GO RESTOCKING

recupero di una specie autoctona attraverso azioni volte a sviluppare conoscenze per la produzione sostenibile

> 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

Beneficiario: Fondazione Flaminia, Ravenna

Gruppo di lavoro:
Fondazione Flaminia
Cestha Centro Sperimentale per la tutela degli habitat
Naturedulis S.R.L.















1

GO Restocking

Biologia della specie

Il ghiozzo gò (*Zosterisessor ophiocephalus*) è una specie di pesce teleosteo che vive comunemente nelle zone lagunari a fondo fangoso. Il suo areale di distribuzione va dal Mar Mediterraneo al Mar Nero (Kovačić et al., 2012b). Tra le specie della famiglia Gobiidae, il ghiozzo gò è tra le più grandi, con massime dimensioni di maschi adulti fino a 25 centimetri. La distinzione dalle altre specie della stessa famiglia avviene principalmente tramite la livrea con bande e macchie laterali caratteristiche (Figura 1). La colorazione tende sul giallo verdastro, inscurendosi nella parte dorsale e tendente al bianco sul ventre. Il ghiozzo gò possiede due pinne dorsali: la prima molto lunga e dotata di sei raggi con spine, mentre la seconda è dotata di quindici raggi molli (Mazzoldi et al., 2000).

Questa specie generalmente preferisce le zone con fondo fangoso perché è ricco di fanerogame marine (del genere *Zostera*) che il ghiozzo gò utilizza per la creazione del nido e la deposizione delle uova. Inoltre, questi habitat sono ricchi di piccoli crostacei e molluschi che risultano essere la dieta target della specie. Solo i maschi di dimensioni più grandi (15-16 cm), però, sono in grado di costruire il nido scavando delle piccole tane tra le radici delle fanerogame marine. Gli individui maschi più piccoli già maturi (5-6 cm; Tsikliras et al., 2014) utilizzano i nidi scavati dai maschi di taglie più grandi. Nelle tane entra poi la femmina che deposita al suo interno le uova attaccandole alle radici delle fanerogame marine, segue il maschio per la fecondazione. Il periodo di riproduzione è quello primaverile (marzo-maggio), con varie deposizioni durante la stagione; la cura delle uova è invece affidata agli individui maschi e, a seconda della temperatura dell'acqua, il tempo di schiusa varia da 1 a 3 settimane.

Questa specie viene pescata prevalentemente nella laguna di Venezia e in rari casi nel Mar Nero e nel resto del Mar Mediterraneo. Per la sua pesca vengono utilizzate delle gabbie chiamate nasse, che sono strumenti fissi di forma rettangolare che vengono immersi nelle acque lagunari e issati il giorno seguente. A causa della rapida scomparsa negli ultimi decenni di fanerogame marine in tutto il Mar Mediterraneo (Danovaro et al., 2017) e, in particolare, nelle zone lagunari venete, è venuto a mancare il luogo di costruzione della tana e, quindi, di deposizione delle uova. La scomparsa dell'habitat è poi ricaduta sulla popolazione della specie di ghiozzo gò i cui riproduttori risultano essere in netto calo in natura (Franco et al., 2001). Nell'area ravennate la specie è sempre stata rilevante nelle catture della pesca valliva tradizionale. Anche in questa zona, la sua assenza in epoca odierna, in particolare nelle piallasse, è da imputarsi non tanto ad un sovrasfruttamento della specie quanto alla vera e propria scomparsa delle praterie di *Zostera*.



Figura 1. Ghiozzo gò (Zosterisessor ophiocephalus) in vasca presso CESTHA, Marina di Ravenna















2

Descrizione generale dell'attività

Il progetto GO RESTOCKING si propone come un'iniziativa di successo per aumentare la diversificazione delle produzioni ittiche dell'area costiera attraverso la riscoperta di prodotti ittici desueti. Ha come obiettivo specifico, infatti, quello di individuare azioni utili alla reintroduzione di un prodotto ittico sul mercato, per proporre agli operatori ittici del territorio una nuova modalità di produzione sostenibile legata alla vallicoltura. La pesca e la produzione del ghiozzo gò, in quanto scomparso tra i prodotti ittici, è quindi da considerarsi una innovazione.

