Al Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali

Dipartimento delle politiche competitive della qualità agroalimentare, ippiche e della pesca
Direzione generale della pesca marittima e dell'acquacoltura
PEMAC I - Ricerca scientifica e affari generali

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA DELLA SOVRANITÀ ALIMENTARE E DELLE FORESTE

crea
Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria

"Ricerca partecipata e trasferimento tecnologico per la crescita sostenibile dell'itticoltura italiana"

Data di inizio del progetto	02/11/2021
Data di termine del progetto	31/10/2024
Responsabile Scientifico	Fabrizio Capoccioni – fabrizio.capoccioni@crea.gov.it
U.O.	**CREA – Zootecnia e Acquacoltura** Via Salaria 31, 00015 Monterotondo (RM) 06-90090206 za.monterotondo@crea.gov.it
Contatti	Fabrizio Capoccioni (fabrizio.capoccioni@crea.gov.it)

Elenco allegati

All. 1: Rapporto API+allegati
All. 2: Abstract LCAonFoods Barcelona 2024
All. 3: Napolitano et al. Submitted
All. 3bis: Report STORIONI x Azienda
All. 4: Onofri et al._2024_published
All. 5: Martinoli et al. Submitted
All. 6: Abstract Aquaculture and Fisheries Barcelona 2024
All. 7: De Iorio et al. A sub
All. 8: De Iorio et al. B Submitted
All. 9: Evento Frascati Scienza 2024

1. Quadro di riferimento Europeo e Nazionale

Nell'ambito di una crescita sostenibile dell'acquacoltura, degli orientamenti strategici e delle azioni indicate dalla Commissione Europea con l'obiettivo di dare un nuovo impulso per costruire un futuro sostenibile per l'acquacoltura (COM (2009) 162 def; COM (2013) 229 def; Strategia Europea 2020; Crescita Blu (COM (2014) 254/2)), si sono aggiunti nuovi ambiziosi obiettivi, quali il contrasto al degrado ambientale e la limitazione delle conseguenze derivanti dal cambiamento climatico.

In questo contesto, l'acquacoltura deve configurarsi come attività produttiva strategica per il raggiungimento della neutralità climatica entro il 2050 (New Green Deal), attraverso il suo contributo verso la sempre maggiore sostenibilità del sistema alimentare dell'UE (Farm to Fork).

Tra le produzioni animali, l'acquacoltura è il primo settore al mondo in termini di crescita e quello dalle rese più elevate, con impatti più bassi sull'uso di acqua e suolo rispetto ad altre pratiche zootecniche. Nel 2021, l'Italia, con un totale di 146.167 t, è stata il quarto produttore Europeo di prodotti di acquacoltura. L'acquacoltura in Italia rappresenta un patrimonio unico di conoscenze, esperienze, eccellenze e cultura che ha favorito lo sviluppo di pratiche di allevamento diversificate e adattate alle condizioni geomorfologiche, climatiche e ambientali offerte dal nostro Paese. Oggi operano sul nostro territorio oltre 800 impianti che, con le loro produzioni, contribuiscono a circa il 40% della produzione ittica nazionale (inclusa la pesca) e al 30% circa della domanda di prodotti ittici freschi.

Il contesto produttivo nazionale, seppur dominato da poche specie quali mitilo (61.415 t), vongola verace (30.991 t), trota iridea (32.826 t) e spigola e orata (13.055 t), è caratterizzato da un'ampia diversità di specie allevate (oltre 30) nonché di metodi di allevamento e di filiere. L'acquacoltura italiana è all'avanguardia in Europa per l'elevato valore nutrizionale e organolettico delle produzioni e per la sicurezza alimentare. Permangono tuttavia alcune criticità che negli ultimi 10 anni hanno ostacolato lo sviluppo del settore, rendendo l'Italia un importatore di prodotti di acquacoltura per oltre il 70% dei consumi. L'obiettivo di ridurre la dipendenza dei consumi di prodotti dell'acquacoltura dalle importazioni deve essere perseguito, da un lato, attraverso l'ampliamento dell'offerta, anche in termini di specie e di prodotti trasformati di alto valore aggiunto, e, dall'altro, incentivando e focalizzando la comunicazione al consumatore.

Nella definizione delle priorità di ricerca e innovazione per lo sviluppo del settore, non si può prescindere dal fenomeno globale del cambiamento climatico, con i suoi effetti sulla disponibilità e sulla qualità delle risorse idriche, in particolare per i sistemi di produzione in acque interne, e per l'allevamento di specie ittiche carnivore che dipendono, seppur in misura sempre minore, dalla disponibilità di farine e oli di pesce. Oltre agli effetti del cambiamento climatico che si ripercuotono sull'acquacoltura, la stessa crescita del settore contribuisce a generare impatti sull'uso delle risorse, sull'ambiente e sulla biodiversità. Nonostante l'acquacoltura si configuri come sistema di produzione agroalimentare efficiente in termini di uso di risorse (suolo, acqua, fertilizzanti ed energia), generazione di esternalità negative (nutrienti e gas serra) ed efficienza nella conversione degli alimenti, è opportuno investire nella quantificazione di tali impatti e in strategie di mitigazione delle pressioni generate dalla concentrazione di attività acquicole sugli ecosistemi, acquatici e terrestri, e sulla biodiversità. Strategie che vanno sempre più nella direzione dell'innovazione tecnologica delle imprese e dell'efficientamento energetico, in linea con gli obietti di neutralità climatica dell'UE.

2. Obiettivi del progetto

Obiettivo generale del progetto è l'identificazione, fra le 6 tematiche di ricerca applicata proposte dal CREA in fase di stesura progettuale di seguito riportate, di quelle di maggiore interesse per il settore produttivo e che necessitano di essere sviluppate nell'ambito del progetto:

1. L'aumento sostenibile delle produzioni e miglioramento della qualità dei prodotti
2. L'efficientamento energetico degli impianti
3. La razionalizzazione e l'uso circolare delle materie prime per mangimi per l'acquacoltura
4. L'applicazione di nuove tecnologie digitali per il controllo delle condizioni di allevamento e dello stato degli animali allevati
5. La riduzione della dipendenza dai trattamenti farmacologici e della resistenza antimicrobica
6. L'ottimizzazione dei protocolli per il miglioramento del benessere degli animali allevati

Come previsto nella FASE 1 del progetto "Selezione e implementazione delle tematiche e delle relative linee di azione in collaborazione con associazioni di categoria selezionate", Punto a) "Identificazione e formalizzazione di un accordo di collaborazione con associazione/i di categoria"), il CREA, seguendo le indicazioni della DG PEMAC, ha selezionato tramite apposito bando l'Associazione Piscicoltori Italiani (API) come attore più qualificato per rispondere alle necessità progettuali.

Le attività che l'API ha svolto in collaborazione con il CREA hanno riguardato:

a) La rilevazione dei fabbisogni di innovazione espressi dalle aziende associate attraverso la somministrazione di questionari, interviste telefoniche o dirette in occasione di riunioni con le imprese. Il campione è stato selezionato in termini numerici in modo da rappresentare le esigenze delle diverse tipologie di allevamento (in base alla specie e al metodo di allevamento), delle diverse aree geografiche e delle dimensioni aziendali (micro, piccole, medie e grandi imprese).
b) L'identificazione degli allevamenti ittici idonei e disponibili ad ospitare attività progettuali, tenendo conto delle capacità operative, dell'affidabilità aziendale e della riproducibilità in aziende assimilabili per tipologia produttiva e gestionale.

Nell'ottobre 2022, l'API ha inviato un rapporto (allegato nelle precedenti relazioni) contenente le indicazioni provenienti dalle aziende ittiche associate riguardanti le priorità da perseguire nel progetto INNOFISHFARM fra le 6 tematiche proposte. La sintesi è la risultante delle interviste agli operatori effettuate attraverso gli incontri online ed in presenza che hanno visto la partecipazione della maggior parte delle imprese di acquacoltura nazionale associate, rappresentative sia per tipologia produttiva sia per distribuzione geografica.

I soci API e gli operatori dell'acquacoltura interpellati hanno manifestato il loro interesse prioritario per:

- **PRIORITÀ 1:** Studio e stima degli impatti sul ciclo di vita delle produzioni ittiche nei principali comparti (trote, storioni, spigole e orate (Tematica 1.1 e 1.3);
- **PRIORITÀ 2:** Caratterizzazione delle qualità nutrizionali e chimiche dei filetti del pesce allevato e valutazione della *shelf-life* del prodotto in base all'effetto di diverse procedure di conservazione (Tematica 1.1);
- **PRIORIT À 3:** Valutazione, attraverso tecniche citofluorimetriche, dell'effetto sul sistema immunitario dei pesci (in particolare di trota iridea) dell'inclusione di ingredienti funzionali nelle formulazioni mangimistiche commerciali (Tematica 1.5);
- **PRIORITÀ 4:** Messa a punto di sistemi automatici e non invasivi per la stima della biomassa dei pesci nelle vasche di allevamento (trote e spigole/orate) e integrazione con gli attuali software di gestione aziendale (Tematica 1.4).

L'Associazione Piscicoltori Italiani ha distribuito tra i propri associati un sondaggio per comprendere quali siano le necessità in termini di **Linee Guida operative per meglio garantire al benessere animale nelle fasi di abbattimento, macellazione e trasporto dei pesci d'allevamento**. In particolare, è emersa l'esigenza di protocolli che, in modo comprensibile a tutti gli operatori aziendali, definiscano procedure semplici e che, allo stesso tempo, forniscano anche un supporto documentale a fronte di controlli da parte delle Autorità preposte o di enti terzi (es., enti incaricati

per la certificazione). L'associazione, sulla base delle proprie conoscenze e del confronto con operatori e veterinari, ha elaborato, in collaborazione con il CREA, tre documenti (Allegato 1):

A. Procedura stordimento – recante indicazioni utili alla formazione e all'operatività quotidiana degli addetti all'abbattimento/macellazione dei pesci allevati.
B. Indicazioni pratiche per il trasporto su strada dei pesci - recante le indicazioni per addetti al trasporto su strada dei pesci vivi sia generali che distinte per le diverse specie ittiche allevate.
C. Piano Emergenza per il Trasporto di pesci vivi su strada – protocollo da attivare in caso di eventuali problematiche in cui possono incorrere i trasporti di pesci vivi su strada.

In collaborazione con API, il CREA ha realizzato un monitoraggio sull'**adesione delle imprese di itticoltura a percorsi di certificazione volontaria della produzione**. Attraverso azioni specifiche (interviste ai referenti delle imprese) si è valutata la propensione o adesione delle imprese del settore a percorsi di certificazione volontaria della produzione. Sono state prese in considerazione le certificazioni già adottate dalle imprese d'acquacoltura con alcune specifiche per ogni sistema:

- GLOBAL GAP nei settori: maricoltura, troticoltura, storionicoltura, imprese che commercializzano i loro prodotti su mercati esteri ed in particolare le avannotterie di specie marine.
- ASC (Aquaculture Stewardship Council) troticoltura per commercializzazione in Germania, Austria e Polonia.
- "Acquacoltura Sostenibile", afferente al SQN Zootecnia, per il mercato nazionale, allo stato attuale circa il 40% della produzione di spigole ed orate italiane e certificata secondo questo disciplinare; nella troticoltura numerose imprese stanno cercando di aderire in quanto il prodotto con questa certificazione potrebbe avere un importante sbocco nella ristorazione collettiva scolastica.
- Friends of the Sea tutti I settori per il mercato italiano GDO, in declino.
- Disciplinari specifici per i prodotti fissati dalle catene GDO (es. Conad e CoopItalia).
- Certificazioni di qualità per il settore agroalimentare a carattere regionale (es. AQUA in Friuli V.G.) o per piccole produzioni locali (P.P.L.). In netto declino la certificazione biologica UE in piscicoltura in seguito soprattutto alla difficolta di reperimento di uova embrionate o novellame certificato biologico e a problematiche nelle formulazioni del mangime certificato.

In sintesi, la propensione o adesione di fatto a schemi di certificazione è fortemente influenzata soprattutto dal mercato di riferimento, dalle dimensioni produttive aziendali e da eventuali opportunità da cogliere, soprattutto per prodotti di nicchia.

3. Risultati

Di seguito si riportano i risultati ottenuti per ciascuna delle quattro priorità identificate grazie alla collaborazione con API.

PRIORITÀ 1: Studio e stima degli impatti sul ciclo di vita delle produzioni ittiche nei principali comparti

La Priorità 1 ha previsto la messa a punto e l'utilizzo di un modello di *Life Cycle Assessment* (LCA) per valutare le performance ambientali di specifiche produzioni ittiche. La valutazione degli impatti ambientali prevede l'identificazione e la quantificazione dei consumi e dei flussi in entrata e in uscita dal sistema di materiali, risorse, energia, rifiuti ed emissioni nell'ambiente, e permette di identificare e valutare potenziali *hotspot* di filiera, ovvero segmenti di filiera ove è possibile intervenire al fine di ridurre tali impatti.

A seguito della consultazione con API, la filiera selezionata per la messa a punto del modello di LCA è la **filiera di produzione del caviale**. L'Italia, con 63 tonnellate di caviale prodotto nel 2022, è il primo produttore di caviale in Europa e secondo al mondo dopo la Cina.

Attività 1: Identificazione dei siti e delle aziende produttrici idonee all'applicazione di modelli di LCA

Come caso studio è stata selezionata una delle più importanti filiere di produzione di caviale in Italia. L'azienda opera in tutte le fasi di produzione, che si articolano principalmente in:

- Allevamento degli storioni (beluga, storione siberiano, storione bianco, storione russo)
- Prelievo delle sacche ovariche dalle femmine e macellazione delle carni (da femmine e maschi di storioni)
- Trasformazione del prodotto finale (affinamento del caviale, preparazione delle carni) che viene poi immesso sul mercato.

I referenti dei suddetti segmenti di filiera si sono resi disponibili alla collaborazione con il Centro Zootecnia e Acquacoltura del CREA per la raccolta dati necessaria alla creazione del modello di LCA per la valutazione dell'impatto ambientale.

Attività 2: Raccolta dei dati "foreground" (riguardanti le attività direttamente misurabili dal produttore) e di "background" (non misurabili direttamente, che saranno acquisiti da banche dati o da letteratura) e creazione del modello LCA

Per la valutazione delle performance ambientali della filiera è stata adottata la metodologia del *Life Cycle Assessment,* nello specifico, l'utilizzo dell'approccio di *Life Cycle Assessment* (LCA) per la quantificazione degli impatti ambientali secondo gli standard ISO 14040/2006 e 14044/2006.

Essa prevede quattro fasi:

1. definizione di obiettivi e ambito;
2. compilazione dell'inventario (Life Cycle Inventory, LCI);
3. valutazione degli impatti (Life Cycle Impact Assessment, LCIA);
4. interpretazione dei risultati.

