

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente

Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Animali

Effetto della biofortificazione con microelementi su  
prestazioni e qualità di pesci persico trota (*Micropterus  
salmoides*) allevati in un sistema acquaponico accoppiato

*Effect of micronutrient biofortification on the performance  
and quality of Largemouth Bass (Micropterus salmoides)  
reared in a coupled aquaponic system*

Laureando: **Daniele Lanza**

Matricola n.: **2062573**

Relatore: **Prof. Marco Birolo**

Correlatrice: **Dott.ssa Veronica Trabacchin**

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



“If you can *DREAM* it, you can do it.”

*Walt Disney*



## Indice

Riassunto .....	7
Abstract .....	9
Introduzione .....	11
Caratteristiche qualitative dell'acqua .....	11
Filtrazione biologica .....	14
Aspetti produttivi, qualitativi e ambientali dell'acquaponica .....	18
I minerali .....	33
Selenio .....	35
Zinco .....	36
Iodio .....	37
Obiettivi .....	39
Materiali e Metodi .....	41
Ambiente di coltivazione .....	41
Disegno sperimentale .....	43
Cicli colturali di lattuga .....	44
Gestione e monitoraggio dei pesci .....	47
Rilievi sperimentali <i>in vivo</i> .....	50
Monitoraggio dei pesci e indici di accrescimento .....	53
Qualità della carcassa e dei filetti .....	54
Biometrie e indici morfometrici .....	55
Eviscerazione e pesatura degli organi interni e della carcassa eviscerata .....	55
Separazione dei filetti della carcassa .....	56
Determinazione del colore e del pH del filetto .....	57
Liofilizzazione del filetto e determinazione delle caratteristiche chimiche .....	57
Analisi statistica .....	58
Risultati e Discussione .....	59
Qualità dell'acqua .....	59
Prestazioni produttive dei pesci .....	65
Risultati di macellazione e qualità della carne dei pesci .....	68
Produzione e resa delle lattughe .....	73
Conclusioni .....	75
Bibliografia .....	77



## Riassunto

L'acquaponica è una tecnologia che mira a integrare metodi capaci di offrire vantaggi tecnici, biologici, chimici, ambientali ed economici nei settori dell'acquacoltura a ricircolo e dell'idroponica. La logica dei sistemi integrati consente di ottimizzare le risorse condivise tra acquacoltura e produzione vegetale, come acqua e nutrienti, promuovendo pratiche di produzione primaria più sostenibili sia dal punto di vista ambientale che economico. Il presente studio si è concentrato sulla valutazione degli effetti dell'integrazione alimentare con un pre-mix minerale contenente ferro, iodio, manganese, selenio e zinco, sulle prestazioni produttive e sulla qualità dei pesci persico trota (*Micropterus salmoides*) allevati in un sistema acquaponico accoppiato per la produzione integrata di pesci e lattuga.

La sperimentazione è stata condotta presso la serra dell'azienda agricola sperimentale "Lucio Toniolo" dell'Università degli Studi di Padova e si è protratta per 170 giorni, durante i quali sono stati realizzati quattro cicli colturali di lattuga (due di lattuga gentile e due di lattuga canasta). L'impianto sperimentale comprendeva nove sistemi acquaponici indipendenti. Il disegno sperimentale prevedeva un unico fattore (l'integrazione del mangime con il pre-mix di microelementi) testato a tre livelli: M1 = 0,7% di pre-mix minerale; M2 = 1,4% di pre-mix minerale; M3 = 2,1% di pre-mix minerale. Ogni livello è stato replicato tre volte. I pesci sono stati monitorati quotidianamente e alimentati due volte al giorno, mentre la qualità dell'acqua e lo stato di salute dei pesci sono stati controllati regolarmente. Peso e dati biometrici dei pesci sono stati registrati mensilmente. Alla fine della prova, i pesci sono stati macellati per valutare i parametri di resa alla macellazione e la qualità del prodotto finale.

L'integrazione della dieta con dosi crescenti di pre-mix minerale non ha influenzato significativamente le prestazioni produttive dei pesci né la qualità dei filetti, ad eccezione del contenuto di selenio e iodio, che hanno mostrato un accumulo progressivo correlato all'aumento della concentrazione del pre-mix nella dieta. Per quanto riguarda le lattughe, differenze significative nella resa della parte edibile sono state osservate solo negli ultimi due cicli colturali, con prestazioni migliori registrate nel gruppo M2 rispetto ai gruppi M1 e M3.

