

## Progetto finanziato nell'ambito Piano di azione FLAG Costa Emilia Romagna

### PO FEAMP 2014 2020 Priorità 4

**Azione 3.A. Diversificazione dei prodotti ittici e della pesca – Intervento 3.A.2: Azioni a finalità collettive, progetti pilota per l'applicazione di tecniche e modalità per diversificare le produzioni ittiche e le tecniche di pesca e di allevamento - Regolamenti (UE) 1303/2013 e 508/2014**

#### Progetto GO Restocking

#### Allevamento di Zooplancton come dieta per larve di *Zosterisessor ophiocephalus*

##### Introduzione

La selezione dell'alimentazione da somministrare alle larve di teleostei marini nei primi giorni di vita rappresenta uno dei fondamentali colli di bottiglia per ottenere giovanili vitali e sani. Infatti a causa dello sviluppo incompleto del tratto digerente e degli organi sensoriali, le larve di teleostei risultano particolarmente delicate (Lavens and Sorgeloos, 1996).

*Zosterisessor ophiocephalus* nelle sue fasi giovanili non fa eccezione, infatti nei primi giorni successivi al riassorbimento del sacco vitellino, la dieta prevede la somministrazione di prede vive che le larve possano cacciare attivamente (Privileggi et al., 1997).

Sebbene l'approccio maggiormente consolidato nella scelta della dieta dei teleostei allevati a scopo alimentare preveda la somministrazione di rotiferi e nauplii di *Artemia salina*, ai fini di questo progetto la scelta è ricaduta sulla somministrazione di copepodi, in quanto organismi emergenti come fonte di cibo vivo e dal profilo nutrizionale più ricco in acidi grassi di interesse per l'acquacoltura (Drillet et al., 2006).

##### Reperimento del cibo vivo

Lo zooplancton è stato campionato in un bacino di acqua salmastra del comprensorio delle Valli di Comacchio, in località Lido di Spina (FE), ossia il bacino denominato Valle Sottolido (44°39'11.23"N, 12°13'31.27"E). La Valle Sottolido si estende per circa 60 ha ed è una tipica valle da pesca in cui, oltre alla pratica della molluschicoltura, viene praticata la pesca soprattutto di cefali, branzini e orate, ma dove è stata segnalata anche la presenza di *Z. ophiocephalus*.

I campionamenti, in numero di 5, sono stati effettuati nel mese di maggio 2022. In tab.1 si riportano i valori medi di temperatura e salinità registrati mediante sonde e data logger durante il mese di campionamento, mentre in concomitanza con le giornate di campionamento è stata rilevata anche la concentrazione di clorofilla A mediante estrazione con acetone (Lorenzen, 1967).

Data e Ora	Temp,Valle (°C) AVG	Salinità (SA) AVG	CHL-A (mg/mc)
01/05/2022	21,4	21,9	
02/05/2022	21,4	20,8	4,121
03/05/2022	22,2	26,5	
04/05/2022	22,2	29,6	
05/05/2022	21,4	31	3,916
06/05/2022	19,5	27,8	
07/05/2022	18,8	27,3	
08/05/2022	20,5	26,5	
09/05/2022	22,7	27,6	
10/05/2022	24,2	25	
11/05/2022	25	22,1	9,879
12/05/2022	24,6	29,6	

13/05/2022	24	30,5	
14/05/2022	24,1	30,5	
15/05/2022	25,4	25,6	
16/05/2022	26	28,1	
17/05/2022	26,4	35,6	
18/05/2022	26,1	31,4	
19/05/2022	24,8	49,9	3,415
20/05/2022	25	44,9	
21/05/2022	25,3	34,2	
22/05/2022	26,7	34,7	
23/05/2022	26,9	35,5	
24/05/2022	25,8	34,6	
25/05/2022	25,8	33,9	3,248
26/05/2022	26,2	31	
27/05/2022	26,9	28,5	
28/05/2022	26,3	27,7	
29/05/2022	24	31,5	
30/05/2022	23,1	31,5	
31/05/2022	24,5	30,5	

Tabella 1 Parametri fisico-chimici delle acque nel maggio 2022 presso Valle Sottolido

Lo zooplancton è stato campionato mediante trascinamento di retino da plancton con rete da 100 $\mu$ m, e diametro 19cm. Il retino è stato trascinato per 300m tramite imbarcazione, per un volume totale di 850mc.