DEFINIZIONE DI OBIETTIVI E AMBITO

L'obiettivo di questo studio è documentare le performance ambientali e identificare potenziali aree di miglioramento della filiera produttiva di caviale. L'ambito dello studio è l'analisi dei flussi di materia ed energia che attraversano il sistema di produzione nelle fasi di allevamento degli storioni, fase di macellazione e trasformazione del caviale. Si è scelto di utilizzare l'analisi "dalla culla al cancello" (*from cradle-to-gate*), ovvero dalle fasi di produzione degli avannotti a quella della preparazione del caviale pronto alla vendita. L'unità funzionale scelta, ovvero la quantità di prodotto a cui si riferiscono tutti i risultati, è **1 kg di caviale confezionato e pronto alla vendita**.

Per la stesura del *Life Cycle Inventory* (LCI), a seguito di un sopralluogo presso gli impianti di allevamento degli storioni e di trasformazione del caviale necessario per comprendere la complessità del processo produttivo, sono stati elaborati dei questionari preliminari da sottoporre agli intervistati per reperire i *foreground data*. I questionari sono specifici per ogni segmento di filiera e sono stati allegati nelle precedenti relazioni. Inoltre, in accordo con i referenti delle fasi produttive, sono stati programmati dei sopralluoghi/incontri presso gli impianti, al fine di verificare insieme agli intervistati le informazioni preliminari ricevute attraverso i questionari, illustrare i risultati preliminari ottenuti ed eventualmente valutare la necessità di informazioni aggiuntive da reperire al fine di effettuare un'analisi ancora più precisa e puntuale delle performance ambientali dell'intera filiera.

Per i *background data* si è fatto riferimento a specifici database (es: Ecoinvent, Agri-foodprint 6.3), letteratura e informazioni da esperti.

Le categorie di impatto considerate sono Global Warming (GW, diviso in Fossil GW and GW associato al Land use), Terrestrial Acidification (TA), Freshwater Eutrophication (FE), Water Consumption (WC), e Land Use (LU).

I confini del sistema definiti per l'analisi della filiera della produzione del caviale sono riportati in Figura 1 e comprendono le fasi di:

1. allevamento degli storioni (4 specie)
2. trasporto degli esemplari maschi e femmine idonee al prelievo delle uova presso lo stabilimento di trasformazione
3. prelievo delle uova e macellazione delle carni
4. fasi di trasformazione del caviale (salatura, affinamento in cella frigo, ecc.)

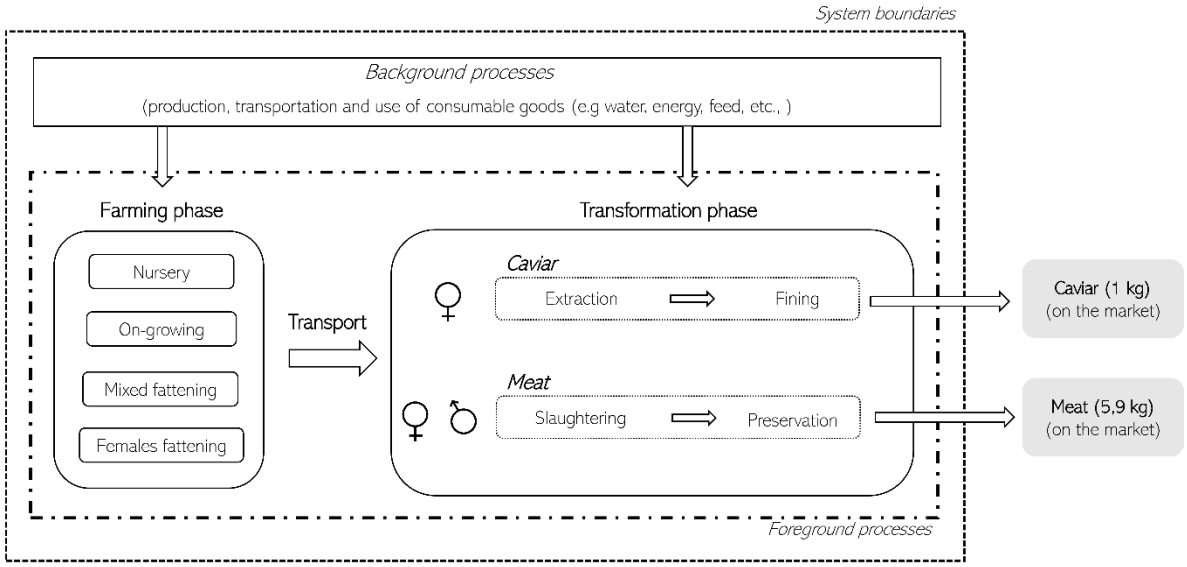


Figura 1. Confini del sistema utilizzati per la valutazione delle performance ambientali della filiera del caviale

Per il *Life Cycle Impact Assessment* (LCIA) si è utilizzato il software Simapro 9.5.0.1 con il metodo ReCiPe 2016 Midpoint (H) v. 1.08.

Parte di questi risultati sono stati presentati alla conferenza LCA FOOD di Barcellona (2024; Allegato 2) e sono attualmente in fase di revisione presso la rivista Aquaculture (Elsevier; Allegato 3). Inoltre, è stato consegnato all'azienda un Report (Allegato 3bis) con lo scopo di fornire un quadro comprensivo e di facile consultazione dei risultati ottenuti. Di seguito si riportano alcuni estratti del lavoro.

Le prestazioni ambientali della produzione di caviale e di carne di storione variano tra le quattro specie studiate. In Tabella 1 sono riportati i risultati per le categorie di impatto considerate e le quattro specie. Nel complesso, la catena di produzione di *H. huso* mostra il punteggio di impatto più alto in tutte le categorie di impatto considerate, seguita da *A. baerii* e *A. transmontanus*. *A. gueldenstaedtii* ha ottenuto il punteggio

d'impatto più basso di tutte le categorie d'impatto tranne LU (Land Use), per la quale *A. baerii* è la specie con le migliori prestazioni. Lo stesso vale per gli impatti associati al prodotto principale: il caviale di *H. huso* comporta i maggiori oneri ambientali tra le quattro specie, mentre il caviale di *A. gueldenstaedtii* è il migliore tranne che per la categoria di impatto LU. Se si considera il coprodotto carne, le carni di *A. baerii* e *A. transmontanus* presentano gli impatti più elevati, mentre la carne di *A. gueldenstadtii* risulta la migliore in tutte le categorie di impatto.

Tabella 1. Risultati LCIA riferiti alla produzione di 1 kg di caviale e 5.9 kg di carne di storione. I risultati sono riportati separatemente per le quattro specie. Categorie di impatto: Global Warming (GW), diviso in fonti fossili (Fossil) e land use and land change-related emissions (LUC), Terrestrial Acidification (TA), Freshwater Eutrophication (FE), Water Consumption (WC), Land Use (LU).

Species	Product	GW		TA	FE	WC	LU
		Kg CO_2 eq.		Kg SO_2 eq.	Kg P eq.	m^3	m^2 a crop eq.
		Fossil	LUC				
H. huso	Meat	3.03E+00	1.48E+00	1.58E-02	2.46E-03	1.16E-01	5.19E+00
	Caviar	**5.14E+01**	**2.50E+01**	**2.66E-01**	**4.15E-02**	**1.96E+00**	**8.77E+01**
	Total	*8.09E+01*		*2.82E-01*	*4.40E-02*	*2.08E+00*	*9.29E+01*
A. gueldenstaedtii	Meat	3.37E+00	1.13E+00	1.51E-02	2.05E-03	1.03E-01	3.99E+00
	Caviar	**3.56E+01**	**1.19E+01**	**1.59E-01**	**2.17E-02**	**1.09E+00**	**4.21E+01**
	Total	*5.20E+01*		*1.74E-01*	*2.37E-02*	*1.19E+00*	*4.61E+01*
A. transmontanus	Meat	5.52E+00	2.29E+00	2.68E-02	3.93E-03	1.91E-01	8.06E+00
	Caviar	**3.61E+01**	**1.50E+01**	**1.75E-01**	**2.58E-02**	**1.25E+00**	**5.28E+01**
	Total	*5.90E+01*		*2.02E-01*	*2.97E-02*	*1.44E+00*	*6.09E+01*
A. baerii	Meat	8.15E+00	1.62E+00	3.13E-02	3.65E-03	2.00E-01	5.83E+00
	Caviar	**5.16E+01**	**1.03E+01**	**1.98E-01**	**2.31E-02**	**1.27E+00**	**3.69E+01**
	Total	7.16E+01		2.29E-01	2.67E-02	1.47E+00	4.27E+01

Le fasi di filiera che contribuiscono maggiormente agli impatti sono, per tutte le specie, le fasi di ingrasso (Figura 2):

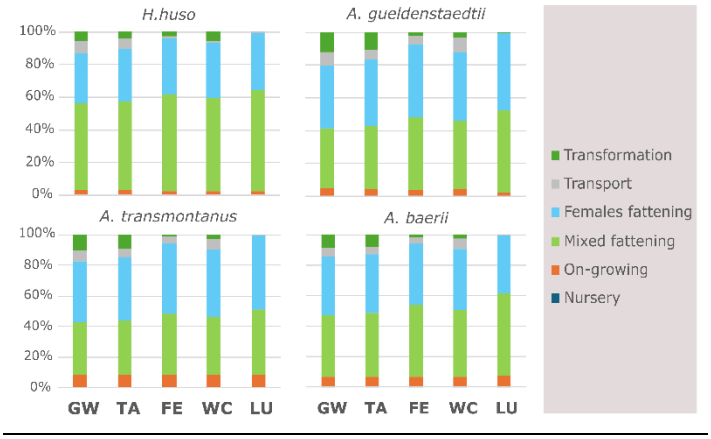


Figura 2. Analisi del contributo delle fasi di filiera agli impatti ambientali

Nelle quattro filiere prese in esame, i fattori (input al sistema) che collettivamente rappresentano oltre il 95% degli impatti associati alle quattro categorie di impatto considerate sono stati i mangimi, l'elettricità e il gasolio.

Sono stati inoltre analizzati tre potenziali scenari di strategie di mitigazione degli impatti, di seguito riportati.

Scenario 1: utilizzo delle risorse (mangime). Questo scenario ipotizza l'applicazione di un approccio di sessaggio anticipato tramite tecniche genetiche (Early Sex Determination, ESD, Kuhl et al., 2021). Questo permetterebbe all'azienda di individuare precocemente gli individui di sesso maschile (tra i 3 e i 6 mesi dalla schiusa). L'ESD consentirebbe di ridurre il quantitativo di mangime utilizzato per alimentare gli individui maschi fino all'età di sessaggio classico (tra i 4 e i 9 anni seconda della specie) e quindi abbattere i costi ambientali associati alla produzione e consumo di alimento. Dal momento che gli impatti ambientali associati al mangime si riscontrano soprattutto per la categoria di impatto Freshwater Eutrophication (FE), i risultati sono stati elaborati per la suddetta categoria di impatto (Figura 3a).

Scenario 2: transizione energetica. Il secondo scenario ha simulato un aumento della fornitura di energia dall'impianto fotovoltaico dell'azienda in sostituzione della fornitura dalla rete elettrica nazionale. Questo scenario rappresenta la scelta più comune che un'azienda di acquacoltura può adottare per ridurre la sua dipendenza dall'elettricità di rete e ridurre i suoi impatti ambientali complessivi. Si è ipotizzato che la fornitura di energia fotovoltaica possa coprire il 30% o il 50% del suo fabbisogno energetico (scenari "30% FV" e "50% FV", rispettivamente). L'effetto che questo scenario avrebbe sugli impatti ambientali della catena di produzione del caviale è stato valutato su GW (Figura 3b).

Scenario 3: valorizzazione della carne. Uno dei punti deboli dell'industria dello storione è legato al mercato della carne. In Italia, ad esempio, la carne di storione non è un prodotto molto richiesto dai consumatori nonostante la sua ottima qualità e caratteristiche nutrizionali (Lopez et al. 2020), motivo per cui viene prevalentemente venduta a prezzi inferiori rispetto ad altre specie ittiche o allo stesso caviale. Lo scenario simula quindi che i 5,9 kg di carne associati alla produzione di 1 kg di caviale siano venduti come filetti sottovuoto, con un valore aggiunto maggiore e un prezzo di prima vendita più alto. L'effetto che questo scenario avrebbe sugli impatti ambientali della catena di produzione del caviale è stato valutato su GW (Figura 4).

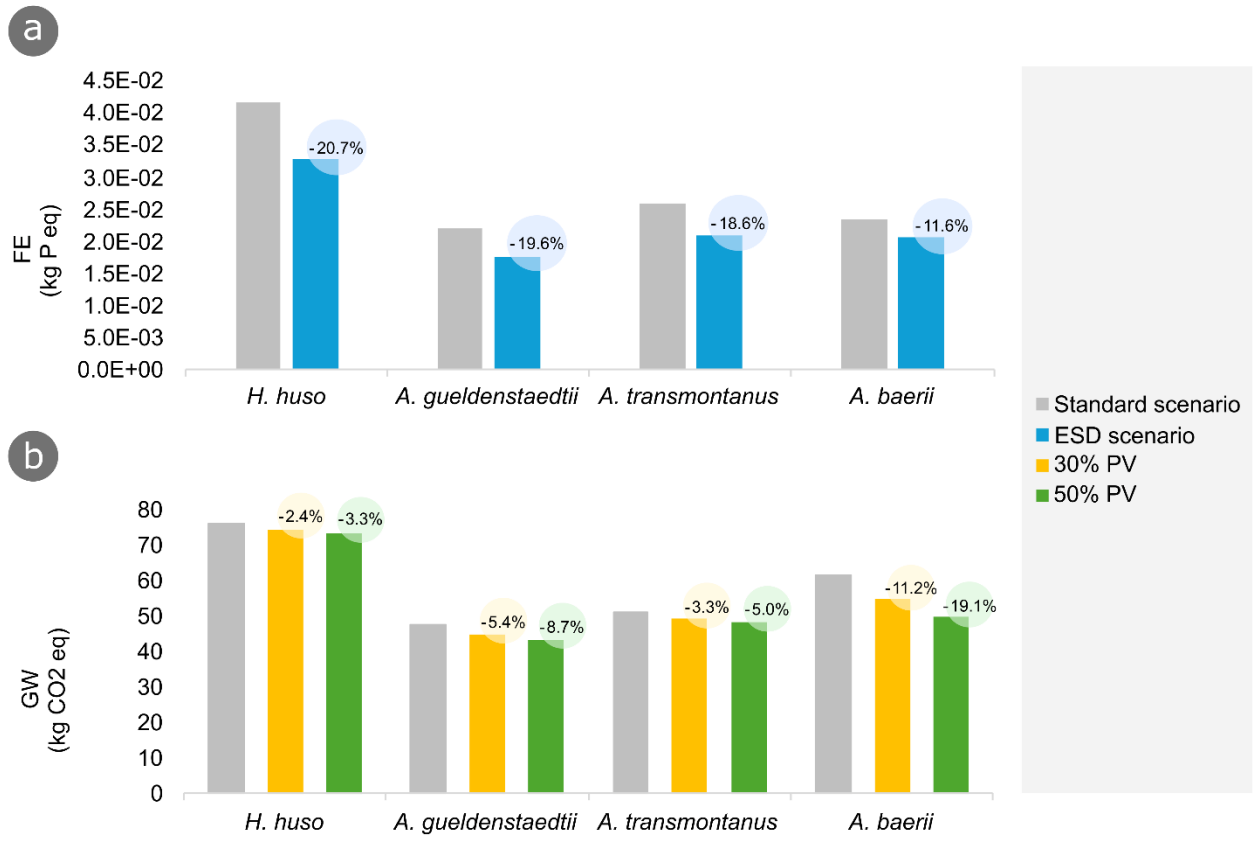


Figura 3. Potenziali effetti dell'implementazione delle strategie di mitigazione di impatto ipotizzate. a) Scenario 1, ESD; b) Scenario 2, transizione energetica. In entrambi i grafici, la quantificazione della riduzione degli impatti associata alla strategia adottata è data in valori percentuali sulle barre relative ad ogni scenario.

