
| Umidità                                   | 64.65 ± 1.05            | 63.35 ± 0.73            | 65.50 ± 2.21             | 0.2734         |
| <i>Indici nutrizionali</i>                |                         |                         |                          |                |
| PER                                       | 1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>  | 1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>  | 0.6 ± 0.0 <sup>c</sup>   | 0.0001         |
| LER                                       | 5.8 ± 0.3 <sup>a</sup>  | 3.8 ± 0.6 <sup>b</sup>  | 1.9 ± 0.1 <sup>c</sup>   | 0.0001         |

### **Risultati del microbiota**

Questo studio ha permesso di caratterizzare per la prima volta il microbiota intestinale del cefalo in cattività, alimentato con diete diverse. La struttura del microbiota intestinale in allevamento è spesso associata con l'assorbimento dei nutrienti e la salute dell'animale. I risultati dell'analisi del microbiota intestinale mostrano che i più abbondanti phyla di batteri presenti nell'intestino del cefalo sono Fusobatteri e Proteobatteri, risultati in linea con quelli rinvenuti in altre specie che condividono lo stesso habitat ed abitudini alimentari. Un dato interessante riscontrato dal presente studio è che negli animali alimentati con la dieta A e B si è evidenziato una crescente presenza di bacilli e clostridi. Queste classi batteriche includono alcuni tra i più promettenti batteri probiotici, spesso associati con un effetto benefico sul sistema immunitario ed alla resistenza alle malattie nei pesci allevati.

### **CONCLUSIONI**

Le proteine batteriche sono ingredienti sostenibili e circolari, che presentano anche una funzione probiotica. Tuttavia, l'effetto di questo nuovo ingrediente sugli indici di conversione dei gruppi è un risultato inatteso. Ulteriori ricerche potranno essere perseguite per comprendere con maggiore chiarezza la funzionalità digestiva e la caratterizzazione dell'attività enzimatica intestinale del cefalo. I risultati dell'analisi del microbiota invece, contribuiscono ad approfondire le conoscenze sulla diversità tassonomica della comunità batterica intestinale presente nel cefalo, risultato essenziale per comprendere al meglio le dinamiche dell'asse dieta-ospite-microbiota intestinale.

### Azione 3 - Validazione di un protocollo produttivo dell'ostrica (*Crassostrea gigas*) in allevamenti di molluschi off-shore utilizzando supporti in bioplastica.

#### ***Raccolta di informazioni tecniche e messa in funzione del nuovo impianto***

Nei primi mesi del progetto, sono state svolte ricerche bibliografiche funzionali ad acquisire le più recenti conoscenze ed informazioni relative al corretto funzionamento di impianti di stabulazione. In particolare, è stata posta particolare attenzione ai fattori e alle unità funzionali dell'impianto in grado di garantire il pieno benessere degli animali stabulati e il pieno controllo delle condizioni ambientali di allevamento.

Con la ditta incaricata dell'installazione del nuovo impianto sono stati svolti incontri e sopralluoghi preliminari a cui sono poi seguiti il collaudo e la messa in funzione delle vasche, degli acquari e dei sistemi di filtrazione connessi (Fig. 1).



Fig. 1: Impianto a ricircolo e impianto di acquari

#### ***Reperimento delle ostriche***

Le ostriche utilizzate per la sperimentazione sono state reperite dallo schiuditoio di Goro (FE) “NaturEdulis” e inizialmente stoccati presso gli stabulari dell’Università in 9 vasche quadrate a fondo conico a ricircolo chiuso (Fig.2). Il peso iniziale degli animali era in media di  $20,25 \pm 2,74$  g, la lunghezza di  $55,48 \pm 4,38$  mm (Fig.3), il peso del corpo molle bagnato  $3,91 \pm 0,9$  g. Con questi dati è stato possibile ricavare l’indice di condizione che esprime la resa in polpa che è la parte edibile dell’animale e quindi denota la qualità del prodotto commerciale (indice di condizione  $IC = \text{peso corpo molle} / \text{peso totale dell'animale} \times 100$ ). Il IC medio iniziale era pari a  $22,19 \pm 2,36$ .