L'attività prevede azioni specifiche volte alla produzione della specie di ghiozzo go, un tempo ampiamente presente nelle lagune nord adriatiche ed oggi quasi del tutto scomparsa, e la comunicazione e disseminazione dei risultati prodotti e validati. La storicità della presenza di tale specie ne caratterizza anche il notevole interesse commerciale. Il ghiozzo go è infatti presente come specie della tradizione locale che, a causa della sua scomparsa, è andata via via scemando, permanendo con quantitativi utili ad oggi solo in Veneto, dove si attesta tra le maggiori specie sbarcate dalla pesca lagunare.

La finalità dell'intero progetto ha quindi una valenza collettiva, espressa anche dalla strutturazione del programma di disseminazione dei risultati, e propone di sviluppare nuove conoscenze tecniche ed organizzative utili a diminuire l'impatto stesso della vallicoltura sull'ambiente, influendo positivamente anche sul recupero di una specie autoctona.

Il progetto ha come obiettivo quello di sviluppare conoscenze di tipo tecnico, scientifico e organizzativo, utili alle imprese, attraverso l'applicazione di nuovi metodi di produzione sostenibili, salvaguardando, parallelamente, i prodotti e i mestieri della tradizione di pesca locale e diversificando lo sforzo di pesca, allentando la pressione sugli stock ittici in mare.

La validazione scientifica è il valore aggiunto di tutto il progetto con la strutturazione di un sistema di produzione sostenibile applicato ex situ utile ad una sua replicabilità in vallicoltura o in iniziative di ripopolamento. Il progetto si propone come studio pilota dall'elevato potenziale di replicabilità, grazie alla collaborazione con istituti scientifici e operatori ittici, con effetti positivi di ricaduta positiva sull'intero territorio FLAG. Contribuire allo sviluppo di un metodo replicabile e sostenibile di produzione della specie ghiozzo gò è, infatti, utile sia alle amministrazioni pubbliche e/o gli enti gestori dei parchi per azioni di restocking di una specie autoctona in rarefazione sia al settore produttivo ittico per aumentare la diversificazione della produzione ittica.

Il progetto si è quindi svolto attraverso una serie di fasi pratiche che hanno visto:

- il recupero dei riproduttori;
- il loro inserimento in un ambiente di controllo ex situ (vasche);
- la sperimentazione di una struttura, stampata in 3D, fornita alle coppie per favorirne la riproduzione;
- la validazione del nido "artificiale" con il successo riproduttivo attraverso la deposizione delle uova anche in assenza di fanerogame marine;
- la schiusa e la gestione delle larve ottenute, attraverso lo svezzamento con l'individuazione e la validazione di una dieta specifica.













3

Descrizione operativa

Recupero e gestione dei riproduttori

Gli individui riproduttori sono stati recuperati in laguna a Chioggia (Venezia) dai pescatori locali attraverso nasse da pesca e sono stati trasportati in taniche da 30 l con all'interno ossigenatori da operatori del centro CESTHA fino alla sede operativa a Marina di Ravenna (Ravenna). In totale sono stati traportati 18 esemplari maschi e 35 esemplari femmine in taglia riproduttiva.

Gli individui sono stati mantenuti in **sei** vasche da 750 l con parametri ambientali riportati in tabella 1 che sono stati giornalmente monitorati. Tre vasche sono state utilizzate per la sperimentazione del nido mentre le restanti tre hanno svolto funzione di controllo. L'acqua utilizzata appartiene al circuito chiuso (Figura 2) in utilizzo presso il centro CESTHA, con impianto di filtrazione e sterilizzazione UV. La temperatura dell'acqua al momento del carico era intorno a 20 °C ed è aumentata spontaneamente durante il periodo di sperimentazione fino ad un massimo di 30 °C. La scelta di non sottoporre le vasche di allevamento ad un condizionamento della temperatura indotto è da considerarsi strategica nella validazione del metodo di riproduzione attraverso nidi artificiali e trasposizione (in un prossimo futuro) in ambiente in situ.