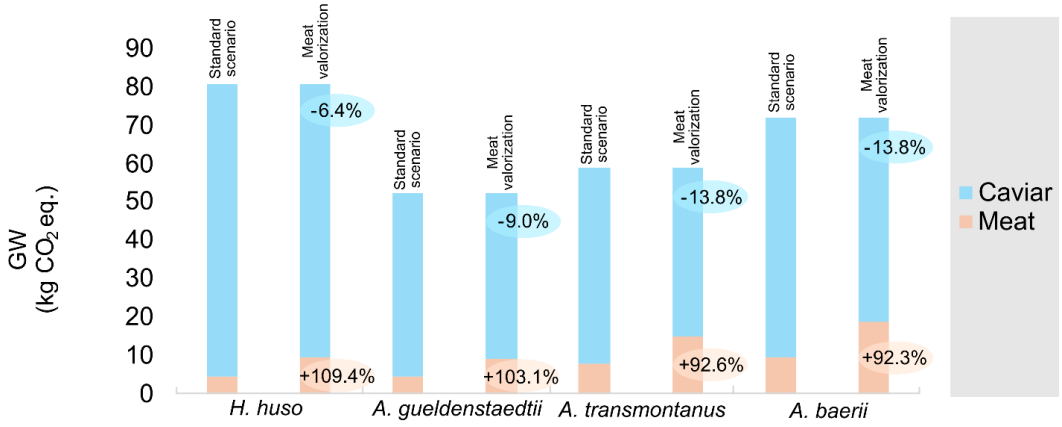


Figura 4. Effetti sul GW dell'aumento del valore economico della carne di storione (scenario di valorizzazione della carne), per le quattro specie.

In conclusione, questo studio ha fornito una valutazione delle prestazioni ambientali della produzione di caviale di quattro specie di storione utilizzando un approccio LCA. Mentre il caviale è il prodotto principale e di alto valore, la carne di storione è considerata un coprodotto di valore inferiore. L'adozione di pratiche sostenibili e di innovazioni tecnologiche (ad esempio, la determinazione precoce del sesso attraverso la genetica) è essenziale per ridurre l'impronta ambientale del settore.

ANALISI ECONOMICA DI SETTORE

L'obiettivo di questa attività, che ha previsto la consulenza esterna di un esperto, è stata quella di testare una metodologia di valutazione economica della efficienza produttiva ed economica del settore della storionicoltura, sulla base delle informazioni raccolte da una singola impresa come caso di studio, ma che fosse rappresentativa delle aziende del comparto così da poter effettuare uno scale-up ed estendere la metodologia a tutto il settore. I risultati sono stati pubblicati nella rivista open source WATERS (MDPI) a settembre 2024. Alcuni risultati sono comunque riportati in lingua italiana di seguito.

La metodologia utilizzata si basa sull'analisi delle funzioni di produzione (FDP). La funzione di produzione evidenzia che la quantità prodotta (in un determinato settore o mercato) dipende dalla quantità di fattori di produzione utilizzati e dal modo in cui questi fattori sono utilizzati (tecnologia). Studiare la funzione di produzione aiuta a meglio comprendere i processi produttivi e relative efficienze ed inefficienze di produzione.

La funzione di produzione è una relazione matematica che descrive una tecnologia di produzione, ossia il legame tecnico fra inputs di produzione ed output finale:

(1) $Q = f(L, K)$

In questa funzione Q è la quantità prodotta, che deriva dall'utilizzo del fattore lavoro (L) e del fattore capitale (K), ma possono essere inclusi tutti i possibili tipi di fattori di produzione utilizzati dal settore oggetto di analisi. Lo studio della funzione di produzione (che può assumere forme funzionali molto diverse, dalla translog, alla Cobb Dougals ecc. a seconda del tipo di tecnologia rappresentata) serve all' economista per misurare degli indicatori fondamentali per determinare l'efficienza (tecnologica ed economica) della produzione.

Il primo, fra questi è la **produttività marginale dei fattori (PMF),** un indicatore che misura l'impatto sull'output di produzione finale (output di prodotti acqua coltivati, nella fattispecie) in seguito ad un incremento addizionale (variazione marginale) di un input di produzione (terra, lavoro, capitale, macchinari, capitale naturale come acqua ed altre risorse, inclusa la biodiversità), come descritto nella formula (2).

(2) $PMF_n = \frac{\partial Q}{\partial i_n}$

La produttività marginale dei fattori di produzione è un importante indicatore economico del valore di una risorsa produttiva in termini di efficienza tecnologica, ma non contiene indicazioni di valore espresso in termini monetari. Indica le modalità di utilizzo delle risorse scarse.

Tale informazione di natura monetaria e' fornita da un secondo indicatore: **il valore economico della produttività marginale dei fattori (VPFM).** Tale indicatore economico, calcolato come indicato in formula (3) è uguale alla produttività marginale dei fattori moltiplicata per il prezzo di mercato del prodotto finale

(3) $VPMF_n = \frac{\partial Q}{\partial i_n}$. *Prezzo di Mercato del Prodotto Finale*

L'indicatore è un indicatore economico (espresso in termini monetari) del valore dell'input di produzione in termini di valore del prodotto finito e scambiato sui mercati. Differisce dal valore marginale del fattore di produzione, che altro non è che il costo marginale, derivante da un utilizzo incrementale del fattore di produzione (si veda Varian, 2006 per approfondimenti).

Non è stato possibile, tuttavia, stimare una funzione di produzione per il caso di studio in esame, data la mancanza di dati e informazioni quantitative rilevante. In tal caso, la funzione di produzione è stata definita e le variabili principali descritte qualitativamente. La produttività marginale è stata ricavata dal calcolo della produttività media degli input (ossia la produttività unitaria dei fattori) di produzione (dove la

produttività media del fattore di produzione (PmeF) è calcolata dividendo la produzione totale per la quantità totale di input di produzione considerato, $PmeF = Q/i_n$), applicando la nota legge matematica che lega grandezze marginali a medie.

Esiste, infatti, una relazione molto chiara fra produttività media e marginale. Quando la produttività media è decrescente, il valore della produttività marginale è inferiore rispetto a quello della produttività media. Quando la produttività media è crescente, la produttività marginale è superiore rispetto alla produttività media. Quando la produttività media è costante, la produttività marginale è uguale alla produttività media. In genere, in quest'ultima situazione, l'impresa produce in condizioni di equilibrio e non ha incentivi a variare la produzione totale. Per esigenze di semplicità analitica, assumiamo che l'impresa in analisi si trovi in condizioni di scelta in cui produttività media e marginale coincidono.

Gli indicatori suggeriti, oltre a fornire informazione importante, servono per comparare costi e benefici delle scelte di produzione dell'impresa ed ottenere informazioni sull'efficienza e la sostenibilità delle stesse.

I risultati ottenuti dallo studio sono stati pubblicati nella rivista scientifica WATER (MDPI; link; All. 4), mentre di seguito vengono riportati alcuni dati:

L'azienda caso di studio utilizza gli stessi input di produzione (mangime, forza lavoro, energia, ecc.) ottenendo diversi prodotti output (caviale, carne di storione). La Tabella 2 sintetizza i principali indicatori di performance economica per il periodo di riferimento considerato.

Tabella 2. Economic Performance (Giugno 2022/Luglio 2023).

Product Type	Quantity (Kg)	Price per Kg (Euro)	Revenues (Euro)
Beluga caviar	850	800	680,000
Russian sturgeon caviar	280	500	140,000
White sturgeon caviar	11,500	310	3,565,000
Siberian sturgeon caviar	4,700	300	1,410,000
Second grade caviar	500	100	50,000
Total Caviar	**17,830**		**5,845,000**
Vacuum packed meat	23,700	20	474,000
Frozen meat	69,000	5	345,000
Total meat	**92,700**		**819,000**
Frozen sturgeon heads	12,000	1.8	21,600

Le tabelle 3 e 4 forniscono la misura del valore economico sia in kg di prodotti che in valore (in euro) che l'azienda di acquacoltura ottiene utilizzando ogni unità aggiuntiva dell'input selezionato per produrre l'output selezionato.

Tabella 3. Produttività marginale (in kg di storioni prodotti) per ogni fattore di produzione selezionato.

Product Type	Labor	Energy	Water	Tools	Fuel	Nitrogen	Feed
Beluga caviar	85	0.005	0.404	0.091	3.4	0.012	0.0010
Russian sturgeon caviar	28	0.002	0.133	0.030	1.12	0.004	0.0003
White sturgeon caviar	1,150	0.069	5.476	1.234	46.0	0.159	0.0160
Siberian sturgeon caviar	470	0.028	2.238	0.504	18.8	0.065	0.0060
Second grade caviar	50	0.003	0.238	0.053	2.0	0.007	0.0007
Vacuum packed meat	2,370	0.144	11.285	2.544	94.8	0.323	0.0330
Frozen meat	6,900	0.419	32.857	7.407	276.0	0.958	0.0980
Frozen sturgeon heads	1,200	0.072	5.714	1.288	48.0	0.166	0.0170

Table 4. Valore (in euro) della Produttività Marginale per ogni fattore produttivo selezionato.

Product Type	Labor	Energy	Water	Tools	Fuel	Nitrogen	Feed
Beluga caviar	68,000	4.132	323.809	73.000	2,720	9.444	0.968
Russian sturgeon caviar	14,000	0.850	66.666	15.029	560	1.944	0.199
White sturgeon caviar	356,500	21.662	1,697.619	382.710	14,260	49.513	5.080
Siberian sturgeon caviar	141,000	8.567	671.428	151.360	5,640	19.583	2.009
Second choice caviar	5,000	0.303	23.809	5.368	200	0.694	0.071
Vacuum packed meat	47,400	2.880	225.714	50.885	1,896	6.583	0.675
Frozen meat	34,500	2.096	164.285	37.037	1,380	4.791	0.491
Frozen sturgeon heads	2,160	0.131	10.286	2.319	86	0.300	0.030

Questo studio ha analizzato le scelte produttive e i trade-off (carne vs caviale) affrontati da un produttore italiano di storioni. L'efficienza produttiva attraverso l'analisi delle relazioni tra input e output produttivi è la controparte economica dell'analisi ambientale del ciclo di vita (LCA). Le performance ambientali delle produzioni agroalimentari, e tra queste dell'acquacoltura, dovrebbero sempre prevedere un'analisi economica per verificare non solo la sostenibilità ma anche la redditività di diverse strategie aziendali. L'analisi effettuata in questo studio, che ha adottato una metodologia che valuta la produttività economica degli input produttivi e la confronta con i costi degli input e i prezzi degli output, ha permesso di monitorare se le scelte produttive dell'azienda sono economicamente efficienti ed efficaci e se e come possono essere migliorate. I risultati mostrano che l'azienda agricola massimizza i profitti, ma non al livello di produzione ottimale. Ciò implica che sia (1) una maggiore produzione che (2) un ulteriore spostamento verso la produzione di caviale (a fronte di una minore quantità di carne) sono strategie di produzione economicamente efficienti.

Bibliografia:

Kuhl, H., Guiguen, Y., Höhne, C., Kreuz, E., Du, K., Klopp, C., Lopez-Roques, C., Yebra-Pimentel, E. S., Ciorpac, M., Gessner, J., Holostenco, D., Kleiner, W., Kohlmann, K., Lamatsch, D. K., Prokopov, D., Bestin, A., Bonpunt, E., Debeuf, B., Haffray, P., … Stöck, M. (2021). A 180 Myr-old female-specific genome region in sturgeon reveals the oldest known vertebrate sex determining system with undifferentiated sex chromosomes. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 376(1832). https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0089

Lopez, A., Vasconi, M., Bellagamba, F., Mentasti, T., & Moretti, V. M. (2020). Sturgeon meat and caviar quality from different cultured species. Fishes, 5(1). https://doi.org/10.3390/fishes5010009

Varian, H.R. (2006). Intermediate microeconomics: a modern approach. New York: Norton.

PRIORITÀ 2 - Caratterizzazione delle qualità nutrizionali e chimiche dei filetti del pesce allevato e valutazione della *shelf-life* del prodotto in base all'effetto di diverse procedure di conservazione

I lipidi del pesce sono ricchi di acidi grassi polinsaturi, come gli n-3 a lunga catena (LC n-3PUFAs), nutrienti molto importanti ma estremamente inclini alla degradazione ossidativa durante la conservazione o la cottura. L'ossidazione dei lipidi è responsabile della perdita del valore nutrizionale e delle proprietà funzionali degli alimenti muscolari ed è anche considerata una delle cause principali del decadimento della qualità sensoriale dei filetti di pesce (sapore, colore e consistenza), sia in condizioni di refrigerazione che di congelamento. Nei pesci di allevamento, la prevenzione dell'ossidazione lipidica della parte edibile può iniziare durante la fase di allevamento, quando i pesci vengono alimentati con diete arricchite di composti antiossidanti che non esauriscono il loro ruolo in vivo ma rimangono attivi nel tessuto muscolare anche nel post-mortem. Esiste un crescente interesse per l'integrazione nei mangimi per l'acquacoltura con fonti naturali di composti antiossidanti, in particolare per l'astaxantina, un pigmento carotenoide fra i più potenti. Ciò è di particolare interesse per l'acquacoltura biologica che vieta l'uso di additivi sintetici, ma consente quello di additivi organici o naturali. Diversi ingredienti naturali, come le microalghe (ad esempio, *Haematococcus pluvialis*), i lieviti (ad esempio, i generi *Phaffia*, *Rhodotorula* e *Rhodosporidium*) e i crostacei, sono fonti preziose di astaxantina e alcuni di essi sono stati utilizzati con successo come alternativa all'astaxantina sintetica.