In conclusione, l'aumento del livello di pre-mix minerale nella dieta dei persici trota, dal 0,7% al 2,1%, non ha avuto impatti rilevanti sulla salute o sulle prestazioni dei pesci, e ha prodotto solo variazioni marginali nella resa delle lattughe. Tuttavia, il contenuto di selenio e iodio nei filetti è aumentato proporzionalmente, favorendo la biofortificazione del prodotto finale.





## Abstract

Aquaponics is a technology that aims to integrate methods capable of providing technical, biological, chemical, environmental, and economic benefits to the fields of recirculating aquaculture and hydroponics. The logic of integrated systems allows for the optimization of shared resources, such as water and nutrients, between aquaculture and plant production, promoting more sustainable primary production practices from both an environmental and economic perspective. This study focused on evaluating the effects of dietary supplementation with a mineral pre-mix containing iron, iodine, manganese, selenium, and zinc on the productive performance and quality of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) reared in a coupled aquaponic system for the integrated production of fish and lettuce.

The experimental trial was conducted in the greenhouse of the "Lucio Toniolo" experimental farm at the University of Padua and lasted 170 days, during which four lettuce crop cycles were carried out (two with butterhead lettuce and two with oakleaf lettuce). The experimental setup consisted of nine independent aquaponic systems. The experimental design included a single factor (feed supplementation with the mineral pre-mix) tested at three levels: M1 = 0,7% mineral pre-mix; M2 = 1,4% mineral pre-mix; M3 = 2,1% mineral pre-mix. Each level was replicated three times. The fish were monitored daily and fed twice a day, while water quality and fish health were regularly checked. The weight and biometric data of the fish were recorded monthly. At the end of the trial, the fish were slaughtered to evaluate yield parameters and the quality of the final product.

Dietary supplementation with increasing doses of the mineral pre-mix did not significantly affect fish performance or fillet quality, except for selenium and iodine contents, which showed a progressive accumulation correlated with the increasing concentration of the pre-mix in the diet. Regarding the lettuce, significant differences in the yield of the edible part were observed only in the last two crop cycles, with better performance recorded in the M2 group compared to M1 and M3.

In conclusion, increasing the level of mineral pre-mix in the diet of largemouth bass, from 0,7% to 2,1%, had no significant impact on fish health or performance and produced only marginal variations in lettuce yield. However, the selenium and iodine contents in the fillets increased proportionally, promoting biofortification of the final product.



# Introduzione

## Caratteristiche qualitative dell'acqua

L'acqua ha un'influenza sostanziale nei sistemi acquaponici in quanto è condivisa tra i due componenti principali, ovvero pesci e piante, ed è il principale trasportatore delle risorse nutritive. La fonte, le proprietà chimiche, fisiche e biologiche dell'acqua condizionano il funzionamento dei sistemi acquaponici.

È importante sterilizzare e trattare l'acqua (ad esempio osmosi inversa, distillazione, ecc.) prima di utilizzarla, in questo modo tutti i prodotti chimici, sali, nutrienti indesiderati, pesticidi, erbicidi, ecc. vengono eliminati, senza quindi inquinare il sistema acquaponico.

La qualità dell'acqua può essere suddivisa in (Xiccato , 2023):

- fisica (temperatura, densità, viscosità, ecc.);
- chimica (salinità, ossigeno disciolto, pH,  $NH_3$ , ecc.);
- torbidità (solidi sospesi);
- igienico-sanitaria (carica batterica, alghe velenose, sostanze tossiche, ecc.).