Fig. 2: Ostriche stabulate in vasca



Fig. 3: Misurazione lunghezza

### ***Reperimento delle cassette***

L'azienda "Wasp" di Massa Lombarda (RA) attraverso l'uso della tecnologia di stampanti in 3D ha inizialmente progettato il disegno delle cassette da utilizzare per l'allevamento, di modo che fossero impilabili e favorissero un flusso di acqua attraverso. Successivamente, sono state condotte prove di stampa per verificare quale biomateriale si prestasse meglio alla resistenza richiesta delle cassette. Sono state quindi stampate 15 cassette di dimensioni ridotte per la sperimentazione in laboratorio (30x40 cm) e 15 di dimensioni uguali alle cassette in polipropilene normalmente utilizzate per l'ostricoltura (60x40 cm) per la sperimentazione off-shore in mare aperto. Sono state prodotte due tipologie di cassette, una costruita per il 100% di PLA (acido polilattico derivato dall'amido di mais) e una col 50% di PLA e 50% di PHB (poli-β-idrossibutirrato derivato da batteri) (Fig.4).



Fig. 4: Stampante 3D utilizzata in Wasp e le due tipologie di cassette costruite

### ***Sperimentazione in laboratorio***

Come da protocollo, le ostriche sono state suddivise in due gruppi sperimentali da 30 individui: un gruppo stabulato all'interno delle cassette di bioplastica negli acquari, l'altro utilizzato come controllo negativo in cassette di plastica standard costituite da polipropilene aventi le stesse dimensioni (di

colore nero). Il corpo molle di 12 animali dello stesso lotto è stato seccato in stufa a 60°C per 24 ore al fine di valutarne il peso secco e da questo calcolare la razione pari al 4-5% di alghe da somministrare agli animali. Per l'alimentazione è stata utilizzata una coltura viva della microalga *Isochrysis galbana*. La prova di accrescimento nelle cassette è durata 30 giorni, al termine del quale sono stati sacrificati tutti gli animali per rivalutarne gli indici biometrici (Fig. 5). In questo modo è stato possibile riscontrare un accrescimento cumulativo del 20% senza alcuna differenza tra i due gruppi: peso medio dell'animale pari a  $23,71 \pm 0,75$  g; lunghezza media delle valve  $59,90 \pm 0,97$  mm; peso medio del corpo molle di  $5,38 \pm 0,90$  g; indice di condizione medio  $22,05 \pm 1,62$ . Al termine della prova è stato valutato anche il peso dell'epatopancreas degli animali o ghiandola digestiva (che funge da riserva energetica) e l'indice epatosomatico ( $IES = \text{peso epatopancreas}/\text{peso totale} \cdot 100$ ), anche per questi parametri, non sono state riscontrate differenze tra i due gruppi, aventi un valore medio di peso della ghiandola digestiva di  $0,62 \pm 0,11$  g e un IES medio pari a  $2,55 \pm 0,35$ . Inoltre, le bio-cassette non hanno mostrato alcun segno di usura, cedimento o deformazione, né formazioni di biofouling.



Fig. 5: Disposizione delle cassette e degli animali negli acquari, apertura ostriche

### ***Sperimentazione off-shore***

Al protocollo da laboratorio è seguita una prova di validazione in campo. 600 animali della stessa specie *C. gigas* sono stati seminati presso un allevamento off-shore long-line di molluschi a Cesenatico utilizzando le cassette precedentemente descritte. Sono state utilizzate tre densità di semina formando sei pile (3 di plastica e 3 di bioplastica) da 5 cassette: due pile contenevano 30 animali per cassetta con un peso totale medio cesta di  $578,35 \pm 27,02$  g, altre due 40 ostriche con peso medio  $765,34 \pm 0,31$  g e altre due ancora 50 con peso medio di  $933,35 \pm 0,04$  g. Gli animali avevano una lunghezza media di  $53,27 \pm 5$  mm, CI di  $28,35 \pm 5,06$ , peso epatopancreas  $1,23 \pm 0,66$  g, IES  $7,50 \pm 2,70$ . Dopodiché i pescatori di Cesenatico hanno provveduto a legare e fissare le pile alla cima del sistema longline e calarle in mare (Fig. 6).