L'obiettivo principale di questa attività è stato quello di valutare la qualità dei lipidi, la risposta ossidativa e la durata di conservazione di filetti refrigerati, congelati e cotti di orate (*Sparus aurata*) alimentate con una dieta biologica che includeva farina di gamberi rossi della Louisiana (*Procambarus clarkii*) come fonte di astaxantina naturale. I risultati ottenuti sono riassunti di seguito e sono stati oggetto di una pubblicazione scientifica sottomessa alla rivista scientifica *Journal of Food Composition and Analysis* (Elsevier; Allegato 5).

Disegno sperimentale

Un totale di 7.000 esemplari adulti di *S. aurata* (409,2 ± 94,4 g di peso medio iniziale) provenienti dallo stesso stock commerciale è stato diviso casualmente nelle due gabbie galleggianti del dispositivo sperimentale di lungo periodo del CREA presso l'azienda commerciale Cooperativa Maricoltura e Ricerca di Isola Capraia (LI). A partire dalla fase di acclimatazione (30 giorni), entrambi i gruppi sono stati alimentati con un mangime biologico commerciale (CTRL, Skretting d-3P Optibream) due volte al giorno. Nella successiva fase di prova di 60 giorni, una gabbia è stata utilizzata come controllo e ha ricevuto la stessa dieta commerciale biologica (CTRL) somministrata nel precedente periodo di acclimatazione, mentre la seconda gabbia è stata alimentata con una dieta biologica (EXP) contenente il 10% di farina di *P. clarkii*. Per monitorare le performance di crescita delle orate, 185 esemplari sono stati campionati casualmente dal pool iniziale e misurati all'inizio della prova. Alla fine della prova, 201 esemplari per la gabbia CTRL e 190 per quella EXP sono stati campionati, misurati e pesati. Un sottocampione di 20 individui dalla gabbia CTRL e 20 dalla gabbia EXP è stato selezionato poi casualmente, conservato in ghiaccio per un giorno e trasportato presso i laboratori del CREA Zootecnia e Acquacoltura per le analisi successive.

Sui filetti sono state effettuate in laboratorio l'analisi prossimale e il contenuto in acidi grassi (FA), la freschezza della carne tramite analisi dei composti azotati volatili, l'analisi dell'ossidazione dei lipidi tramite misura dei livelli di dieni e trieni coniugati (CD e CT), l'analisi della malondialdeide (MDA) ed la valutazione dell'ossidazione delle proteine attraverso il livello di tioli.

Preparazione dei campioni

I campioni sono stati sfilettati presso il laboratorio del CREA e analizzati a diversi tempi di conservazione e preparazione (refrigerato, congelato, cotto). Una porzione residua per ogni animale è stata utilizzata per la composizione prossimale e il profilo degli acidi grassi. Due parti di filetto refrigerate sono state conservate a 4°C e analizzate a un giorno (T1_R) e quattro giorni (T4_R) di distanza, le altre due sono state congelate contemporaneamente (T1_F e T4_F) e mantenuti a -20°C per un mese. Al raggiungimento dei 4 tempi stabiliti, metà del campione è stato

analizzato e l'altra metà è stata avvolta in un foglio di alluminio per evitare la perdita di liquido e cotta in un forno a convezione impostato a 220°C per 5 minuti.

Accrescimento

I parametri biometrici delle orate all'inizio e alla fine della prova di alimentazione di 60 giorni non hanno mostrato differenze significative tra gli individui alimentati con diete EXP e CTRL.

Analisi prossimale e profilo in acidi grassi FA

La composizione prossimale nei filetti dei due trattamenti è mostrata nella Tabella 5. L'unica differenza significativa tra i due gruppi (n = 20 per gruppo analizzato) è stata osservata per i lipidi, più abbondanti in CTRL che in EXP.

Tabella 5. Composizione prossimale (g × 100 g-1) dei filetti di pesce in EXP e CTRL.

Composizione	EXP	CTRL
Sostanza secca	26,4 ± 1,4	26,8 ± 1,1
Proteine	21,4 ± 1,1	20,9 ± 1,2
Lipidi	3,6 ± 0,7	4,4 ± 0,8*
Ceneri	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,2

Le differenze significative tra i gruppi sperimentali sono state contrassegnate da un singolo ($p < 0,05$) o doppio ($p < 0,001$) asterisco (test di Kruskal-Wallis).

Il profilo degli acidi grassi, le classi principali e i rapporti n-3/n-6 osservati nei filetti dei due gruppi di trattamento sono mostrati nella Tabella 6. Sono state riscontrate differenze statistiche significative per gli acidi grassi saturi totali (SFA), gli acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e gli acidi grassi polinsaturi (PUFA): le prime due classi erano risultate più basse nei filetti EXP, mentre gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) erano superiori rispetto ai filetti CTRL, così come gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) n-3 e il rapporto n-3/n-6. Tra i PUFA, l'acido linoleico n-6 (LA) è stato il più abbondante, seguito dall'acido docosaesaenoico (DHA) (C22:6n-3). Entrambi gli acidi grassi hanno mostrato valori medi significativamente più alti nei filetti EXP. Per gli SFA, l'acido palmitico è stato il più abbondante, senza valori statisticamente diversi. Il MUFA predominante è stato l'acido oleico, con valori statisticamente diversi tra i gruppi.

Tabella 6. Composizione degli acidi grassi (% del totale dei FAME) dei filetti alimentati con diete EXP e CTRL in media ± deviazione standard (N=32).

FAs	EXP	CTRL	FAs	EXP	CTRL
C14:0	2,17 ± 0,37	2,89 ± 0,16**	C16:3n-3	0,39 ± 0,03	0,36 ± 0,02**
C15:0	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,01	C16:4n-3	0,21 ± 0,04	0,25 ± 0,02**
C16:0	15,62 ± 0,51	16,14 ± 0,59**	C16:2n-6	0,24 ± 0,04	0,29 ± 0,02**
C17:0	0,19 ± 0,03	0,17 ± 0,03	C18:2n-6 (LA)	14,79 ± 0,75	13,83 ± 0,92**
C18:0	3,61 ± 0,37	3,41 ± 0,22	C18:3n-3 (ALA)	1,81 ± 0,19	2,72 ± 0,18**
C21:0	0,20 ± 0,05	0,26 ± 0,05**	C18:4n-3	3,02 ± 0,26	2,63 ± 0,18**
C22:0	0,27 ± 0,03	0,26 ± 0,02	C18:3n-6	0,34 ± 0,04	0,37 ± 0,03**
Totale SFA	22,31 ± 0,65	23,38 ± 0,79	C20:2n-6	0,70 ± 0,05	0,66 ± 0,04**
C16:1	3,74 ± 0,34	4,55 ± 0,23**	C20:3n-3	0,91 ± 0,18	0,71 ± 0,15**
C17:1	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,03**	C20:4n-3	0,43 ± 0,04	0,54 ± 0,04**
C18:1n-9	24,92 ± 1,77	25,69 ± 1,47	C20:4n-6 (ARA)	1,08 ± 0,21	2,06 ± 0,20**
C18:1n-7	2,94 ± 0,27	2,84 ± 0,31	C20:5n-3 (EPA)	4,16 ± 0,56	4,11 ± 0,41
C20:1n-9	0,66 ± 0,09	0,97 ± 0,07**	C21:5n-3	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,01**
C22:1n-11	0,28 ± 0,03	0,26 ± 0,02**	C22:3n-3	0,45 ± 0,09	0,58 ± 0,04
C22:1n-9	0,65 ± 0,04	0,83 ± 0,04**	C22:5n-3	2,25 ± 0,18	2,38 ± 0,13*
C24:1n-9	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,03**	C22:4n-6	0,52 ± 0,10	0,30 ± 0,06**
Totale MUFA	33,56 ± 2,37	35,65 ± 1,39**	C22:6n-3 (DHA)	12,67 ± 2,34	9,04 ± 1,20**
C16:3n-3	0,39 ± 0,03	0,36 ± 0,02**	Totale PUFA	44,13 ± 2,27	40,97 ± 1,34

C16:4n-3	0,21 ± 0,04	0,25 ± 0,02**	Totale PUFA n-3	26,46 ± 2,59	23,47 ± 1,54**
C16:2n-6	0,24 ± 0,04	0,29 ± 0,02**	Totale PUFA n-6	17,67 ± 0,64	17,51 ± 0,86
C18:2n-6 (LA)	14,79 ± 0,75	13,83 ± 0,92**	n-3/n-6	1,50 ± 0,19	1,35 ± 0,14**

Lipidi con quantità limitate (<0,2%) in entrambe le diete non sono stati segnalati. Le differenze significative tra i gruppi sperimentali sono state contrassegnate da un singolo ($p < 0,05$) o doppio ($p < 0,001$) asterisco (test di Kruskal-Wallis).

Freschezza dei filetti

Un giorno dopo la raccolta, i filetti di pesce di entrambi i gruppi hanno mostrato gli stessi valori di basi azotate volatili (5,8 mg × 100 g^{-1}) con solo un aumento marginale dopo 4 giorni (6,0 e 5,9 mg × 100 g^{-1}, $p > 0,05$). Tutti i campioni sono risultati al di sotto della concentrazione di basi azotate volatili di 9,3 mg × 100 g^{-1} identificata da CE 854/2004 come pesce molto fresco.

Ossidazione dei lipidi nei filetti

Dieni coniugati (CD) e trieni coniugati (CT): I livelli di CD e CT nei filetti sono risultati inferiori nei pesci alimentati con la dieta EXP rispetto a quelli dei pesci alimentati con quella CTRL, con differenze significative tra T1_R e T4_R dei filetti EXP sia per CD che per CT ($p < 0,01$).

Malondialdeide (MDA): I livelli di MDA dei filetti di orata sono stati riportati nella Tabella 7. Per quanto riguarda i filetti crudi, sia la dieta ($F = 63,0$; $p < 0,001$), sia il tempo ($F = 86,2$; $p < 0,001$) sia la loro interazione ($F = 16,8$; $p < 0,001$) hanno influenzato significativamente sui valori di MDA. In tutti i confronti a coppie tra filetti crudi a diversi tempi di conservazione, i valori medi del gruppo EXP erano inferiori a quelli del gruppo CTRL, eccetto a T1_R dove è stato riscontrato il pattern opposto, sebbene non significativo. Sono state riscontrate differenze altamente significative in tutti gli altri confronti. I valori sono aumentati nel tempo, da T1_R a T4_F, da un minimo di 0,04 e 0,03 mg × kg^{-1} (rispettivamente per EXP e CTRL a T1_R) a un massimo di 0,20 e 0,43 mg × kg^{-1} (rispettivamente per EXP e CTRL a T4_F). Risultati simili sono stati ottenuti nei filetti cotti: la dieta ($F = 66,6$; $p < 0,001$), il tempo ($F = 17,9$; $p < 0,001$) e la loro interazione ($F = 40,4$; $p < 0,001$) hanno avuto un effetto significativo sui livelli di MDA. I livelli di MDA dei filetti EXP hanno mostrato valori significativamente inferiori rispetto ai filetti CTRL in tutti i tempi di conservazione. I valori sono aumentati con il tempo di conservazione, da T1_R a T4_F, da 0,53 e 0,61 mg × kg^{-1} (rispettivamente per i filetti EXP e CTRL a T1_R) a 0,64 e 0,92 mg × kg^{-1} (rispettivamente per i filetti EXP e CTRL a T4_F). Ogni confronto a coppie tra filetti EXP e CTRL, in ogni momento, è stato significativo sia nei filetti crudi che in quelli cotti.

Tabella 7. TBARS (MDA mg × kg^{-1}) in filetti crudi e cotti refrigerati e congelati in tempi diversi. Le tonalità crescenti di rosso riflettono uno stress ossidativo più elevato.

	Crudo		Cotto	
	EXP	CTRL	EXP	CTRL
T1_R	0,04 ± 0,0	0,03 ± 0,0	0,53 ± 0,1	0,61 ± 0,1*
T4_R	0,12 ± 0,1	0,21 ± 0,1**	0,59 ± 0,1	0,74 ± 0,1**
T1_F	0,16 ± 0,1	0,26 ± 0,1**	0,61 ± 0,1	0,76 ± 0,1**
T4_F	0,20 ± 0,1	0,43 ± 0,1**	0,64 ± 0,1	0,92 ± 0,2**

Le differenze significative tra i filetti EXP e CTRL sono state contrassegnate da un asterisco singolo ($p < 0,05$) o doppio ($p < 0,001$) (perMANOVA).

Ossidazione delle proteine: livelli dei tioli

In entrambi i tempi di conservazione in ghiaccio, i livelli di tioli nei filetti EXP hanno mostrato valori significativamente più alti rispetto a quelli CTRL: 73,22 e 60,28 nmol × g^{-1} di proteine (EXP e CTRL a T1_R, rispettivamente) e 51,15 e 40,80 nmol × g^{-1} di proteine a (EXP e CTRL a T4_R, rispettivamente).

Discussione e conclusioni

La determinazione dei valori di MDA è uno dei parametri chiave per valutare lo stato di degradazione degli alimenti a causa della sua capacità di influenzare negativamente le proprietà sensoriali degli alimenti e la salute umana (Zaki et al., 2014). Livelli elevati di MDA indicano uno stato più avanzato di ossidazione lipidica che, se assunti attraverso la dieta, potrebbero portare a un aumento del rischio di dislipidemia, resistenza all'insulina e ipertensione. In condizioni di congelamento (da -5,15 a -18,15 °C) i processi di ossidazione dei lipidi non vengono completamente arrestati a causa dell'azione delle lipoossigenasi endogene; come previsto, i livelli di MDA dei filetti sono aumentati con il tempo per entrambi i gruppi. Sono state osservate differenze significative tra i gruppi in tutti i tempi di conservazione: la dieta sperimentale con il 10% di inclusione di farina di gamberi, ha conferito ai filetti di orata crudi refrigerati e congelati una maggiore resistenza all'ossidazione e una stabilità più alta durante i tempi di conservazione rispetto alla dieta di controllo. Come previsto, quando i campioni sono stati cotti al forno, i valori misurati sono aumentati notevolmente, anche fino a un ordine di grandezza, in entrambi i gruppi e nei quattro diversi tempi di conservazione. Nonostante non vi siano limiti legali per il valore massimo di MDA nel pesce o nei prodotti derivati, autori come Connell (1995) e Monteiro et al. (2012), hanno riportato valori massimi accettabili di MDA tra 1 e 2 mg × kg-1 per la carne di pesce. Tutti i campioni analizzati in questa prova presentavano valori inferiori a queste soglie, evidenziando uno scarso stress ossidativo. Infine, valori elevati di tioli riscontrati nei filetti sperimentali a T1_R e T4_R, indicano una minore ossidazione proteica promossa dall'inclusione di farina di gamberi nel mangime, poiché i gruppi tiolici sono particolarmente vulnerabili agli attacchi ROS e ad altri radicali, subendo molti cambiamenti ossidativi. Le proprietà antiossidanti dell'astaxantina nel gambero rosso della Louisiana hanno ridotto l'ossidazione dei tioli. Ciò è in linea con altri lavori su specie diverse, come la trota iridea. Per quanto riguarda le prestazioni zootecniche, che devono essere prese in considerazione quando vengono proposte nuove formulazioni di mangimi, non sono state evidenziate differenze significative in peso e lunghezza tra i due gruppi di trattamento alla fine della prova di alimentazione. Pertanto, possiamo sostenere che l'inclusione del 10% di gamberi non ha influenzato né l'appetibilità del mangime né le prestazioni nutrizionali della dieta.