Le proprietà fisiche dell'acqua sono le seguenti (Xiccato , 2023):

- temperatura, ovvero il contenuto di energia termica (grado di vibrazione delle molecole dell'acqua):
  - temperatura minima vitale, al di sotto di essa i pesci muoiono;
  - temperatura minima alimentare, al di sotto della quale i pesci non mangiano;
  - temperatura ottimale, ovvero il range in cui i pesci mangiano, si riproducono e crescono;
  - temperatura massima alimentare, oltre la quale i pesci non mangiano;
  - temperatura massima vitale, oltre la quale i pesci muoiono;
- calore specifico, ovvero la quantità di energia che si deve fornire all'unità di massa per elevarne la temperatura di  $1^\circ C = 1 \text{ cal/g}$ ;
- tensione superficiale, ovvero la forza di coesione delle molecole di  $H_2O$  in superficie;
- densità, data dal rapporto fra massa e volume di una sostanza. La densità dell'acqua è per definizione pari a  $1 \text{ kg/dm}^3$ , anche se in realtà varia in funzione dello stato (liquido o solido), temperatura, salinità e pressione (al variare della profondità);
- viscosità, ovvero la resistenza che una sostanza oppone al movimento di un altro corpo o sostanza che si muova al suo interno;

- trasparenza, ovvero la profondità massima alla quale un disco bianco o nero o bianco/nero del diametro di 20 cm (disco Secchi) immerso nell'acqua rimane visibile all'occhio umana dalla superficie.

La torbidità (mancanza di trasparenza) dell'acqua deriva prevalentemente da organismi e sostanze in sospensione definiti "seston", il quale è composto da (Xiccato , 2023):

- plancton, ovvero organismi viventi nella colonna d'acqua;
- tripton, ovvero la parte non vivente, il particolato, che si divide a sua volta in POM (*particulate organic matter*) e PIM (*particulate inorganic matter*).

I solidi sospesi possono avere i seguenti effetti negativi sull'allevamento dei pesci (Xiccato , 2023):

- ostruzione delle branchie e riduzione della respirazione;
- riduzione del passaggio di luce e quindi anche della fotosintesi del fitoplancton;
- degradazione della sostanza organica (SO) con conseguente consumo di ossigeno (anossia e produzione di composti tossici);
- sedimentazione, con conseguenti danni agli organismi che vivono sul fondo.

Le caratteristiche chimiche dell'acqua si suddividono in (Xiccato , 2023):

- salinità, definita come la quantità totale di sostanze minerali disciolte contenute in un litro di acqua (essenzialmente macroelementi). In base alla salinità, le acque si possono classificare in:
  - iperaline (> 35‰);
  - aline (35‰);
  - mesoaline (35 – 20‰);
  - ipoaline (< 20‰), a loro volta suddivise in:
    - ❖ salmastre (2-20‰)
    - ❖ dolci (< 2‰);
- ossigeno disciolto (OD), è l'ossigeno gassoso (O<sub>2</sub>) solubilizzato nell'acqua e si misura in mg/L o ppm tramite ossimetro portatile. Nell'acqua ricca di organismi viventi e sostanza organica (SO) in decomposizione, l'OD dipende anche dal bilancio fotosintesi-respirazione, a sua volta condizionato da:
  - illuminazione, che favorisce la fotosintesi;
  - concentrazione di nutrienti (N, K, P), che favoriscono lo sviluppo di fitoplancton;
  - concentrazione di SO, che favorisce l'ossidazione;

- quantità di organismi vegetali, con processi di fotosintesi e di respirazione;
- quantità di organismi animali, con processi di respirazione.

Il consumo di ossigeno (mg/ora/kg pesce) per unità di peso aumenta con l'aumentare della temperatura poiché aumenta il metabolismo, e diminuisce con l'aumentare della taglia, in quanto i pesci più piccoli hanno un metabolismo più attivo. È molto importante dimensionare gli impianti di ossigenazione in funzione del carico (biomassa) massimo a fine ciclo;

- saturazione OD (%), data dal rapporto % tra OD realmente presente (OD misurato) e OD corretto. Esprime quanto OD c'è rispetto alla concentrazione massima ad una data salinità e pressione.

I valori ottimali dell'OD saturazione sono pari o superiori all'80 - 85%:

- se < 80%, si dovrà aggiungere ossigeno;
- se ≥ 85% non serve aggiungere ossigeno perché il gas è prossimo alla saturazione e fatica a solubilizzarsi ulteriormente, al contrario viene perso in atmosfera.

OD corretto = concentrazione di OD in condizione di saturazione, ma a salinità e pressione diverse da quelle standard;

OD standard = concentrazione di ossigeno disciolto in acqua distillata (salinità 0‰) e a pressione atmosferica di 760 mm Hg (a 0 m s.l.m.) in condizione di saturazione, ovvero tanto ossigeno si solubilizza nell'acqua e tanto si libera nell'aria.