Fig. 6: Pescatori impegnati nelle operazioni di fissaggio delle pile di cassette al sistema longline

## Azione 4 - disseminazione dei risultati e trasferimento tecnologico

Al termine del progetto sono stati organizzati due momenti formativi e di disseminazione indirizzati ai produttori e allevatori di molluschi e ai vallicoltori:

Il 19 marzo presso il Centro Universitario di Produzioni Ittiche dell'Università di Bologna in Via Magrini 31, Cesenatico è stato organizzato il primo evento di disseminazione dedicato ai molluschicoltori. L'evento ha presentato congiuntamente i risultati dell'azione 3 sulla molluschicoltura e i risultati di un altro progetto regionale finanziato all'Università di Bologna nell'ambito della Misura 1.26 "Innovazione". Si riporta qui di seguito il materiale informativo e il programma del workshop. All'evento hanno partecipato allevatori, pescatori, presidenti di associazioni di categoria del settore pesca e acquacoltura, studenti e personale della Regione Emilia Romagna. Sono stati presentati i risultati più importanti ottenuti e fornito indicazioni tecniche in merito all'uso dei nuovi supporti in bioplastica per l'allevamento delle ostriche. Alla presentazione è seguito un momento di dibattito e approfondimento con domande e commenti da parte dei partecipanti al workshop.

Fig. 7: alcuni momenti del workshop del 19 marzo presso il Centro Universitario di Produzioni Ittiche





ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



UNIONE EUROPEA



ministero delle politiche agricole  
alimentari e della foreste

Priorità 1 - Obiettivo tematico 3  
Misura 1.26 - "Innovazione"  
Art. 26 Reg. (UE) n. 508/2014  
Avviso pubblico annualità 2019

Priorità 2 - Obiettivo tematico 3  
Misura 2.47 - "Innovazione in acquacoltura"  
Art. 47 Reg. (UE) n. 508/2014  
Avviso pubblico annualità 2019

**19 MARZO 2022 ore 9.00 - Cesenatico (FC)**

Centro Universitario di Produzioni Ittiche

UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Via Magrini, 31 - 47042 - Cesenatico (FC)

### **Presentazione dei risultati**

## **AZIONE PILOTA PER LA SOSTENIBILITÀ DELLA PESCA CON LE NASSE IN EMILIA-ROMAGNA**

**&**

## **VALIDAZIONE DI UN PROTOCOLLO PRODUTTIVO DELL'OSTRICA IN ALLEVAMENTI DI MOLLUSCHI OFF-SHORE UTILIZZANDO SUPPORTI IN BIOPLASTICA (azione 3 del progetto)**

### **Programma**

9.00: Iscrizioni

9.45: Apertura convegno e saluto Autorità

10.15 -10.45: Caratteristiche microbiologiche di *Tritia mutabilis* ed analisi delle condizioni di filiera  
(Prof.ssa P. Serratore)

10.45-11.00: Caratteristiche virologiche di *Tritia mutabilis* (Prof.ssa S. Ciulli)

11.00-11.15: Caratteristiche tossicologiche di *Tritia mutabilis* (Prof.ssa A. Zaccaroni)

11.15-12.00: Recupero delle uova di seppia e lumachino, sviluppo controllato delle stesse e re-immissione dei giovanili nelle aree di raccolta (Prof. O. Mordenti/Dr. P. Emmanuele).

12.00-13.00: Nuove tecnologie e strategie per la riduzione dell'uso di plastiche in molluschicoltura  
(Prof. A. Bonaldo/Dott.ssa De Marco)

13-14: Chiusura convegno e pranzo.

- Per ulteriori informazioni contattare Prof.ssa Zaccaroni tel:3475951709.



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

## CONTESTO E CONTENUTI DEL CONVEGNO

Il convegno ha lo scopo di condividere con gli stakeholders, gli studenti e la cittadinanza le nuove acquisizioni scientifiche ottenute nell'ambito di due progetti FEAMP finanziati dalla Regione Emilia Romagna e svolti dai ricercatori del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna nel corso del 2020-2022.

### Sostegno alle attività di pesca con nasse

La piccola pesca artigianale, la più diffusa in tutta la GSA 17 cui appartiene anche l'Emilia-Romagna, è al centro delle politiche comunitarie sulla pesca, perché considerata generalmente meno impattante sulle risorse e a maggiore valenza sociale. Nell'ambito della piccola pesca artigianale, quella svolta con nasse e nassini da anni mostra un deciso calo di redditività, sia per diminuzione quantitativa della risorsa più remunerativa, la seppia comune (*Sepia officinalis*), prossima al limite massimo di sfruttamento in tutto il Mediterraneo, sia per la diminuzione quantitativa e scarsa valorizzazione di mercato di un'altra risorsa, quella del lumachino, gasteropode marino della specie *Tritia mutabilis*.