Questa prova di alimentazione ha quindi permesso di verificare che l'inclusione di gambero rosso della Louisiana nel mangime formulato per il presente studio ha influenzato positivamente la *shelf life* complessiva dei filetti di pesce refrigerati in momenti diversi, sia prima che dopo la cottura.

I risultati del presente studio mostrano chiaramente il buon potenziale della farina dei gamberi rossi della Louisiana (una delle specie aliene invasive che necessita di politiche di contenimento) come ingrediente antiossidante per l'orata allevata con metodo biologico. Tale ingrediente potrebbe provenire dalla biomassa dei gamberi proveniente dalle campagne di eradicazione e contenimento previste dalla normativa europea (Reg. UE 1143/2014).

Rispetto a una normale dieta biologica, la preparazione con farina di gamberi interi al 10% non ha avuto effetti negativi sulla crescita dei pesci, ha influenzato positivamente il profilo lipidico dei PUFA n-3 e la conservabilità complessiva dei filetti di pesce refrigerati in tempi diversi, sia prima che dopo la cottura.

Bibliografia:

Connell, J. J. (1995). *Control of fish quality* (4th ed.). Wiley-Blackwell.

Monteiro, M. L. G., Mársico, E. T., Teixeira, C. E., Mano, S. B., Conte, C. A., & Vital, H. de C. (2012). Validade comercial de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Ciencia Rural*, *42*(4), 737–743. https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400027

Zaki, M., El-Bassyouni, H., Kamal, S., El-Gammal, M., & Youness, E. (2014). Association of serum paraoxonase enzyme activity and oxidative stress markers with dyslipidemia in obese adolescents. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *18*(3), 340–344. https://doi.org/10.4103/2230-8210.131173

PRIORITÀ 3 - Valutazione, attraverso tecniche citofluorimetriche, dell'effetto sul sistema immunitario dei pesci (in particolare di trota iridea) dell'inclusione di ingredienti funzionali nelle formulazioni mangimistiche commerciali

Nell'ambito della tematica sulla riduzione della dipendenza dai trattamenti farmacologici e della resistenza antimicrobica, il CREA ha completato uno studio integrato per la valutazione della risposta del sistema immunitario innato in seguito all'utilizzo di ingredienti funzionali (es. sostanze immunostimolanti) nei mangimi. La metodica di elezione per tale studio è la citometria a flusso, che è in grado di fornire dati multiparametrici sulla capacità di risposta individuale delle cellule immunitarie.

Nel corso delle attività sono state effettuate analisi per la messa a punto del prelievo del campione di sangue dalle trote con diversi sistemi (provette con diversi tipi di anticoagulante, aghi per prelievo di diversa grandezza e siringhe eparinate) al fine di definire il metodo ottimale per prelevare e preservare il campione e provocare il minore stress all'animale.



Figura 5. Prova sul campo presso impianto di acquacoltura aperto composto da 8 vasche da 1000L ciascuna (a). Vasca contenente 18 esemplari di trota iridea (b). Immagine rappresentativa di prelievo di sangue dalla vena caudale in trota iridea (c). Prove preliminari per valutare la temperatura di incubazione ottimale per il saggio (d).

Inoltre, sono stati valutati gli effetti di diversi anticoagulanti sulle conte ematologiche e sulla funzionalità leucocitaria. Parte di questi risultati sono stati oggetto di una presentazione orale durante la conferenza internazionale "Aquaculture and Fisheries" di Barcellona (Allegato 6) e una

submission scientifica, attualmente in review, presso la rivista Heliyon (Cell Press – Elsevier; Allegato 7). Di seguito si riportano alcuni estratti del lavoro.

Per questo studio preliminare sono stati selezionati in maniera randomica 6 individui (peso compreso tra 400 e 700 gr), sacrificati tramite annoccatura. Successivamente, sono stati prelevati 10mL di sangue dalla vena caudale, aliquotati poi in vacutainer contenenti Litio-Eparina (Li-Heparin), K_3EDTA, o ACD-A. Il sangue intero è stato utilizzato per: conte ematologiche, valutazione della morfologia cellulare e della funzionalità dei globuli bianchi (previo isolamento tramite lisi dei globuli rossi). La funzione dei globuli bianchi, o leucociti, è stata valutata attraverso saggi di vitalità, di produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e di attività fagocitaria.

I risultati ottenuti hanno evidenziato un numero inferiore di globuli rossi (RBC) in campioni di sangue prelevati in K_3EDTA e ACD-A, inoltre l'ACD-A causa una riduzione nel numero di trombociti (TBC) (Tabella 8).

Tabella 8. Conta ematologica assoluta in campioni di trota iridea raccolti in Li-Eparina, K3EDTA, o ACD-A. Numero di globuli rossi (RBC), trombociti (TBC), leucociti (WBC), lymphocyte count (LC), small lymphocyte (SL), large lymphocyte (LL), monociti (MON), neutrofili (NEU) ed eosinofili (EOS). Lettere diverse tra le righe indicano una differenza statisticamente significativa ($p<0.05$).

	ACD-A	K_3EDTA	Li-Heparin	*p*-value
	Mean±SD			
RBC ($x10^6$/µL)	1.07±0.04[b]	1.13±0.06[b]	1.64±0.06[a]	0.0003
TBC ($x10^4$/µL)	3.78±0.33[b]	4.48±0.30[a]	4.51±0.34[a]	0.008
WBC ($x10^4$/µL)	6.08±0.14	6.15±0.19	6.21±0.15	0.402
LC ($x10^4$/µL)	4.52±0.2	4.48±0.34	4.52±0.16	0.996
SL ($x10^4$/µL)	2.39±0.17	2.46±0.13	2.42±0.09	0.633
LL ($x10^4$/µL)	2.20±0.12	2.21±0.10	2.22±0.11	0.884
MON ($x10^3$/µL)	4.10±0.07	4.09±0.13	4.11±0.09	0.849
NEU ($x10^4$/µL)	1.12±0.08	1.11±0.09	1.07±0.11	0.738
EOS ($x10^2$/µL)	0.80±0.01	1.01±0.01	0.70±0.01	0.663

La preparazione leucocitaria ottenuta da sangue in ACD-A mostra una mancata lisi dei globuli rossi, per questo motivo i risultati ottenuti sono stati esclusi dai risultati seguenti. L'analisi di vitalità non ha riscontrato differenze tra campioni raccolti in K_3EDTA e Li-Heparin, mentre il saggio di produzione di ROS ha evidenziato una differenza significativa nell'intensità di fluorescenza (MFI) della sottopopolazione mieloide di leucociti vivi (Figura 6f).

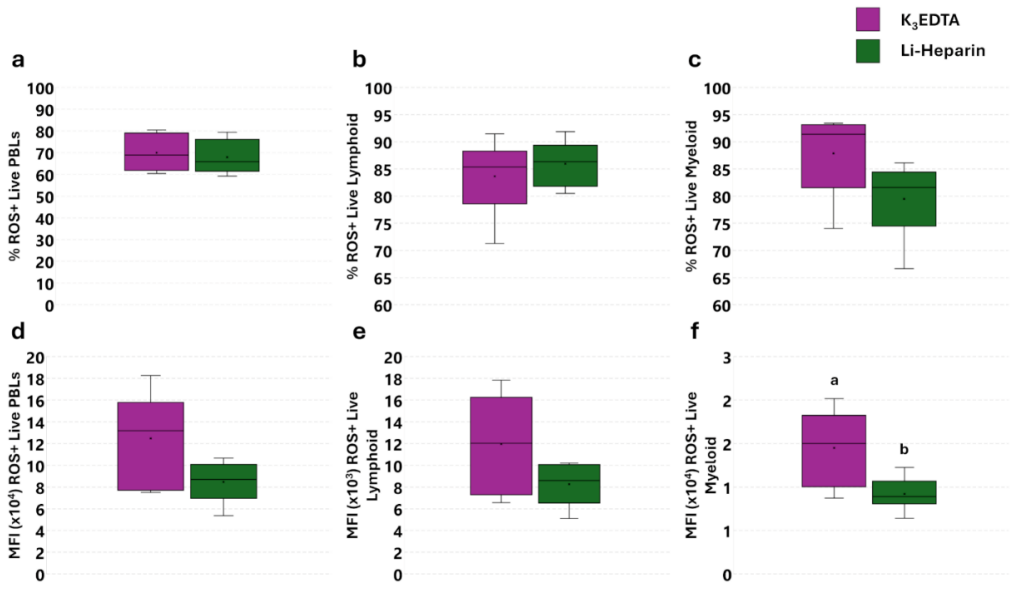


Figura 6. Analisi dello status ossidativo dei leucociti di trota iridea. Percentuale (a-c) ed intensità media di fluorescenza (d-f) correlata alla produzione di ROS in leucociti vivi (a,d), e nelle sottopopolazioni linfoidi (b,e) e mieloidi (c,f).

Inoltre, è stato testato un approccio simultaneo per valutare contemporaneamente la vitalità, l'attività fagocitaria e il burst-ossidativo correlato alla fagocitosi. Con questo saggio è stato rilevato un aumento significativo nella fluorescenza associata alla fagocitosi di cellule linfoidi vive ROS+/pHR+ in litio-eparina rispetto a K_3EDTA (Figura 7b). La tendenza opposta è stata rilevata nella fluorescenza associata ai ROS delle cellule linfoidi vive ROS+/pHR+ (Figura 7c). Per evidenziare la produzione di ROS associata alla fagocitosi, abbiamo calcolato l'aumento della quantità di ROS (Δ) dopo la stimolazione con batteri rispetto ai livelli basali (pre-fagocitosi). Il Δ di MFI associata ai ROS delle cellule linfoidi vive e mieloidi ROS+/pHR+ non ha rivelato differenze significative, sebbene la Litio-Eparina abbia mostrato un trend maggiore nella produzione di ROS associati alla fagocitosi, rispetto a K_3EDTA, specialmente nella sottopopolazione mieloide (Figura 7d,h). Questo suggerisce una migliore attività fagocitaria in campioni prelevati in Li-Eparina.

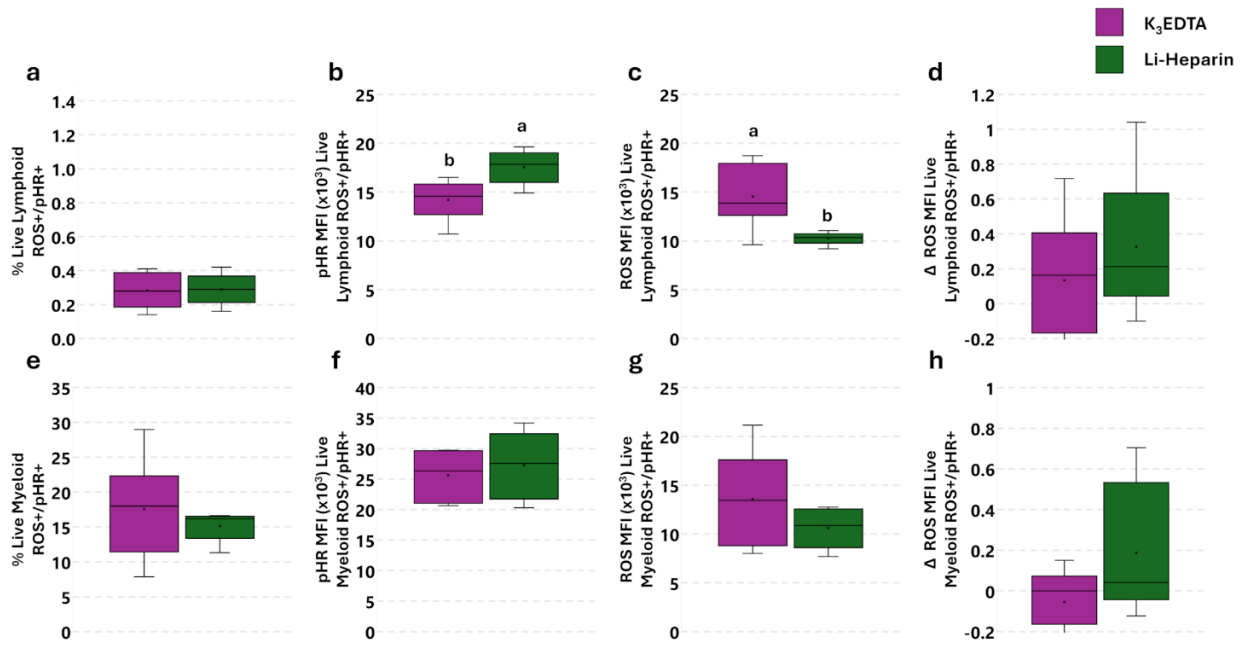


Figura 7: Analisi della fagocitosi e del burst ossidativo associato in leucociti di trota iridea. Percentuale (a-c) ed intensità media di fluorescenza (d-f) correlata alla produzione di ROS in leucociti vivi (a,d), e nelle sottopopolazioni linfoidi (b,e) e mieloidi (c,f).

I nostri risultati hanno mostrato che la Li-Eparina può essere validamente utilizzata per tutte le applicazioni che abbiamo studiato. In conclusione, in questo studio abbiamo dimostrato che l'uso della citometria a flusso può fornire una visione più approfondita delle caratteristiche funzionali dei leucociti della trota iridea.

A seguito della messa a punto dei protocolli analitici sperimentali, è stata prevista una prova sperimentale in una troticoltura (Granica, in Provincia di Roma), individuata dall'API come adatta e disponibile all'applicazione operativa di approcci innovativi per la valutazione dello stato di benessere dei pesci allevati. I risultati della prova sono stati oggetto di pubblicazione scientifica in fase attualmente di review nella rivista scientifica Journal of Fish Diseases (Wiley; Allegato 8).