Tre delle vasche sono state suddivise con griglie in spazi separati di 110x50 cm e sono state utilizzate per validare la funzionalità del nido artificiale.

Per aiutare l'acclimatamento degli individui in vasca, nonché per ricreare il più possibile una condizione di microhabitat simile a quello naturale, ogni vasca è stata dotata di un substrato di matrice sabbiosa, alto 5cm, sopra al quale sono stati collocati i nidi.

Il substrato è stato differenziato per ciascuna vasca, sperimentando tre diverse miscele sabbiose (Tabella 2): sabbia di vetro, sabbia marina, sabbia mista (50% di sabbia di vetro e 50% di sabbia marina). In seguito, in ogni porzione sono stati inseriti **1 nido e 4 esemplari adulti**: 1 maschio e 3 femmine (Tabella 3.1).

Le restanti 3 vasche di controllo non sono state suddivise con griglie e in ognuna sono stati inseriti 1 maschio e 3 femmine adulti (Tabella 3.2) insieme ad un tubo in PVC sezionato (Figura 3). Tale scelta ricalca l'esperienza maturata in altre sperimentazioni di riproduzione dei Gobidi durante le quali questo sistema è risultato efficace per la riproduzione. Si è quindi voluto utilizzare un sistema noto per validare il nido artificiale del progetto GO Restocking.

L'alimentazione dei riproduttori è stata effettuata giornalmente con 2 g di filetto di pesce per individuo. Tra le specie di pesce utilizzati per l'alimentazione: sarda (*Sardina pilchardus*), triglia (*Mullus barbatus*) e branzino (*Dicentrarchus labrax*).

Tabella 1. Parametri ambientali (pH, ossigeno disciolto e salinità) dell'acqua delle vasche di mantenimento dei riproduttori

| рН | Ossigeno disciolto | Salinità |
|-------|--------------------|----------|
| 8-8.5 | Fino a saturazione | 32-35 ‰ |















Schema impianto a ricircolo

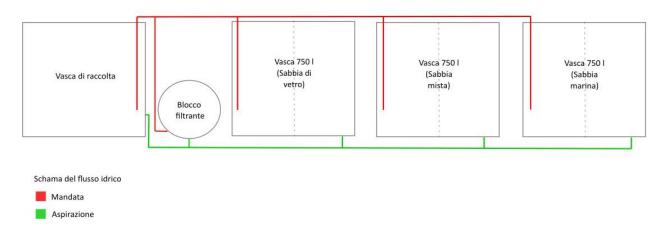


Figura 2. Schema dell'impianto a ricircolo utilizzato per il mantenimento dei riproduttori di ghiozzo go.

Tabella 2. Tipologia di sedimenti utilizzati nelle vasche dei riproduttori e le rispettive granulometrie.

| Tipo di sabbia | Granulometria (mm) | |
|--|--------------------|--|
| Sabbia di vetro | 0,6-1,2 | |
| Sabbia marina | 0,1-0,2 | |
| Sabbia mista (50% di sabbia di vetro e 50% di sabbia marina) | 0,1-1,2 | |



Figura 3. Tubo in PVC utilizzato come tana artificiale nelle vasche di controllo.















| Vasca | | Maschio (cm) | Femmine (cm) |
|-------------------------------------|--------|-----------------|-------------------------|
| Vasca 1 | Lato 1 | 15 | - 8,5 - 8,5 - 9 |
| Sedimento: sabbia di vetro | Lato 2 | 14 | - 8,5 - 9 - 9,5 |
| | Lato 1 | 15,5 | - 8,5 - 9 - 10,5 |
| Vasca 2 Sedimento: sabbia marina | Lato 2 | 16 | - 8,5 - 8,5 - 9,5 |
| | Lato 1 | 14,5 | - 8,5 - 8,5 - 10 |
| Vasca 3 Sedimento: sabbia mista | Lato 2 | 17 | - 8,5 - 9 - 9,5 |