**OBIETTIVO 1.** Ottimizzazione della filiera dei gasteropodi marini e valorizzazione di questi prodotti sul piano della qualità e della sicurezza alimentare, per un migliore posizionamento sul mercato, con particolare riguardo al lumachino della specie *Tritia mutabilis*.

**OBIETTIVO 2.** Salvaguardia ecosistemica degli stock della seppia comune (*Sepia officinalis*) e del lumachino (*Tritia mutabilis*), mediante il recupero delle uova dalle attrezzature di pesca (nasse e nassini), sviluppo controllato delle stesse e re-immissione dei giovanili nelle aree di raccolta.

### Sostegno alla molluschicoltura

La molluschicoltura rappresenta la prima voce della produzione dell'acquacoltura nazionale dove l'Emilia Romagna riveste un ruolo chiave essendo la regione a maggior produzione. Se la mitilicoltura rappresenta la principale attività ben consolidata da decenni, l'allevamento dell'ostrica (*Crassostrea gigas*) è ancora poco praticata. Recenti studi e progetti pilota confermano la fattibilità per l'allevamento di questa specie nelle acque regionali e ciò rappresenta una valida strategia per aumentare la produzione e la competitività del settore. La pratica di allevamento nelle acque territoriali che è risultata più idonea prevede l'uso di ceste in plastica all'interno delle quali le ostriche trascorrono tutto il ciclo di accrescimento fino al prodotto commerciale. Al fine di limitare l'utilizzo della plastica nelle attività marine produttive specialmente quella con finalità alimentare l'impiego di polimeri biodegradabili potrebbe rappresentare un valido strumento di applicazione per garantire lo sviluppo sostenibile di questa tipologia di allevamento.

**OBIETTIVO.** Aumentare e sostenere la produzione di ostriche, attraverso lo sviluppo di sistemi sostenibili e circolari a basso impatto ambientale.

Il 7 maggio 2022 presso Valle Nuova a Comacchio si è svolto il secondo momento divulgativo indirizzato ai vallicoltori. Hanno partecipato rappresentanti di tutte le valli regionali, il Presidente dell'Associazione Vallicoltori, Associazioni di categoria del mondo della pesca e acquacoltura e personale della Regione Emilia Romagna. Si allega programma e materiale informativo del workshop. Sono stati presentati i risultati ottenuti in azione 1 e 2 del progetto con particolare riferimento alle nuove tecniche di appastamento delle anguille alla semina in valle, alla produzioni di nuove specie per la vallicoltura e all'allevamento semi-intensivo del cefalo. Sono inoltre stati presentati i risultati di un altro progetto per la standardizzazione e caratterizzazione organolettica della bottarga da cefali di valle. Alla presentazione, è seguito un lungo dibattito dove sono state rivolte domande e fatti commenti di approfondimento relativi ai risultati presentati. In particolare, sono state discusse le recenti criticità per il reperimento di ragani e ceche di anguille, la necessità di utilizzare nuove specie in vallicoltura e la valorizzazione del cefalo anche attraverso la trasformazione e lo sviluppo di nuovi prodotti come bottarga o filetti lavorati

Fig 8: Alcuni momenti del workshop del 7 maggio presso Valle Nuova





Priorità 2 – Obiettivo tematico 3  
Misura 2.47 – “Innovazione in acquacoltura”  
Art. 47 Reg. (UE) n. 508/2014  
Avviso pubblico annualità 2019

## **7 MAGGIO 2022 ore 10.30 – Valle Nuova Via Lido di Volano 99, Comacchio (FE)**

### **Presentazione dei risultati e incontro con gli stakeholders**

- ✓ **Validazione di un protocollo alimentare naturale e sostenibile per lo svezzamento dell'anguilla (*Anguilla anguilla*) e la semina in valle**
- ✓ **Recupero di specie autoctone per la vallicoltura**
- ✓ **Sviluppo di mangimi sostenibili e circolari a basso/nullo contenuto di farina e olio di pesce per il cefalo (*Mugil cephalus*) allevato in ambiente vallivo in condizioni semi-intensive**