Per questo studio 108 animali sono stati separati casualmente in sei vasche di allevamento indipendenti (18 trote in vasche da 800 L ciascuna) dotate di un sistema a flusso continuo (ricambio d'acqua completo in ~20 min). Lo studio è stato svolto nel mese di luglio 2024, in cui la temperatura media dell'acqua era di 16±0,6 °C e il pH era di 7,7±0,5. Ciascuna vasca è stata alimentata con una diversa dieta commerciale in pellet: Optiline (Optiline 3P, Skretting), dieta controllo e Protec (Protec, Skretting), alimento contenente ingredienti immunostimolanti.

Dopo l'inizio della prova di alimentazione, l'allevatore ha riportato una mortalità giornaliera bassa ma costante (stillicidio), che suggeriva la presenza di un patogeno. Per questo motivo gli individui sono stati esaminati attraverso un approccio integrato per valutare gli effetti del mangime funzionale sullo stato di salute delle trote mediante: (1) indicatori di benessere esterni; (2) indici biometrici e autoptici; (3) indici ematologici standard e (4) valutazione dei parametri dell'immunità innata (vitalità dei leucociti, produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e capacità di fagocitosi) mediante citometria a flusso.

I risultati ottenuti dalla valutazione esterna dei pesci hanno evidenziato la presenza di diversi sintomi tra cui: ipermelanosi (Figura 8a), lesioni emorragiche delle pinne (Figura 8b) e della pelle (Figura 8c) e foruncoli cutanei (Figura 8d).

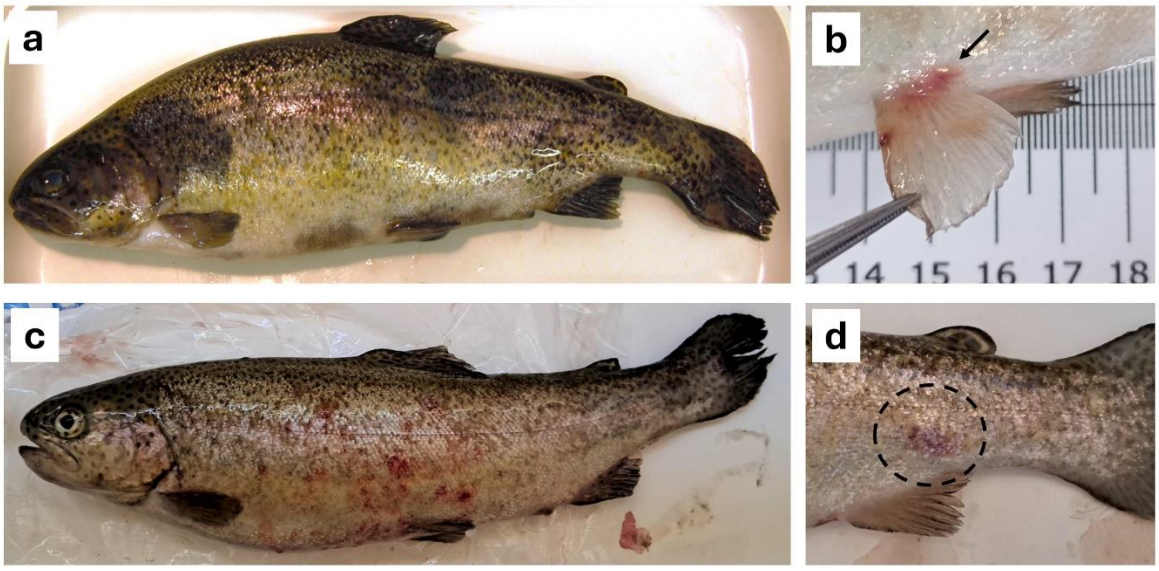


Figura 8: Valutazione macroscopica di trota iridea durante un'epidemia di A. salmonicida.

L'esame parassitologico della pelle, delle branchie, del tratto gastrointestinale e dei reni è risultato negativo. L'esame colturale batteriologico degli organi bersaglio ha rivelato, dopo più di 48 ore di incubazione, la presenza sistemica di *A. salmonicida*, confermata mediante MALDI-TOF.

Le analisi ematologiche hanno evidenziato un numero significativamente maggiore di trombociti e linfociti nel gruppo Protec, accompagnato da una percentuale inferiore di neutrofili rispetto al gruppo Optiline (Tabella 8).

Tabella 8. Conte ematologiche relative in campioni di trota iridea durante un'epidemia da A. salmonicida. RBC: globuli rossi; TBC: trombociti; WBC: leucociti; LC: linfociti; MON: monociti; NEU: granulociti neutrofili. I dati sono stati espresso come mediana delle percentuali e range interquartile (IQR). Gli asterischi denotano una differenza statistica (*p<0.05).

	Optiline	Protec
	Mediana (IQR)	
RBC	81.28 (79.57-87.34)	81.62 (78.55-84.80)
TBC	1.54 (0.99-1.98)	2.21 (1.25-2.62)*
WBC	9.36 (6.69-10.16)	9.19 (7.60-10.72)
LC	3.35 (2.60-4.48)	4.58 (3.42-5.16)*
MON	0.80 (0.51-1.10)	0.58 (0.44-0.97)
NEU	2.54 (1.54-3.19)	1.83 (1.30-2.54)*

I leucociti isolati da individui alimentati con Protec hanno mostrato una vitalità significativamente più elevata, e un tasso inferiore di apoptosi e morte cellulare, rispetto a quelli del gruppo Optiline (Tabella 9). Inoltre, sebbene non siano state rilevate differenze nella percentuale di leucociti produttori di ROS tra i gruppi Optiline e Protec, è stata notata una intensità di fluorescenza di ROS significativamente inferiore (MFI; p <0,05) nei leucociti isolato dagli individui Protec (Tabella 9).

Tabella 9. Analisi citofluorimetrica della vitalità e della produzione basale di ROS in leucociti di trota iridea durante un'epidemia da *A. salmonicida*. I dati sono stati espresso come mediana delle percentuali e range interquartile (IQR). Gli asterischi denotano una differenza statistica (*p<0.05; **p<0.01).

		Optiline	Protec
		Median (IQR)	
Leucociti	% live	42.59 (30.75-48.02)	53.73 (38.78-63.86)**
	% apoptotic	36.49 (30.06-46.60)	29.61 (25.54-38.71)*
	% dead	20.38 (13.66-26.99)	10.99 (6.57-22.52)*
Leucociti vivi	% ROS^+	89.16 (85.77-92.79)	89.09 (84.34-93.62)
	MFI ROS^+	33765.59 (26184.14-44101.80)	29689.17 (22891.02-36448.50)*
Linfociti vivi	% ROS^+	92.95 (90.02-94.36)	92.17 (87.80-95.71)

	MFI ROS$^+$	32736.64 (22621.75-41972.10)	30045.05 (21532.12-36320.81)
Mieloidi vivi	% ROS$^+$	90.74 (83.24-93.13)	86.15 (77.53-90.71)
	MFI ROS$^+$	43145.7 (37133.51-54899.40)	38246 (30169.2-48672.53)

Il test di fagocitosi non ha rivelato differenze significative nella percentuale e nell'MFI in pHrodo+ tra i gruppi Optiline e Protec (Tabella 10). Tuttavia, il gruppo Protec ha mostrato un MFI ROS inferiore nei leucociti vivi, nonché nelle cellule linfoidi vive ROS+/pHrodo- e ROS+/pHrodo+. Allo stesso modo, una proporzione inferiore di ROS+/pHrodo- e un tasso più elevato di cellule mieloidi vive ROS+/pHrodo+ sono state osservate in Protec rispetto al gruppo Optiline. Inoltre, un pHrodo MFI statisticamente più elevato è stato rilevato nelle cellule mieloidi vive ROS-/pHrodo+ isolate dal gruppo Protec. I dati descritti sono stati supportati dalla valutazione microscopica della capacità di fagocitosi della trota iridea e della produzione di ROS correlata alla fagocitosi. In particolare, ha mostrato la presenza di batteri internalizzati e non internalizzati e ha confermato che la fluorescenza verde (pHrodo) era emessa esclusivamente da batteri internalizzati.

Tabella 10: Analisi citofluorimetrica dell'abilità fagocitaria (pHrodo), e del burst ossidativo ad essa associato, in leucociti di trota durante un'epidemia da A. salmonicida. I dati sono stati espresso come mediana delle percentuali e range interquartile (IQR). Gli asterischi denotano una differenza statistica (*p<0.05; **p<0.01).

		Optiline	Protec
		Mediana (IQR)	
Leucociti vivi	% pHrodo$^+$	1.44 (0.83-2.25)	1.45 (0.75-3.80)
	pHrodo$^+$ MFI	33683.36 (26284.08-40885.20)	36892.86 (30202.46-42836.94)
	% ROS$^+$	88.95 (85.12-92.27)	92.33 (88.01-95.11)
	ROS$^+$ MFI	40373.81 (34540.57-45808.40)	33573.18 (27344.63-41001.58)*
Linfoidi vivi	% ROS$^-$/pHrodo$^-$	6.32 (3.90-9.27)	4.48 (2.37-7.21)
	% ROS$^-$/pHrodo$^+$	0.02 (0.01-0.03)	0.01 (0.00-0.03)
	% ROS$^+$/pHrodo$^-$	93.41 (90.49-95.63)	95.36 (92.34-97.22)
	% ROS$^+$/pHrodo$^+$	0.22 (0.13-0.39)	0.31(0.16-0.45)
	pHrodo MFI ROS$^-$/pHrodo$^+$	8220.39 (7491.61-9372.07)	9371.74 (7061.30-13825.50)
	pHrodo MFI ROS$^+$/pHrodo$^+$	11621.62 (10488.69-12838.07)	12632.9 (11505.36-13606.74)
	ROS MFI ROS$^+$/pHrodo$^-$	42413.91 (36080.948-48704.82)	33715.2 (28163.64-41950.15)*
	ROS MFI ROS$^+$/pHrodo$^+$	43886.88 (36152.08-54001.02)	34801.1 (28557.66-43178.36)*
	Δ ROS MFI	0.46 (0.07-0.81)	0.31 (0.11-0.76)
Mieloidi vivi	% ROS$^-$/pHrodo$^-$	23.09 (14.82-30.35)	23.73 (9.52-36.78)

	% ROS$^-$/pHrodo$^+$	0.19 (0.11-0.28)	0.29 (0.15-0.80)
	% ROS+/pHrodo$^-$	60.37 (55.62-69.72)	43.05 (36.83-57.68)**
	% ROS$^+$/pHrodo$^+$	14.34 (9.65-21.46)	20.91 (9.75-44.21)*
	pHrodo MFI ROS$^-$/pHrodo$^+$	14146.25 (9633.85-18847.84)	19572.37 (12523.77-29409.30)*
	pHrodo MFI ROS$^+$/pHrodo$^+$	63978.90 (41939.31-71473.71)	67524.66 (44889.27-87926.78)
	ROS MFI ROS$^+$/pHrodo$^-$	26528.30 (19320.88-29809.89)	26443.71 (19971.62-31234.12)
	ROS MFI ROS$^+$/pHrodo$^+$	40237.56 (34419.45-48717.95)	28431.41 (26917.01-38955.09)**
	Δ ROS MFI	-0.06 (-0.25-0.15)	-0.16 (-0.39-0.16)

In conclusione, l'approccio integrato utilizzato è in grado di valutare l'influenza di un mangime funzionale, disponibile in commercio, sulla trota iridea durante un'epidemia di *A. salmonicida*. I dati ottenuti suggeriscono che la dieta arricchita con immunostimolanti rafforza il sistema immunitario della trota iridea, mitigando parzialmente l'infezione da *A. salmonicida*. Studi futuri dovranno approfondire gli effetti di diversi fattori come:

- le interazioni sinergiche tra diversi ingredienti immunostimolanti,
- il dosaggio ottimale di ciascun ingrediente,
- la durata e la tipologia della somministrazione funzionale del mangime (continua vs. intermittente),
- il meccanismo alla base di questa risposta protettiva (stress, predisposizione genetica individuale).

La comprensione di queste dinamiche farà luce sulle diverse strategie di prevenzione che possono mitigare l'insorgenza delle epidemie.

BOX di Approfondimento: Prove di digeribilità in vitro per stimare l'efficienza di assimilazione di ingredienti e mangimi per l'acquacoltura.

Le analisi in vitro della digeribilità dei mangimi per l'acquacoltura sono strumenti cruciali per valutare la qualità e l'efficacia dei mangimi stessi. Questi test permettono di simulare le condizioni digestive di un pesce in laboratorio, senza bisogno di condurre esperimenti complessi e costosi sugli animali. Le principali utilità di queste analisi sono:

1. *Valutazione della qualità nutrizionale:* Le analisi in vitro permettono di misurare la digeribilità dei nutrienti, come proteine, carboidrati e lipidi. Questo è fondamentale per assicurare che il mangime contenga una quantità adeguata di nutrienti facilmente digeribili, necessari per la crescita e la salute degli organismi acquatici.
2. *Ottimizzazione della formulazione dei mangimi:* Con questi test, si possono confrontare diverse composizioni di mangime e selezionare le formulazioni più efficaci. Questo è utile per ottenere il massimo valore nutritivo con il minor impatto economico e ambientale, ottimizzando gli ingredienti in base alle esigenze digestive degli animali.

3. *Riduzione dei costi e della sperimentazione animale:* I test in vitro sono generalmente meno costosi rispetto agli esperimenti in vivo e riducono la necessità di sperimentazione sugli animali. Questa è un'importante considerazione etica e permette di accelerare i processi di ricerca e sviluppo.
4. *Previsione dell'efficienza di assorbimento:* Con le analisi in vitro, è possibile prevedere quanto del mangime ingerito verrà effettivamente assimilato dall'animale, aiutando i nutrizionisti a stimare l'efficienza della dieta e a ridurre lo spreco di nutrienti non digeribili.
5. *Sostenibilità ambientale:* Sapere esattamente quali nutrienti sono facilmente digeribili consente di ridurre la quantità di sostanze non digerite che vengono rilasciate nell'ambiente attraverso gli scarti. Questo contribuisce a ridurre l'inquinamento delle acque dovuto ai residui di mangime non digerito.