Tabella 3.2 Divisione dei riproduttori nelle 3 vasche di controllo e taglie dei riproduttori suddivisi tra maschi e femmine.

| Vasca | Maschio (cm) | Femmine (cm) |
|-------------------|-----------------|--------------------------|
| Vasca Controllo 1 | 15 | - 9,5 - 10 - 10,5 |
| Vasca Controllo 2 | 17,5 | - 8,5 - 9,5 - 10,5 |
| Vasca Controllo 3 | 16,5 | - 8,5 - 8,5 - 10 |















Progettazione e costruzione del nido

Lo studio per la progettazione del nido (Figura 4a) è iniziato ideando una struttura con dimensioni della cavità interna (52 cm lunghezza, 28 cm larghezza, 20 cm altezza) che riproducessero quelle delle cavità che il ghiozzo gò crea in natura (0,5 m³; dati non pubblicati raccolti sul campo in lavori precedenti) sotto diverse specie di fanerogame marine. Anche l'ingresso del nido è stato realizzato di una dimensione (13 cm larghezza 10 cm altezza) e forma particolari per replicare l'entrata della tana che la specie crea in natura nelle radici delle fanerogame. La forma esterna non ha incidenza sulla riproduzione della specie, ma è stata armonizzata in funzione di un futuro inserimento in situ.

La produzione del nido è passata dalla modellazione e stampa di un prototipo attraverso la stampa 3D e utilizzo di ABS. Il prototipo è servito come negativo per la creazione di uno stampo in gomma. Lo stampo è poi servito per colare la miscela definitiva al suo interno per la creazione dei nidi (Figura 4b). Il materiale utilizzato per la costruzione dei nidi è un prodotto per la bio-edilizia in malta geolitica di nuova generazione a basso impatto ambientale, grazie alle certificazioni di produzione e per le caratteristiche di dispersione in ambiente.

Nella volta del soffitto sono state ricreate delle imperfezioni (Figura 4c) che ricalcano l'irregolarità del tetto della tana che il ghiozzo gò costruisce in natura.

Al posto delle radici delle fanerogame marine sono state inserite delle piccole cime (Figura 4b) di canapa legate in fori effettuati in precedenza nella struttura.







Figura 4. Modello (a), realizzazione (b) e dettaglio delle imperfezioni interne (c) del nido artificiale costruito per la riproduzione del ghiozzo gò















In seguito a controlli giornalieri sono state ritrovate uova (Figura 5a) solamente nei nidi stampati in 3D, sia nella vasca con sabbia marina sia nella vasca con il sedimento in mix di sabbie (50% sabbia di vetro e 50% sabbia marina). Nessun uovo è stato deposto nella vasca con sola sabbia di vetro con i nidi stampati in 3D così come in tutti i nidi in PVC.

Le uova deposte nella sabbia marina non sono state fecondate (Figura 5b) mentre la fecondazione è avvenuta con successo nei nidi posizionati nel mix di sabbie (Figura 5c; Grafico 1).

Una ipotesi su questo risultato è riconducibile alla maggiore somiglianza della granulometria tra la miscela creata in vasca e quella del sedimento negli areali dove solitamente il ghiozzo gò costruisce il nido e depone le uova.



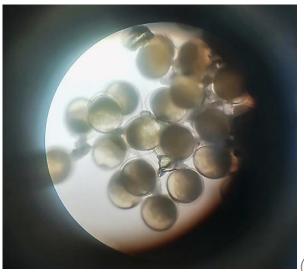




Figura 5. Uova di ghiozzo gò viste ad occhio nudo (a); visualizzazione al microscopio di uova non fecondate (b) e di uova fecondate al penultimo stadio di sviluppo (c).