### **Programma**

|               |                                                                                                                         |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10.30 -11.00  | Apertura workshop e saluto Autorità                                                                                     |
| 11.00-11-10   | Presentazione del Progetto finanziato FEAMP (Prof. Alessio Bonaldo)                                                     |
| 11.10 – 11.30 | Validazione di un protocollo alimentare su giovanili di anguilla (Prof. Oliviero Mordenti)                              |
| 11.30 - 11.50 | Recupero di specie autoctone: la schilla e il gò (Prof. Oliviero Mordenti)                                              |
| 11.50 - 12.10 | Prove di allevamento e potenzialità di crescita del cefalo allevato in condizioni semi-intensive (Dott. Andrea Bertini) |
| 12.10 – 12.30 | Analisi sensoriale di bottarga da cefalo di valle (Dott.ssa Martina Magnani)                                            |
| 12.30 - 14.00 | Chiusura convegno e pranzo                                                                                              |

Per info: Alessio Bonaldo 3358395218 – [alessio.bonaldo@unibo.it](mailto:alessio.bonaldo@unibo.it)  
Oliviero Mordenti 3397806015 – [oliviero.mordenti@unibo.it](mailto:oliviero.mordenti@unibo.it)

### **CONTESTO E CONTENUTI DEL CONVEGNO**

Il convegno ha lo scopo di condividere e discutere con i vallicoltori e le autorità locali le nuove acquisizioni scientifiche ottenute nell'ambito di un progetto FEAMP Misura 2.47 “Innovazione in

acquacoltura” finanziato dalla Regione Emilia Romagna e svolto dai ricercatori del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell’Università di Bologna nel corso del 2020-2022.

### **Validazione di un protocollo alimentare naturale e sostenibile per lo svezzamento dell’anguilla (*Anguilla anguilla*) e la semina in valle**

In vallicoltura da alcuni decenni, causa il progressivo declino del fenomeno della montata naturale dei giovanili di anguilla, si ricorre alle semine principalmente di ragani (più raramente ceche) che provengono principalmente dalla Francia, dalla Danimarca, dai Paesi Bassi e dalla Svezia. Questi animali, solitamente a digiuno per periodi prolungati, dopo il lunghissimo viaggio vengono seminati direttamente in valle al loro arrivo. Tutto questo porta ad elevate perdite iniziali a causa del forte stress e delle difficoltà ad alimentarsi /adattarsi nel nuovo ambiente. Ne consegue che eseguire una fase di appastamento/accrecimento in cattività, anche non molto prolungata, con alimenti freschi autoprodotti, evitando quindi la semina diretta dei giovanili di *A. anguilla* appena acquistati, diventa un passaggio imprescindibile per garantire, in fase di ripopolamento in valle, un risultato positivo in termini di sopravvivenza. Inoltre, considerato che l’anguilla è un pesce piuttosto sensibile ai cambi di alimentazione (specialmente quello sensoriale) anche l’utilizzo di giovanili provenienti da allevamento in cattività troverebbero indubbe difficoltà ad ambientarsi ad un nuovo regime alimentare a base di alimento fresco.

**OBIETTIVO.** Lo scopo di questa azione è quello di testare una tipologia di pastone autoprodotta composta da alimenti freschi presenti in valle con caratteristiche fisiche e sensoriali sovrapponibili al *pabulum* presente in natura, al fine di garantire indubbi vantaggi in fase post-semina sia in termini di riduzione dello stress che in termini di sopravvivenza ed in ultima analisi in termini di produttività della valle.

### **Recupero di specie autoctone per la vallicoltura**

*gamberetto grigio (Crangon crangon)*

Il gamberetto grigio (*Crangon crangon*) detto “schilla” è un crostaceo presente in gran parte dell’Europa che ha un elevato valore commerciale ed è un importante settore della pesca. La crescente domanda e l’alto valore commerciale possono rendere questa specie un candidato interessante per la vallicoltura emiliano-romagnola, specie presente nelle nostre valli la cui consistenza risulta purtroppo essersi ridotta in questi ultimi anni. Il *Crangon crangon* è una specie presente a diverse latitudini (i limiti meridionali della sua distribuzione sono infatti le coste settentrionali del Mar Mediterraneo) in quanto può variare lo schema del ciclo riproduttivo in risposta alle caratteristiche particolari del loro ambiente (salinità, temperatura e disponibilità di cibo). Sulla costa mediterranea, le schille migrano dall’acqua di mare alle acque salmastre all’inizio dell’autunno e ritornano all’acqua di mare in primavera. Più precisamente ogni anno, le femmine nidificanti sono registrate nelle lagune salmastre da novembre a febbraio e poi ritornano in mare per la deposizione delle uova e la schiusa delle larve.