L'affinamento di queste tecniche analitiche è essenziale per sviluppare mangimi per l'acquacoltura che siano più efficienti, sostenibili e specifici per le specie, portando vantaggi sia economici sia ecologici.
Nell'ambito del progetto INNOFISHFARM sono state effettuate analisi quanti-qualitative su due diversi mangimi commerciali per trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) quali sostanza secca, ceneri, proteine grezze, estratto etereo, profilo amminoacidico e carotenoidi, di seguito sono riportati alcuni dei risultati ottenuti:

Proteine grezze totali (Nx6,25) g/100g		
	Valore medio	*d.s.*
Mangime 1	58,1	1,5
Mangime 2	70,0	2,6

Carotenoidi totali (mg kg^{-1})	
Mangime 1	6,483
Mangime 2	7,701

Profilo amminoacidico (g/100g)

	Mangime 1		Mangime 2	
g/100g	*Valore medio*	*d.s.*	*Valore medio*	*d.s.*
ASP	2,87	0,52	3,97	0,57
SER	1,75	0,23	2,21	0,22
GLU	5,47	1,09	7,82	1,18
GLY	2,46	0,43	2,80	0,28
HIS	0,63	0,12	0,77	0,01
ARG	2,00	0,37	2,44	0,10
THR	1,30	0,35	1,53	0,06
ALA	3,23	0,73	4,56	0,74
PRO	2,20	0,26	3,03	0,33
CYS	1,90	1,42	2,50	0,91
TYR	0,89	0,47	1,39	0,11
VAL	1,11	0,50	1,45	0,28
MET	0,77	0,13	0,83	0,02
LYS	2,60	0,73	1,80	0,33
ILE	1,09	0,18	1,30	0,03
LEU	2,17	0,34	2,94	0,12
PHE	1,30	0,39	1,52	0,08
totale	**33,73**		**42,87**	

Asparagina, Serina, Glutammina, Glicina, Istidina, Arginina, Treonina, Alanina, Prolina, Cisteina, Tirosina, Valina, Metionina, Lisina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina.

La stima della digeribilità in vitro è stata determinata secondo la metodica descritta in Silva et al. (2020), con alcune modifiche, ed ha utilizzato enzimi commerciali. La metodica ha previsto due step che simulano la digestione nella fase gastrica ed intestinale dei pesci.

Durante la prima fase di digestione gastrica, ai mangimi viene aggiunta una soluzione acida contenente l'enzima Pepsina (ottenuto da stomaco di suino), incubati ad una temperatura di 15°C per 30 minuti. Nella seconda fase di digestione intestinale, ai mangimi, già sottoposti alla digestione gastrica, è aggiunta una soluzione alcalina contenente gli enzimi proteolitici Tripsina e α-chimotrispina e incubati a 15°C per 180 minuti.

Terminato il processo di digestione, si procede alla precipitazione delle proteine con acido tricloroacetico (TCA) e alla successiva centrifugazione. Il surnatante ottenuto, contenente i prodotti potenzialmente digeribili della proteolisi proteica, quali piccoli peptidi ed amminoacidi, è stato analizzato sia quantitativamente, attraverso la determinazione dell'azoto totale (metodo Kjeldahl), che qualitativamente tramite la determinazione della composizione amminoacidica (in cromatografia liquida).

Digeribilità in vitro	*Valore percentuale*
Mangime 1	**51,7%**
Mangime 2	**47,7%**

Digeribilità dei singoli amminoacidi

	Mangime 1	Mangime 2
	Valore percentuale	*Valore percentuale*
ASP	10,1%	13,9%
SER	53,5%	97,2%
GLU	49,2%	43,9%
GLY	61,5%	83,6%
HIS	67,2%	64,6%
ARG	82,5%	82,2%
THR	83,7%	41,9%
ALA	48,2%	62,6%
PRO	70,3%	95,9%
CYS	73,5%	24,5%
TYR	99,6%	93,8%
VAL	53,4%	66,6%
MET	53,4%	70,4%
LYS	96,1%	36,5%
ILE	51,1%	67,5%
LEU	66,0%	81,2%
PHE	84,2%	98,2%

Tali risultati, in linea con la bibliografia scientifica, sono tuttavia importanti per confrontare le performance ottenute utilizzando al posto di enzimi sintetici disponibili commercialmente, enzimi estratti da esemplari di trota iridea provenienti dall'allevamento di interesse.

Sono state infatti condotte anche prove preliminari di estrazione, purificazione, concentrazione e valutazione quanti/qualitativa di enzimi proteolitici prelevati direttamente dall'apparato gastro- intestinale di trota iridea. La stima dell'attività enzimatica è stata effettuata tramite spettrofotometria utilizzando caseina ed emoglobina come substrati; mentre il potere idrolitico è stato valutato tramite la metodica pH Stat.

Tali enzimi, direttamente estratti dall'apparato gastro-intestinale, sono stati anche testati in una prova di digestione in vitro che ha previsto il confronto con gli enzimi commerciali seguendo la metodica sopra descritta.

Gli incoraggianti risultati preliminari ottenuti dovranno però essere confermati da ulteriori prove di estrazione che riducano al massimo la variabilità principalmente legata alle condizioni di allevamento degli animali in modo da ottenere dati ripetibili e procedure riutilizzabili.

PRIORITÀ 4 - Sistemi automatici e non invasivi per la stima della dimensione dei pesci nelle vasche di allevamento (trote e spigole/orate) e integrazione con gli attuali software di gestione aziendale.

Sulla base della bibliografia scientifica e dell'esperienza nel campo della sensoristica, nell'uso di algoritmi di *artificial intelligence* e *computer vison* del CREA si è proceduto all'acquisto di un prototipo di stereocamera subacquea che può essere impiegato sia in impianti di gabbie a mare che in vasche a terra (sia di acqua dolce che salata). Il device è stato consegnato a Settembre 2023.

La stereo-camera è dotata di 4 obiettivi a distanza l'uno dall'altro di 6 cm (Fig. 9). Tale soluzione tecnica permette allo strumento di essere utilizzato in diversi contesti, sia in vasche a terra dove la distanza dai pesci è ridotta (max 2 m), che nelle maricolture dove gli animali sono allevati in gabbie di dimensioni fino ai 28 m di diametro. Il software associato permette di settare l'acquisizione delle foto in base alle esigenze logistiche e sperimentali.

L'obiettivo è quello di stimare la taglia dei pesci, e successivamente il peso, attraverso relazioni biometriche, senza effettuare campionamenti diretti di individui, fornendo all'acquacoltore dati precisi per la calibrazione delle somministrazioni di cibo, risparmiando tempo e forza lavoro. Inoltre, l'ottimizzazione di un simile modello di stima delle biometrie permetterebbe di eliminare i campionamenti manuali che arrecano stress agli animali migliorando le condizioni di benessere in allevamento.

L'obiettivo di questa attività è quello di sviluppare, ad un livello TRL6 (Tecnologia dimostrata in ambiente (industrialmente) rilevante), una soluzione tecnologica che sia semplice da usare per gli operatori, e che abbia un costo compatibile con la realtà delle aziende di itticoltura italiane, ancora purtroppo sottocapitalizzate rispetto alla concorrenza straniera. Con tale soluzione, l'allevatore ittico potrà ottimizzare la produzione ed i costi da molti punti di vista:

- avendo consapevolezza del tasso di crescita, potrà dosare meglio il mangime riducendo sprechi o rallentamenti nella crescita;

- avendo un sistema autonomo di misurazione degli animali, potrà dirottare la manodopera su altre attività;

- non dovendo campionare i pesci manualmente (l'alternativa più diffusa) potrà ridurre lo stress e la mortalità dei pesci stessi.

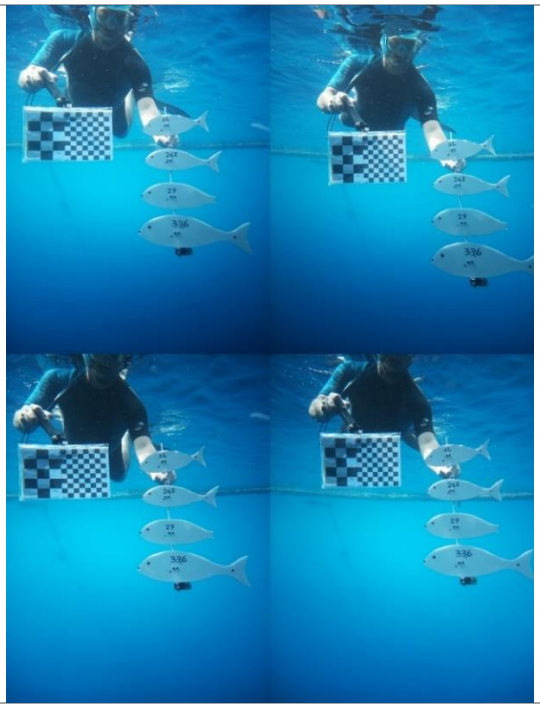


Figura 9. Stereocamera a tenuta stagna per l'impiego in impianti di acqua dolce e marina dotata di 4 obiettivi per la messa a fuoco ottimale a diverse distanze.

Nell'ultimo anno di progetto sono state effettuate le prove di calibrazione dello strumento in ambiente controllato (piscina). Successivamente le prove sono state effettuate sia in mare, all'interno di due aziende di maricoltura (una in provincia di Grosseto, nel Golfo di Follonica, e una sita nell'Isola di Capraia – Livorno), che in un allevamento di trota (a Preci in Umbria) (Fig. 11). Durante le operazioni di test sono state effettuate fotografie subacquee in diverse condizioni (acqua torbida o trasparente) sia con target di taglia nota (scacchiera e sagome di pesci) che agli animali allevati.

Questo processo di valutazione delle performance dello strumento in contesti di allevamento commerciale e non solo in condizioni sperimentali controllate, è stato fondamentale per valutare l'effettiva scalabilità della stereocamera per un suo utilizzo efficace negli allevamenti italiani.





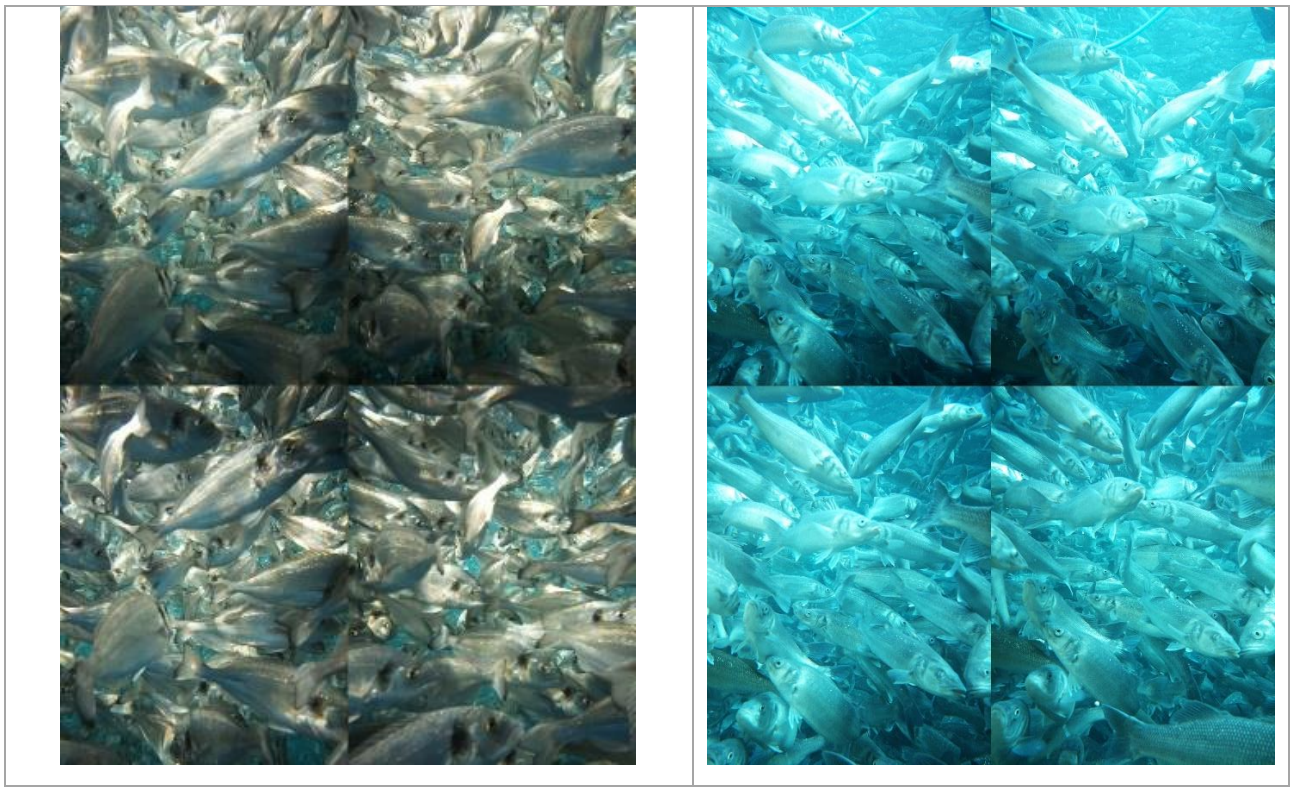


Fig. 10. Prove sul campo per la calibrazione della stereo-camera e per la rilevazione automatica di peso e taglia in un allevamento di orate e spigole in gabbie off-shore.

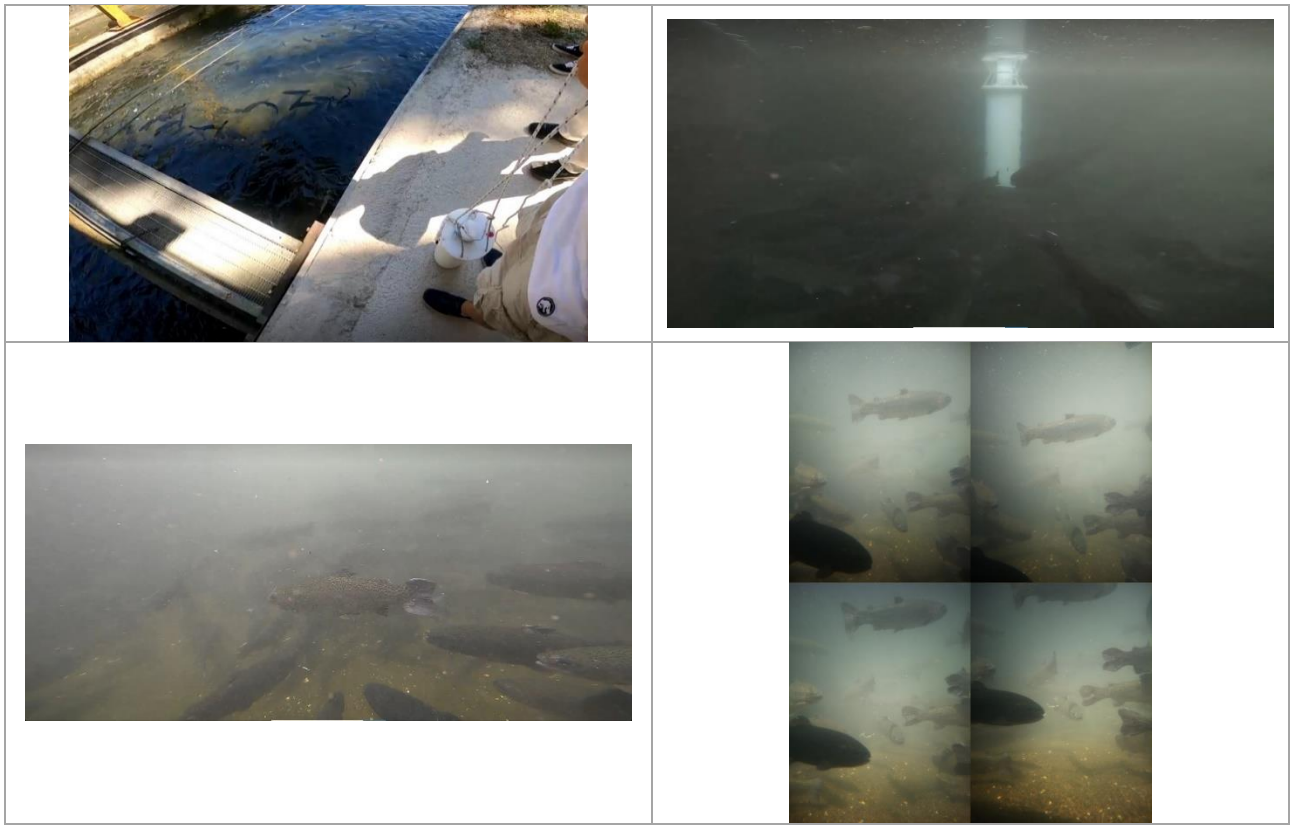


Figura 11. Prove sul campo per la rilevazione automatica di peso e taglia in un allevamento a terra di trote allevate in raceways.