Figura 1 Campionamento mediante retino da plancton

I campioni raccolti sono stati setacciati su rete da 600 $\mu$ m al fine di rimuovere detriti grossolani e macroplankton, mentre su rete da 150  $\mu$ m è stato raccolto il plancton potenzialmente somministrabile a *Z. ophiocephalus*. Le aliquote dei campioni di dimensioni inferiori ai 150  $\mu$ m contenenti soprattutto ciliati, rotiferi, policheti spionidi e forme larvali di molluschi, sono state scartate al fine di ottenere colture composte fondamentalmente da copepodi.

### Allevamento del cibo vivo

#### *Microalgae*

La scelta della dieta da somministrare alla coltura di copepodi è ricaduta su *Isochrysis* aff. *galbana* T-ISO strain, in quanto è una microalga largamente utilizzata in acquacoltura sia per la sua composizione

nutrizionale ricca in acidi grassi (Napolitano et al., 1990), sia per la facilità di coltivazione in ambiente controllato (Tzovenis et al., 2003).

Il ceppo di T-ISO utilizzato fa parte di quelli conservati presso lo schiuditoio di Naturedulis s.r.l. e viene coltivato massivamente in colture "in batch", in fotobioreattori anulari da 200 litri, illuminati con luce a LED (min. 115 $\mu$ E) per 24 ore al giorno. Il mezzo di coltura utilizzato è il Walne medium (Walne, 1970) su acqua di mare (salinità=25-33g/L) trattata con irradiazione UV e filtrata con cartucce da 1 $\mu$ m. L'agitazione delle colture avviene mediante areazione con miscela aria/CO<sub>2</sub> (pH=7,8-8,1) e la temperatura mantenuta a 25  $\pm$  2°C.

T-ISO così coltivata, raggiunge densità di 5-7  $\cdot$  10<sup>6</sup>cells/ml ed è stata somministrata diluendola nei mesocosmi di coltura dei copepodi in regime di 5  $\cdot$  10<sup>4</sup>cells/ml.



Figura 2 Fotobioreattori per coltivazione di microalgae

### *Coltura di copepodi*

Gli organismi filtrati dai campioni (in maggioranza copepodi) sono stati alloggiati in no.4 contenitori di forma tronco-conica da 15L ognuno, tipo bottiglie di Zug, in coltura "in batch" per questo progetto, ma scalabile a coltura "in continuo".

L'acqua utilizzata per la coltura proviene dallo stesso sistema di filtrazione utilizzato per i fotobioreattori, quindi trattata mediante irradiazione UV e filtrata con cartuccia da 1 $\mu$ m. Le colture sono state mantenute in agitazione tramite leggera aerazione. La temperatura dell'acqua è stata mantenuta a 25 $\pm$ 2°C.



Figura 3 Impianto a bottiglie di Zug per coltura zooplancton

Ogni due giorni le colture venivano raccolte sul setaccio con rete da 150 $\mu$ m, in questo frangente si procedeva all'osservazione microscopica e alla conta degli organismi mediante camera di Sedgewick-Rafter.

L'acqua di coltura perciò veniva cambiata e veniva somministrata nuova T-ISO.

Partendo con concentrazioni iniziali di copepodi adulti di 50ind./L, sono state raggiunte densità massime di 320 ind. adulti/L dopo 8 giorni di coltura, oltre a concentrazioni superiori a 800ind./L per quanto riguarda le forme naupliari.