**OBIETTIVO:** lo scopo di questa azione è quello di verificare se sussistono nelle aree vallive emiliano-romagnole condizioni ambientali (temperatura, salinità, ossigeno disciolto, ecc.) e nutrizionali idonee a favorire il completo ciclo biologico del gambero grigio (riproduzione, sviluppo larvale ed accrescimento).

*-ghiozzo gò (Zosterisessor ophiocephalus)*

Il gò è un ghiozzo che vive a modesta profondità in ambienti marini, estuari e lagunari, su fondali sabbiosi/fangosi. La riproduzione ha luogo da fine febbraio a maggio sia in acque marine costiere che lagunari, in tane scavate sul fondo sotto un letto di rizomi. E’ una specie piuttosto rustica, eurialina ed euriterma in grado di sopportare le elevate variazioni stagionali di salinità e temperatura delle acque lagunari e vallive. Tuttavia la sua presenza in questi ultimi anni risulta notevolmente

ridotta. Questo pesce, seppur considerato una “specie accessoria”, ha sempre rivestito un certo interesse nella vallicoltura ed è stata regolarmente commercializzata. In virtù delle sue maggiori dimensioni e delle sue carni saporite spunta un prezzo nettamente superiore rispetto agli altri Gobidi. In questi ultimi anni la domanda e di conseguenza il prezzo è aumentato poiché il gò è stato rilanciato dalla ristorazione come “specie di pregio” ed utilizzato come pesce da frittura e da zuppa. Questa situazione ha portato il gò ad essere considerata una specie acquicola con un buon potenziale di mercato.

**OBIETTIVO:** lo scopo di questa azione è quello di creare all'interno della valle delle aree chiuse specifiche per la frega della specie utilizzando dei nidi artificiale per favorirne la riproduzione ed aumentare la produttività della valle.

### **Sviluppo di mangimi sostenibili e circolari a basso/nullo contenuto di farina e olio di pesce per il cefalo (*Mugil cephalus*) allevato in ambiente vallivo in condizioni semi-intensive**

Il cefalo (*Mugil cephalus* L. 1758) è una specie onnivora e eurialina, che può essere allevato in un'ampia gamma di temperature e salinità del bacino del Mediterraneo. In Italia, dove l'allevamento è praticato da secoli, la produzione annuale raggiunge quasi le 1.000 tonnellate. È probabile che la domanda di questo pesce in Italia aumenti a causa della domanda del mercato di "bottarga", un prodotto di alto valore derivante dalla lavorazione delle uova di muggine. Questa specie può essere considerata un eccellente candidato per la valorizzazione e la diversificazione dell'acquacoltura regionale in quanto può essere allevato in diverse condizioni ambientali e salinità, ad esempio stagni, lagune costiere e "valli", grazie al suo buono adattamento alla cattività, crescita rapida, abitudini alimentari onnivore e alto prezzo di mercato della "bottarga". I giovani di cefali sono generalmente catturati in natura e allevati estensivamente in sistemi mono o di policoltura, ma per fornire un mercato consolidato nell'area del Mediterraneo, deve essere sviluppata la monocoltura intensiva di questa specie. Questo fatto implica lo sviluppo di mangimi adatti alle esigenze nutrizionali dell'animale, economica e sostenibile. D'altro canto, sono in atto numerose ricerche sulle specie ittiche allevate più importanti finalizzate a ridurre l'utilizzo di farina di pesce e olio di pesce nei mangimi mediante l'utilizzo di nuovi ingredienti più sostenibili e provenienti da filiere produttive circolari.

**OBIETTIVO:** lo scopo di questa azione è aumentare e sostenere la produzione di cefali, anche per la produzione di bottarga, attraverso lo sviluppo di diete sostenibili e circolari a basso/nullo contenuto di farina e olio di pesce.

Cesenatico 10 maggio 2022

Il Responsabile Scientifico

Prof. Alessio Bonaldo