L'acqua è composta da (Xiccato, 2023):

- gas, come per esempio  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $CH_4$ , e la loro concentrazione dipende dalla pressione parziale dell'aria;
- minerali (Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Al, Zn, Co, Mo, C, P, N, S, Cl, F, I, B, Si, ecc.), presenti allo stato ionico o legati in complessi e molecole organiche e inorganiche;
- sostanze organiche solubili, ovvero zuccheri, acidi grassi, acidi urici, tannini, vitamine, aminoacidi, peptidi, proteine, pigmenti, urea, ecc.;
- sostanze sospese inorganiche (sospensioni colloidali o libere di particelle di sedimenti, limo, argilla, sabbia) e organiche (sospensioni colloidali o disperse, organismi in decomposizione, elementi vivi del plancton, funghi e batteri).

I costituenti minerali dell'acqua (che determinano la salinità dell'acqua), a loro volta si possono raggruppare in tre categorie (Xiccato, 2023):

- costituenti principali, i macroelementi, ovvero gli ioni  $Cl^-$ ,  $SO_4^{--}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Br^-$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $H_2BO_3^-$ ;

- costituenti intermedi, gli oligoelementi (P, N, Si, F, Al, Li, Zn, I), con limitato contributo alla salinità, ma importanti per la biologia delle acque;
- microelementi (Fe, Cu, Co, Cr, Se, Ni, ecc.), presenti in bassissima concentrazione, ma essenziali ai processi biologici.

La concentrazione delle diverse sostanze disciolte nell'acqua è espressa come di seguito elencato (Xiccato , 2023):

- g/L (‰), per quanto riguarda i macroelementi;
- mg/L (ppm), nel caso di oligoelementi;
- µg/L (ppb), nei microelementi.

Oltre a controllare l'ossigeno disciolto, i livelli di anidride carbonica e il pH nei sistemi di acquaponica accoppiati è importante verificare e mantenere entro soglie accettabili l'accumulo delle particelle sospese fini, in quanto possono aderire alle branchie, causare abrasione, difficoltà respiratorie e aumentare la suscettibilità alle malattie (Yildiz, et al., 2017).

## Filtrazione biologica

La filtrazione biologica è il processo in cui i batteri benefici eliminano la SO (sostanza organica) e ossidano l'ammoniaca ( $NH_3$ ) a ione nitrito ( $NO_2^-$ ) e ione nitrato ( $NO_3^-$ ) (Xiccato , 2023).

È influenzata dal substrato del filtro, pH, temperatura, ossigeno disciolto (OD) e dalla presenza di sostanze tossiche (antibiotici).

I batteri hanno bisogno di un substrato su cui aderire per potersi sviluppare e svolgere determinate attività. Possono essere utilizzati sabbia, argilla espansa, conchiglie, profilati e lamelle plastiche, ecc.

I diversi tipi di substrato sono caratterizzati da un diverso rapporto superficie/volume ( $m^2/m^3$ ), che condizionano il volume, l'efficienza e il costo dell'impianto (Xiccato , 2023).

La superficie totale del filtro biologico si calcola in base al diametro delle particelle a cui aderiscono le colonie batteriche. In questo progetto sono stati utilizzati supporti plastici (lamelle) con superficie ideale pari a 1000 - 2000  $m^2/m^3$  (Figura 1), oppure in alternativa possono essere utilizzati (Xiccato , 2023):

- supporti naturali (conchiglie), con superficie ideale simile;
- argilla espansa  $\emptyset$  10 mm = 400  $m^2/m^3$ , per cui è necessario un volume 10 volte superiore;
- sabbia  $\emptyset$  1 mm = 4000  $m^2/m^3$ , ma essendo un materiale troppo fine, si intasa e richiede frequenti pulizie.

Per quanto riguarda la fase di avvio, è essenziale alimentare il filtro con concimi azotati minerali (es. nitrato di ammonio) in assenza dei pesci, e sono necessari due mesi per completare il processo di attivazione partendo da materiale nuovo o sterilizzato. Possono essere utilizzati inoculi specifici, oppure l'attivazione può avvenire anche naturalmente (Xiccato , 2023).