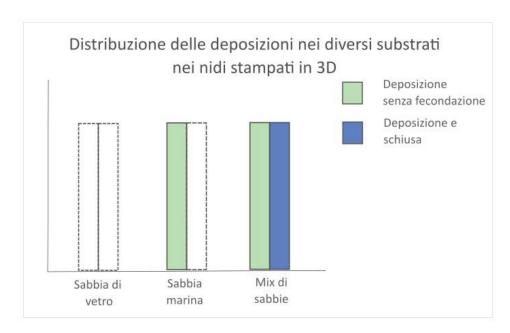


Grafico 1. Distribuzione di presenza/assenza delle deposizioni senza fecondazione (in verde) e con fecondazione e schiusa (in blu) nei 3 diversi tipi di sedimento: sabbia di vetro, sabbia marina e mix di sabbie (50% sabbia di vetro e 50% sabbia marina)

La validazione del sistema di riproduzione è stata effettuata attraverso l'utilizzo di un controllo sulle uova fecondate. Una parte delle uova fecondate è stata prelevata dal nido, per essere posizionata in un acquario di 200 l ad impianto chiuso con filtrazione e sterilizzazione UV. Piccole porzioni di cima di canapa sono state tagliate e appese libere nella colonna d'acqua dell'acquario. Il prelievo delle uova dai nidi è stato effettuato per valutare le tempistiche dello sviluppo delle uova (Grafico 2). Per sostituire le cure parentali e garantire il successo della schiusa, l'acquario è stato predisposto con un flusso idrico tale da simulare il movimento compiuto dal maschio. La sterilizzazione UV e l'applicazione di frequenti cambi d'acqua parziali hanno completato le operazioni su questa porzione di uova.

La parte restante di esse è stata mantenuta in vasca per far effettuare le cure parentali al maschio nel nido.

Lo stadio di sviluppo delle uova e in seguito quello larvale è stato valutato giornalmente attraverso analisi al microscopio e comparandole con la bibliografia (Figura 6; Privileggi et al., 1997).















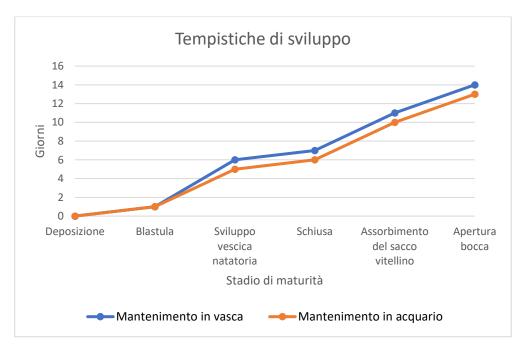


Grafico 2. Tempistiche di sviluppo delle uova e successivamente delle larve mantenute in vasca da 750 l (in blu) e in acquario da 200 l (in arancione)

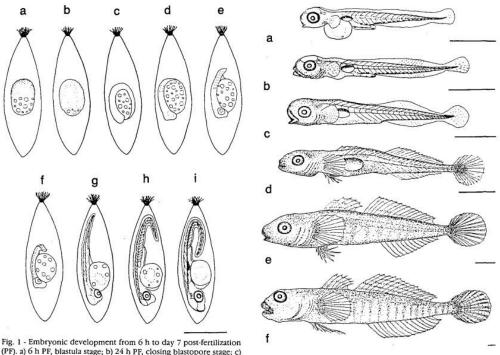


Fig. 1 - Embryonic development from 6 h to day 7 post-fertilization (PF). a) 6 h PF, blastula stage; b) 24 h PF, closing blastopore stage; c) 36 h PF, head fold stage; d) 48 h PF, 3 somite and optic vesicle stage; e) 60 h PF, 8 somite and tail bud stage; f) 80 h PF, auditory vesicles, primordial fin and 26 somite stage; g) 106 h PF, pigmented eye stage; h) 128 h PF, swimbladder pigmented stage; i) 152 h PF, developed pectoral fins, heart beating, 28 somite stage. Scale bar: 1 mm.

Fig. 2 - Larval development from day 1 to day 82 post-hatching (PH). a) hatching yolk-sac larva stage; b) day 4 PH, yolk sac absorption stage; c) day 7 PH, jaw formed stage; d) day 13 PH, metamorphosed juvenile with transformed primordial fin stage; e) day 26 PH, benthic stage; f) day 82 PH, juvenile later stage. Scale bar: 1 mm.