All'ottavo giorno di coltura, le colture venivano diluite nuovamente a 50ind. adulti/L, la parte eccedente stoccata in vasche da 100L prima del trasporto verso il sito di allevamento di *Z. ophiocephalus* per la somministrazione agli avannotti.

Al termine del ciclo di allevamento le colture risultavano composte da copepodi calanoidi sia in forma adulta che naupliare, tuttavia erano presenti anche copepodi arpacticoidi e ciliati.



Figura 4 Copepodi a fine ciclo di coltura

### Discussione e conclusioni

I picchi di densità di copepodi ottenuti con la metodica sopra descritta possono risultare soddisfacenti per progetti pilota su piccola scala come Go Restocking. Risultati produttivi migliori, sia in termini di resa produttiva che in termini di efficienza operativa, sono stati ottenuti soprattutto in impianti più voluminosi, con coltivazione in continuo e selezionando le specie di zooplancton più performanti (Breteler, 1980; Schipp et al., 1999; Medina and Barata, 2004; Peralta et al., 2011).

Ai fini dell'allevamento su piccola scala di teleostei, soprattutto nei primi tentativi di riproduzione controllata, risulta particolarmente interessante anche la somministrazione di campioni di zooplancton selvatico, con la sola selezione per taglia degli organismi di interesse (Burgess and Callan, 2018; Chattopadhyay et al., 2018). Il prelievo dello zooplancton da specchi acquei particolarmente eutrofici riduce il tempo di prelievo del campione, inoltre il prelievo da specchi acquei dove è presente la specie di teleosteo di interesse comporta la selezione di zooplancton di cui gli avannotti si nutrirebbero naturalmente, superando le difficoltà di predazione che gli avannotti possono incontrare nel cibarsi di organismi non naturalmente presenti nella loro dieta.

## **Bibliografia**

- Breteler, W. K. (1980). Continuous breeding of marine pelagic copepods in the presence of heterotrophic dinoflagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 2, 229-233.
- Burgess, A. I., & Callan, C. K. (2018). Effects of supplemental wild zooplankton on prey preference, mouth gape, osteological development and survival in first feeding cultured larval yellow tang (*Zebrasoma flavescens*). *Aquaculture*, 495, 738-748.
- Chattopadhyay, D., Chakraborty, A., Ray, P. K., Mandal, R., Banik, S. K., Suresh, V. R., & Ghosh, K. (2019). Larval rearing of hilsa shad, *Tenualosa ilisha* (Hamilton 1822). *Aquaculture Research*, 50(3), 778-785.
- Drillet, G., Jørgensen, N. O., Sørensen, T. F., Ramløv, H., & Hansen, B. W. (2006). Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. *Aquaculture Research*, 37(8), 756-772.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1996) Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361, Rome.
- Lorenzen, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12, 343-346.
- Medina, M., & Barata, C. (2004). Static-renewal culture of *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) for ecotoxicological testing. *Aquaculture*, 229(1-4), 203-213.
- Napolitano, G. E., Ackman, R. G., & Ratnayake, W. M. (1990). Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for bivalve larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21(2), 122-130.
- Peralta, Hazel Monica & Yusoff, Fatimah & Shariff, Mohamed & Mohamed, Suhaila. (2011). Small-scale continuous production of a tropical marine copepod, *Nitocra affinis californica* Lang and its potential as live food for aquaculture. *African journal of agricultural research*. 6. 1611-1620.
- Privileggi, N., Ota, D., Ferrero, E. A. (1997) Embryonic and larval development of the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae), *Italian Journal of Zoology*, 64:3, 201-207.
- Schipp, G. R., Bosmans, J. M., & Marshall, A. J. (1999). A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *Aquaculture*, 174(1-2), 81-88.
- Tzovenis, I., De Pauw, N., & Sorgeloos, P. (2003). Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids: II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids. *Aquaculture*, 216(1-4), 223-242.
- Walne PR (1970) Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fish. Invest.* 26, 1-62.