Le condizioni operative e la manutenzione del filtro sono descritte di seguito (Xiccato , 2023):

- la pulizia del filtro biologico è necessaria per evitare l'ostruzione degli spazi e l'arresto del flusso d'acqua. Deve essere svolta per settori e a rotazione all'interno dell'impianto, in modo tale da prevenire l'arresto dell'attività biologica. Indicativamente ogni 2 - 3 mesi si pulisce una percentuale compresa tra il 10% e il 20%;
- è vietato l'uso di antibiotici e disinfettanti;
- il pH deve essere mantenuto tra 7 e 9, in quanto la nitrosazione diminuisce il pH ed è quindi necessario aggiungere carbonato di calcio ( $CaCO_3$ );
- l'ossigeno disciolto (OD) deve essere mantenuto prossimo alla saturazione, in quanto i batteri "*Nitrosomonas*" sono influenzati dalla presenza di ossigeno;
- la temperatura può variare da 14 - 15°C (minima) a 25°C (ottimale).

I processi coinvolti nella filtrazione biologica sono i seguenti (Xiccato , 2023):

- mineralizzazione della sostanza organica (SO) a  $CO_2$  e  $H_2O$ ;
- nitrificazione, e ossidazione biochimica di  $NH_3$ .

La mineralizzazione è un processo di biodegradazione completa della SO, ovvero la conversione di carbonio (C), azoto (N), fosforo (P), zolfo (S) organico ad opera di microrganismi in composti inorganici semplici (anidride carbonica, acqua, solfati, ecc.), ed è influenzata da fattori quali temperatura, umidità, pH, ecc.

La nitrificazione è un processo di ossidazione biologica che si sviluppa in due fasi per mezzo delle quali le escrezioni dei pesci, ovvero ammoniaca ( $NH_3$ ) o ione ammonio ( $NH_4^+$ ), vengono trasformate prima in ione nitrito ( $NO_2^-$ ) e successivamente in ione nitrato ( $NO_3^-$ ), da specifici batteri autotrofi chemiosintetici aerobi. Un aspetto molto importante da considerare in questo processo ossidativo è l'elevato consumo di ossigeno disciolto (Shoda & Ishikawa, 2014; Carsiotis & Khanna , 1989; Madigan, Martinko, & Brock, 2007).

I batteri ossidanti l'ammoniaca (AOB), ovvero *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* sono coinvolti nel primo passaggio di questa trasformazione, mentre i batteri nitrito-ossidanti (NOB) come *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* e *Nitrospina* svolgono il

secondo passaggio (Rurangwa & Verdegem, 2015; Ebeling & Timmons, 2013; Wongkiew, Hu, Chandran, Lee, & Khanal, 2017).

L'ammoniaca nell'acqua è presente in due forme:

- non ionizzata ( $NH_3$ ), la quale è altamente tossica per i pesci;
- ionizzata ( $NH_4^+$ ), la quale ha una minore tossicità per i pesci rispetto alla forma precedentemente citata.

L'ammoniaca si accumula nell'acqua di allevamento come prodotto del metabolismo proteico del pesce, e può raggiungere concentrazioni tossiche se non trattata. L'ammoniaca viene quindi ossidata nei biofiltri dai batteri nitrificanti che includono specie dei generi *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrobacter* e *Nitrococcus*, i quali ottengono la loro energia dall'ossidazione di composti azotati inorganici (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Ammoniaca e ione nitrito sono molto tossici per i pesci, infatti:

- livelli tra 0,02 – 0,07 mg/L di azoto ammoniacale provocano danni nei pesci di acqua calda;
- 1 mg/L è il limite entro cui dovrebbe essere mantenuto lo ione nitrito (Losordo, Masser, & Rakocy, 1998; Timmons & Ebeling, 2013);
- l'ammoniaca colpisce il sistema nervoso centrale dei pesci (Randall & Tsui, 2002; Timmons & Ebeling, 2013);
- lo ione nitrito influenza negativamente la fissazione dell'ossigeno (Losordo, Masser, & Rakocy, 1998);
- lo ione nitrato è tollerato dai pesci fino a 150 – 300 mg/L (Goddek, et al., 2015; Graber & Junge, 2009; Yildiz, et al., 2017).