Figura 6. Immagini di sviluppo embrionale e larvale di ghiozzo gò utilizzate per il riconoscimento degli stadi delle uova deposte e delle larve schiuse in vasca (Privileggi et al., 1997)















Poiché le attività previste dal progetto sono state studiate come propedeutiche ad una replicabilità fattiva in ambienti di vallicoltura, l'acqua utilizzata durante la sperimentazione (vasche e acquario) non è stata appositamente raffreddata, ma lasciata ad un condizionamento spontaneo legato all'esterno. Il risultato di questa azione è stato che con temperature superiori ai 29 °C non ci fosse sopravvivenza larvale, mentre a 26 °C la sopravvivenza fosse pressoché totale (Grafico 3). Il fattore temperatura è risultato determinante nelle tempistiche di sviluppo (Grafico 2) tra il mantenimento in vasca o in acquario. Essendo la temperatura, infatti, di circa 2 °C superiore in acquario, in esso i tempi di sviluppo larvale sono stati più veloci con un più rapido successivo collasso.



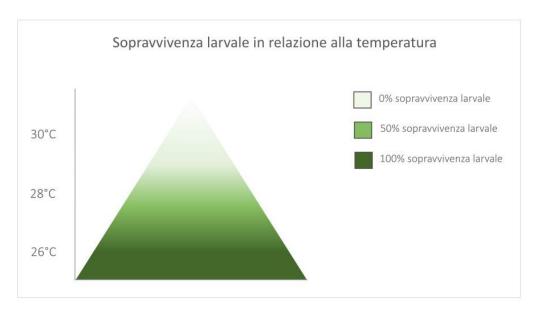


Grafico 3. Sopravvivenza larvale (%; valutata con visual census) in relazione a differenti temperature (26 °C, 28 °C e 30°C)

Considerando che le temperature nelle valli emiliano-romagnole difficilmente superano i 26 °C nel periodo di riproduzione del ghiozzo gò (Grafico 4) e che le larve sopravvivono a temperature fino a 28 °C, questo progetto risulta essere altamente applicabile in situ.















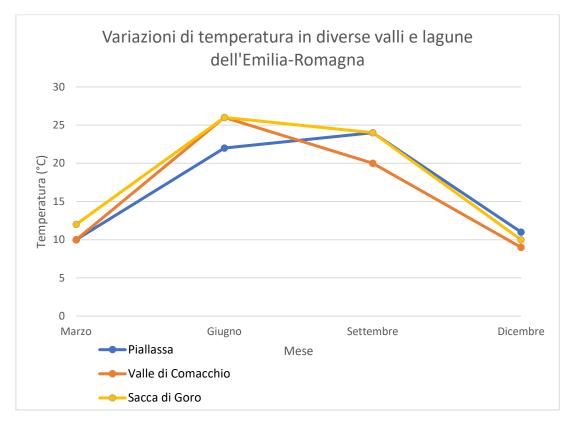


Grafico 4. Variazioni di temperatura in 3 siti in valli e lagune in Emilia-Romagna (Piallassa, Valle di Comacchio e Sacca di Goro) in 4 mensilità (Marzo, Giugno, Settembre e Dicembre) per valutare l'applicabilità in situ del progetto GO Restocking (dati: ARPAE)

Conclusioni

L'obiettivo del progetto GO Restocking era quello di validare un sistema di riproduzione del ghiozzo gò (*Zosterisessor ophiocephalus*) che sostituisse il legame della specie con le fanerogame marine, in rarefazione negli ultimi decenni, con un substrato di origine artificiale. All'interno del progetto questa attività si è svolta attraverso l'utilizzo di un nido facilmente replicabile, utile alla vallicoltura, unito alla validazione di una dieta per completare lo sviluppo delle larve.