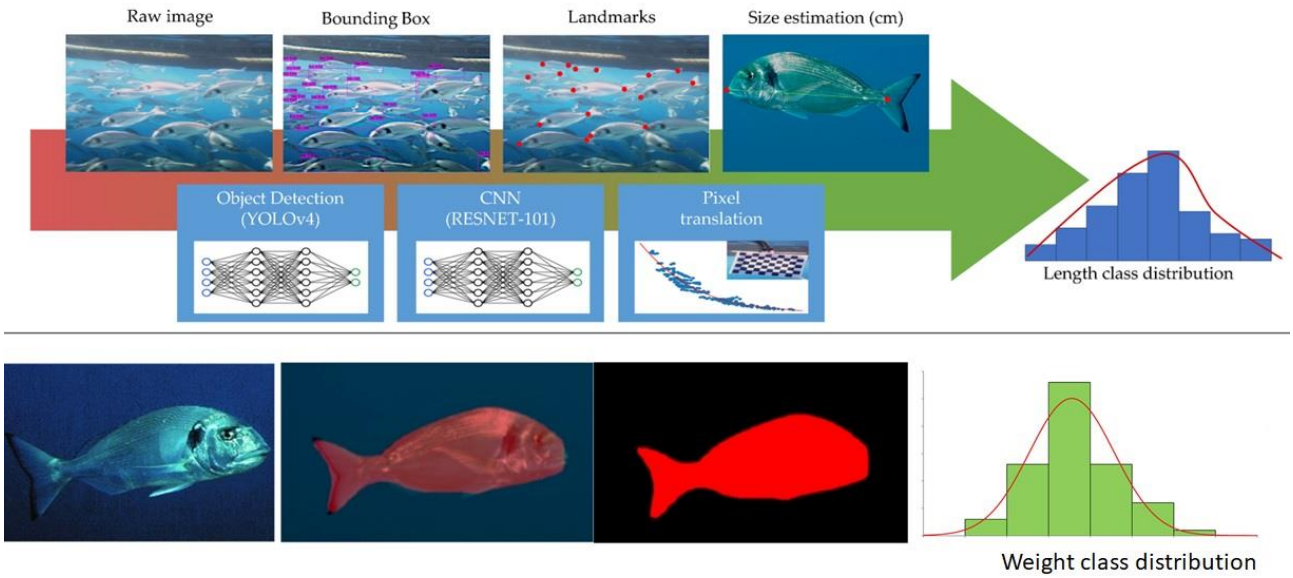
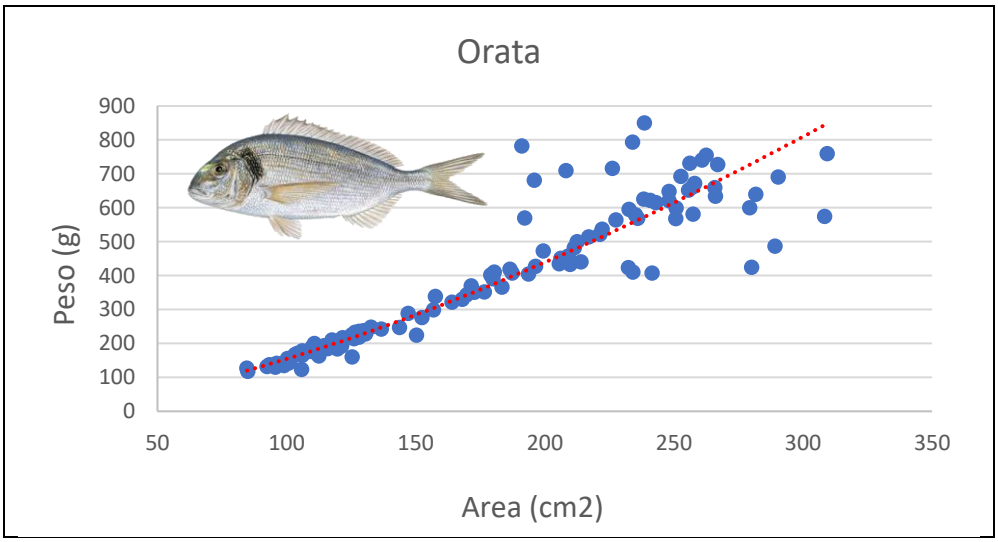


Figura 12. Pipeline del funzionamento del software di computer vision accoppiato ad algoritmi di intelligenza artificiale per la stima di taglia e peso individuale dei pesci a partire da foto subacquee.

Il dispositivo non necessita di alcun intervento manuale nell'elaborazione dei risultati, che includono una stima accurata della taglia in cm e della biomassa individuale (in gr) di un elevato numero di pesci attraverso la costruzione di una relazione tra proporzioni del corpo (area) e peso.

Tale relazione biometrica è stata calcolata sulla base di centinaia di immagini di individui di peso noto (spigola, orata e trota) raccolte in condizioni standard e controllate (stativo fotografico e luce controllata). Le tre relazioni specie-specifiche tra peso individuale e area della sagoma del pesce sono riportate in Figura 13.



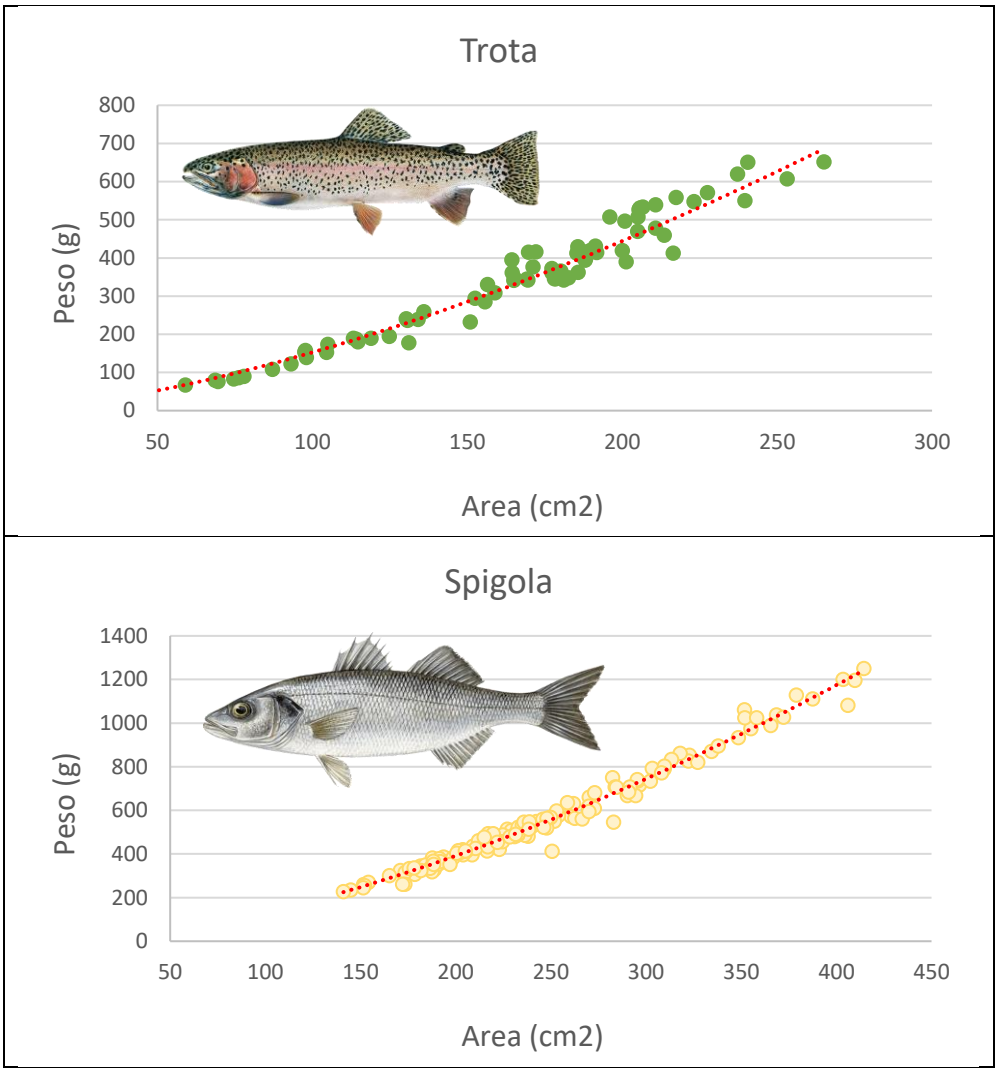


Figura 13. Relazioni esponenziali tra area (in cm2) e peso (in gr) delle 3 specie ittiche considerate.

In tutti e tre i casi il valore R^2 superava il 98%. Il modello di regressione è stato calibrato (67% di ciascun dataset) e validato (33%) ottenendo per orata, trota e spigola un valore di errore percentuale medio (*mean absolute percentage error* - MAPE) rispettivamente di 7.3, 6.5 e 3,7%.

I risultati delle attività condotte dal CREA durante il progetto per questa Priorità costituirà la base di dati per raggiungere un prototipo a livello TRL 8, ovvero un prodotto commercialmente proponibile ai soggetti della filiera.

Il tempo impiegato per misurare manualmente i pesci nelle diverse unità di allevamento, che si tratti di gabbie marine o vasche a terra, è tempo potenzialmente dedicabile ad altre attività per l'allevatore, che grazie ad uno strumento di misura automatico avrebbe modo di allocare energie e risorse migliorando così la produttività e la redditività della propria impresa. Gli altri strumenti commerciali ad oggi disponibili per la stima della lunghezza e del peso dei pesci richiedono che una parte considerevole dell'analisi venga eseguita manualmente da risorse umane, e la stima del peso viene ottenuta indirettamente tramite curve di regressione lunghezza-peso.

L'utilizzo di strumenti automatici per l'acquisizione di immagini subacquee, dotati di potenza di calcolo per l'elaborazione delle stesse e la stima di peso e taglia dei pesci allevati, potrà contribuire a sviluppare un'acquacoltura più sostenibile e neutrale dal punto di vista delle emissioni di anidride carbonica e nutrienti responsabili dell'eutrofizzazione degli ambienti acquatici, attraverso un uso più calibrato dei mangimi. Inoltre, il

dispositivo, nella sua versione commerciale, consentirà di migliorare il benessere degli animali allevati attraverso la riduzione di manipolazioni e stress indotto, e conseguentemente immettere sul mercato prodotti di più elevata qualità.

Attività di divulgazione

In collaborazione con l'Associazione Piscicoltori Italiani (API)

Il CREA grazie alla collaborazione con l'API ha avviato e proseguirà anche dopo la conclusione del progetto, una serie di attività di divulgazione dei risultati ottenuti. L'API inoltre ha fornito ai propri associati per tutta la durata del progetto aggiornamenti continui, in occasione delle Assemblee dei Soci e in eventi quali AQUAFARM 2024. Per la divulgazione dei risultati finali come convenuto in sede contrattuale l'API sul proprio sito istituzionale (www.acquacoltura.org) creerà una specifica pagina su cui saranno messi a disposizione i deliverables del progetto una volta concluso (es. articoli scientifici, Poster, abstract, ecc.). In contemporanea è prevista la pubblicazione di articoli e comunicati anche sui social media API (in particolare Linkedin, Facebook e Instagram). Durante l'Assemblea Generale API che si terrà nel tardo autunno (3 dicembre 2024) in sede API, ma con possibilità di collegamento anche da remoto, verranno presentati i risultati finali del progetto INNOFISHFARM. Tali risultati saranno diffusi attraverso l'utilizzo di reti telematiche, di posta elettronica, di banche dati e di siti e servizi internet (www.acquacoltura.org; sottodominio dedicato agli associati areasoci.acquacoltura.org) e di canali social (Facebook: www.facebook.com/AssociazionePiscicoltoriItaliani; X: twitter.com/APIOfficial; Instagram: www.instagram.com/a.p.i.official/; Youtube: www.youtube.com/channel/UCgKk3mw0B1sqfZve0skqKXA; Linkedin: www.linkedin.com/company/associazione-piscicoltori-italiani).

Frascati Scienza 2024

In collaborazione con il centro Alimenti e Nutrizione del CREA, durante le attività previste dall'evento "Frascati Scienza", è stato sviluppato un evento didattico destinato ai bambini delle scuole elementari dal titolo "ALLA RICERCA DI UNA ALIMENTAZIONE SOSTENIBILE". Si tratta di un gioco di società, dove le squadre composte dai bambini devono guadagnare, rispondendo correttamente ad alcune domande, gli alimenti del loro pasto equilibrato. Con questo laboratorio, bambine e bambini hanno imparato il concetto di "sostenibilità", sia in agricoltura che negli allevamenti, e in particolare in acquacoltura, capendo come i loro comportamenti quotidiani possono contribuire alla sostenibilità del sistema alimentare, anche attraverso la scelta dei prodotti che compongono la loro dieta (Allegato 9)

https://www.frascatiscienza.it/fsapp/evento/1126/22





Figura 14. Foto dell'evento didattico-divulgativo organizzato dal CREA durante Frascati Scienza 2024