La nitrificazione avviene principalmente nei biofiltri (Losordo, Masser, & Rakocy, 1998; Timmons & Ebeling, 2013). La fase di avviamento di un sistema acquaponico deve avvenire in assenza di pesci in modo tale da permettere alla popolazione di batteri nitrificanti in lenta crescita di svilupparsi (Timmons & Ebeling, 2013; Wongkiew, Hu, Chandran, Lee, & Khanal, 2017). È inoltre essenziale evitare la presenza di materia organica nei biofiltri per impedire lo sviluppo di batteri eterotrofi altamente competitivi (Timmons & Ebeling, 2013).

Il consumo di ossigeno è legato stechiometricamente alla quantità di  $NH_3$  ossidata, a cui si aggiunge circa il 20% di perdite gassose dell'impianto (Xiccato, 2023):

- nitrosazione: 1 mole di  $NH_3$  reagisce con  $3/2$  moli di  $O_2$  e produce una mole di nitrito ( $NO_2^-$ )  $\rightarrow 17$  g  $NH_3$  sono ossidati da 48 ( $16*3$ ) g di  $O_2 \rightarrow 2,82$  kg  $O_2$  / kg  $NH_3$ ;



- nitrificazione: 1 mole di  $NO_2^-$  reagisce con  $\frac{1}{2}$  mole di  $O_2$  e produce una mole di nitrato ( $NO_3^-$ )  $\rightarrow 16 \text{ g di } O_2 \rightarrow 0,94 \text{ kg } O_2 / \text{kg } NH_3$ ;
- totale stechiometrico =  $2,82 + 0,94 = 3,76 \text{ kg } O_2 / \text{kg } NH_3$ ;
- consumo totale di ossigeno =  $3,76 + 20\%$  (perdite) =  $3,76 + 0,752 = 4,51 \text{ kg } O_2 / \text{kg } NH_3$ .

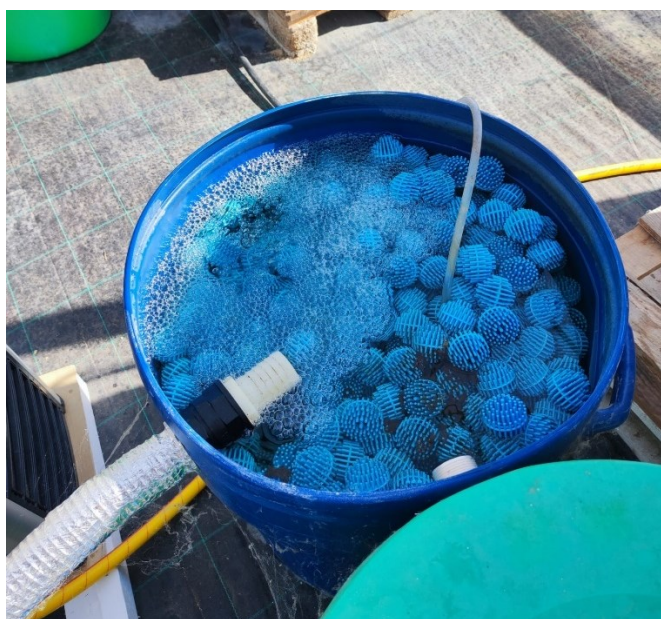
La capacità del filtro biologico si misura in g di  $NH_3$ /g per  $m^2$  di superficie e dipende in grande misura dalla temperatura e dalla salinità dell'acqua. L'acqua salata, infatti, riduce la capacità del filtro e la superficie deve essere aumentata del 30%.

In particolare, 1  $m^2$  di filtro biologico è capace di filtrare (Xiccato , 2023):

- 0,1 - 0,2 g  $NH_3$ /d (giorno) a 14 - 15°C;
- 0,5 g  $NH_3$ /d a 20°C;
- 1,0 g  $NH_3$ /d a 25°C (in condizioni ottimali).

È chiaro quindi che la capacità del filtro è direttamente proporzionale alla temperatura, ma allo stesso tempo anche all'attività metabolica, al consumo di mangime e all'escrezione di  $NH_3$ . Per cui nella pratica il filtro deve essere dimensionato in base all'escrezione di  $NH_3$  (legato al consumo di mangime) (Xiccato , 2023):

- 100  $m^2$ /kg mangime (acque dolci);
- 150  $m^2$ /kg mangime (acque salate);
- a questi valori deve essere aggiunto un 20% considerando la manutenzione periodica (pulizia) ed eventuali malfunzionamenti.