Il nido progettato con la stampante 3D e costruito con materiali di bio-edilizia è risultato efficace alla prima sperimentazione. Tale struttura è validata grazie al confronto con i nidi di controllo (i tubi in PVC), i quali non hanno invece registrato deposizioni. Il fattore discriminante nelle fasi di riproduzione ex situ è stato individuato nel substrato posto all'interno. Infatti, nella vasca con substrato misto sono state trovate delle uova feconde che sono successivamente schiuse, quindi, si può ipotizzare che i riproduttori abbiano preferito quella vasca a seconda della granulometria del sedimento probabilmente più simile all'ambiente dove la specie va a deporre le uova.

La dieta utilizzata per l'alimentazione larvale ha portato allo sviluppo e all'accrescimento delle larve fino allo stadio pre-giovanile. Il fatto che in ambiente naturale durante la vallicultura le larve avranno a disposizione naturalmente più cibo non preclude l'applicabilità in situ del progetto.

La temperatura di collasso larvale è stata di 29 °C. Il progetto, quindi, ha un'altra applicabilità in situ poiché la temperatura in valle non raggiunge queste temperature e ciò non preclude la sopravvivenza delle larve.















PROTOCOLLO ALLEVAMENTO GHIOZZO GO'

| Dati | Valori |
|--|--|
| Periodo limite immissione riproduttori | Prima quindicina di aprile |
| Rapporti maschi/femmine | 1 a 3 |
| Volumetria minima/nucleo | 200 |
| Temperatura massima dell'acqua | 29 °C |
| рН | 8-8.5 |
| Salinità | 32-35 ‰ |
| Ossigeno disciolto | Saturazione |
| Alimentazione riproduttori | 2 g a individuo / giorno |
| Alimentazione giovanili | 30 ml zooplancton / 100 l |
| Fotoperiodo | Naturale |
| Filtrazione | Meccanica (sabbia di vetro)/ Biologica |
| Sterilizzazione | UV |

TABELLA DETTAGLIO NIDO ARTIFICIALE

| Dati | Valori |
|--------------------|----------------------------------|
| Altezza interna | 20 cm |
| Lunghezza interna | 52 cm |
| Larghezza interna | 28 cm |
| Altezza esterna | 24 cm |
| Lunghezza esterna | 72 cm |
| Larghezza apertura | 10 cm |
| Altezza apertura | 13 cm |
| Materiale nido | Malta geolitica per bio-edilizia |
| Materiale cime | Canapa |















Bibliografia

Danovaro, R. (2017). Vulnerabilità degli ecosistemi marini. Focus sul Mediterraneo. Equilibri, 21(2), 323-336.

Franco, A., Malavasi, S., Pranovi, F., Torricelli, P. and Nasc, C. 2001. Biological indicators of environmental stress in populations of Zosterisessor ophiocephalus (Teleostei, Gobiidae) in the Venice Lagoon. Rapport du Congress de la CIESM 36: 384.

Kovačić, M., Ŝanda, R., Kirinčić, M. and Zanella, D. 2012b. Geographic distribution of gobies (Gobiidae) in the Adriatic Sea with thirteen new records for its southern part. Cybium 36(3): 435-445.

Mazzoldi, C., Scaggiante, M., Ambrosin, E., & Rasotto, M. B. (2000). Mating system and alternative male mating tactics in the grass goby Zosterisessor ophiocephalus (Teleostei: Gobiidae). Marine Biology, 137(5), 1041-1048.

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.

Tsikliras, A. and Stergiou, K. 2014. Size at maturity of Mediterranean marine fishes. Reviews in Fish Biology and Fisheries 24: 219-268.

















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 macroplancton, 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 $_2$ (pH=7,8-8,1) e la temperatura mantenuta a 25 \pm 2°C.

T-ISO così coltivata, raggiunge densità di $5-7 \cdot 10^6$ cells/ml ed è stata somministrata diluendola nei mesocosmi di coltura dei copepodi in regime di $5 \cdot 10^4$ 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 ± 2 °C.



Figura 3 Impianto a bottiglie di Zug per coltura zooplancton

Ogni due giorni le colture venivano raccolte sul setaccio con rete da 150µm, 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 (Isochvysis 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.