

Analisi della qualità dell'acqua di un impianto sperimentale di acquacoltura che impiega *novel feed formulations*

L'acquacoltura, ovvero l'allevamento di diversi organismi acquatici in acqua dolce o salata, è una pratica molto importante per riuscire a far fronte all'aumento della richiesta di prodotti ittici che la pesca non può compensare e nello stesso tempo salvaguardare l'ambiente.

Una delle innovazioni nel campo dell'acquacoltura riguarda la ricerca di nuove formulazioni di mangimi. Le nuove tecnologie infatti permettono la sperimentazione di fonti alternative che possano rimpiazzare o quantomeno ridurre i mangimi a base di pesce, non più sostenibili dal punto di vista ecologico ed economico. Una possibile novità in quest'ambito riguarda l'utilizzo di farina e olio di insetti nelle formulazioni dei mangimi. Il regolamento (UE) 2017/893 della Commissione del 24 maggio 2017 ha autorizzato l'utilizzo di proteine animali trasformate derivate da insetti per l'alimentazione degli animali d'acquacoltura; tra questi vi è un coleottero, il tenebrione mugnaio (*Tenebrio molitor*).

In questa tesi mi sono focalizzato sull'analisi della qualità dell'acqua di un impianto pilota di acquacoltura in cui si studiano gli effetti di nuove formulazioni mangimistiche sulla salute e la crescita della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), al fine di rilevare eventuali cambiamenti nella composizione chimica e microbiologica delle acque impiegate in questo impianto pilota. Un incremento di concentrazione, per esempio, di composti azotati e fosforo sono i principali indicatori di un accumulo di prodotti di scarto, composti da mangime non ingerito, feci o prodotti dell'escrezione. Un aumento di questi parametri, che superi la capacità naturale di assimilazione di un ecosistema, può portare a fenomeni di eutrofizzazione con conseguente riduzione di ossigeno ed essere dannoso per la salute dei pesci, soprattutto per la trota che necessita di acque molto ossigenate.

Sono stati analizzati quindi, da un punto di vista chimico e microbiologico-molecolare, campioni di acqua provenienti dalle vasche dell'impianto che ha testato i mangimi basati su farina e olio di *T. molitor*, a diverse concentrazioni. Sono stati inoltre analizzati, solamente dal punto di vista chimico, campioni di acqua provenienti da vasche che sperimentavano formulazioni mangimistiche costituite da diverse tipologie di metionina, quali

L-metionina, DL-metionina nella forma normale e in quella rivestita da composti resistenti alla digestione, dimeri di DL-metionina (met-met) e DL-idrossi-metionina (HMTBa).

I dati ottenuti sono stati integrati con analisi di microbiologia classica, tra cui conta delle unità formanti colonia (CFU), e analisi di biologia molecolare avanzate, come il sequenziamento high-throughput del DNA (High Throughput DNA Sequencing) dei batteri

presenti nelle vasche di allevamento, in modo tale da ottenere informazioni sul microbiota dell'acqua ed evidenziare eventuali cambiamenti nella comunità microbica a seguito della somministrazione dei mangimi oggetto dei test.

Inoltre, è stata sviluppata la procedura sperimentale per individuare l'eventuale presenza di microplastiche (dimensioni < 5 mm) nell'acqua impiegata in acquacoltura, tramite FT-IR. Infine, è stato testato l'effetto della presenza di nanoplastiche (dimensioni < 100 nm), a diverse concentrazioni, in batteri (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas sp.*) e crostacei (*Daphnia magna*) presenti in acqua, al fine di valutare l'impatto delle plastiche sull'ecosistema acquatico in esame, in cui vengono allevati i pesci che saranno poi destinati all'alimentazione umana.

Questa tesi sperimentale si inserisce in un più ampio progetto, che mira a fornire un'analisi globale e multilivello, che coinvolga diversi ambiti, tra cui la sostenibilità economica, ecologica, la sana e corretta crescita del pesce, l'impatto ambientale dei nuovi mangimi, e un eventuale trasferimento tecnologico dei risultati ottenuti.

Dal lavoro svolto in questa tesi è emerso che la comunità batterica proveniente da acque venute a contatto con differenti tipologie di mangimi non è influenzata dal tipo di mangime che viene somministrato, ma è la data di campionamento la discriminante in queste analisi. Un'altra discriminante è la tipologia di campione da cui viene analizzata: in particolare, è stato osservato che la composizione batterica delle acque è differente da quella del biofilm e da quella del muco prelevato dall'epidermide dei pesci.

Le analisi chimiche hanno invece rivelato che non c'è differenza tra le vasche, l'unica discriminante in questo caso riguarda la qualità delle tubature che portano l'acqua alle vasche stesse.

Per quanto riguarda il protocollo di estrazione di microplastiche, esso non ha avuto esito positivo a causa di possibili problematiche come la bassa concentrazione di acqua filtrata, l'impossibilità di analizzare direttamente i filtri e le dimensioni molto piccole delle plastiche. Le analisi di nanoplastiche hanno invece evidenziato che le concentrazioni utilizzate non hanno effetti sulla crescita dei batteri utilizzati per lo studio. Ciò sembra essere confermato dalle successive analisi al microscopio a epifluorescenza, che hanno rivelato una distribuzione pressoché uniforme delle nanoplastiche nel medium di coltura e che sembrano non interagire con le nanoplastiche.

Gli studi effettuati con l'organismo modello *Daphnia magna* hanno invece mostrato un accumulo di nanoparticelle marcate a livello dell'apparato intestinale dell'animale, evidenziando ancor di più quanto facilmente particelle di queste dimensioni possano essere

assunte dagli animali, con un potenziale effetto tossico per l'animale stesso e per la catena trofica ad esso associata.

Il lavoro svolto in questa tesi costituisce un importante step iniziale per fornire la conoscenza necessaria ad applicare un futuro monitoraggio efficiente, in grado di valutare con un approccio olistico la qualità di un impianto di acquacoltura, misurandone l'impatto ambientale, integrando il dato con il valore nutrizionale del pesce e la sua sicurezza per l'alimentazione umana. L'Italia ha investito e sta investendo in questo ambito, creando filiere industriali di qualità capaci di garantire prodotti buoni, sicuri e competitivi.

Futuri lavori potranno approfondire meglio le interazioni tra le variabili ambientali e *novel feed formulations* e potranno essere estesi ad allevamenti che impiegano pesci diversi, modellando l'approccio in base alle esigenze. Sicuramente innovazioni tecnologiche permetteranno una migliore, più profonda e completa comprensione delle dinamiche ecosistemiche intrinseche ad un impianto di acquacoltura e contribuiranno a fornire un prodotto sicuro per l'uomo e per l'ambiente.