**Figura 1** – Esempio di biofiltro utilizzato in questo progetto.

## Aspetti produttivi, qualitativi e ambientali dell'acquaponica

L'acquaponica è una tecnologia che cerca di combinare tecnologie di coltura di specie animali (acquacoltura) e specie vegetali con l'obiettivo di conservare nutrienti e altre risorse biologiche in un'ottica di maggiore sostenibilità ambientale, ecologica ed economica.

I principi applicati nell'acquaponica, infatti, sono i seguenti:

- uso efficiente dell'acqua;
- uso efficiente dei nutrienti;
- ridotto o azzerato impatto ambientale;
- applicazione di approcci biologici ed ecologici alla produzione agricola di pesci e piante.

Le piante consumano acqua tramite traspirazione e la rilasciano nell'ambiente gassoso circostante, mentre i pesci producono una grande quantità di reflui a causa dei rifiuti metabolici accumulati (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

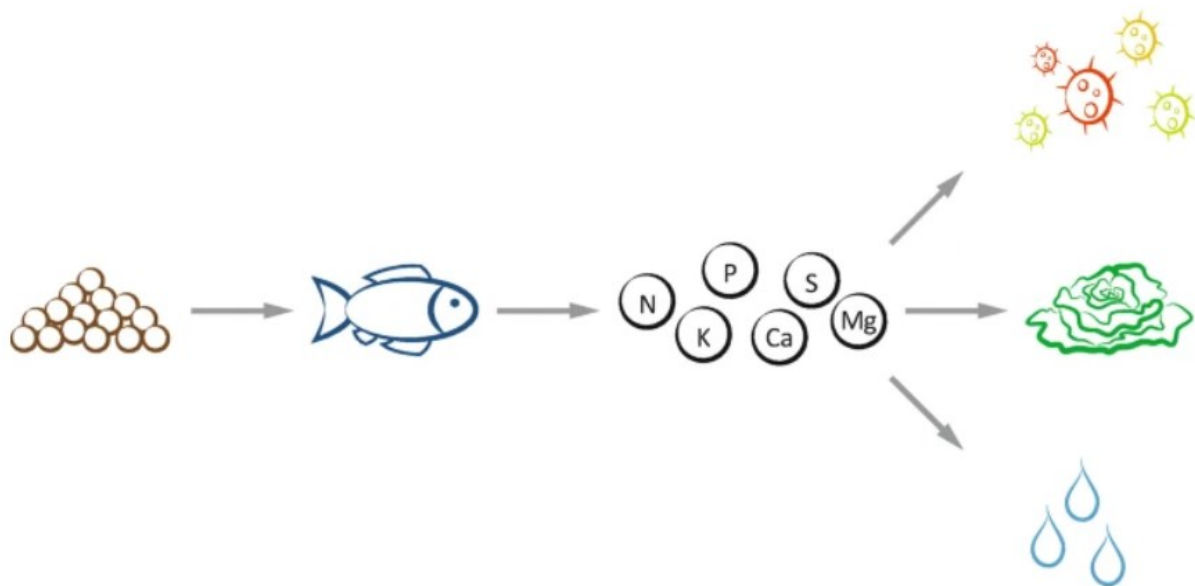
I vantaggi prodotti dall'integrazione dell'acquacoltura con i sistemi convenzionali di produzione di piante terrestri e acquatiche sono stati riassunti da Gooley e Gavine (2003):

- aumento della produttività e della redditività delle aziende agricole senza alcun aumento netto del consumo di acqua;
- diversificazione delle aziende agricole verso prodotti di maggior valore;
- riutilizzo di risorse agricole altrimenti sprecate, come nutrienti e acqua;
- riduzione degli impatti ambientali netti delle pratiche agricole semi-intensive e intensive;
- benefici economici netti compensando il capitale agricolo esistente e le spese operative.

I pesci consumano il mangime e utilizzano i nutrienti di cui hanno bisogno, rilasciando la quota non assimilata come rifiuto nel sistema acquaponico che verrà sfruttato da batteri, piante e acqua (Figura 2).

La maggior parte del mangime aggiunto al sistema viene mangiato dai pesci e utilizzato per la crescita e il metabolismo, oppure viene escreto come feci solubili e solide che verranno sfruttate da batteri e organismi vegetali (Figura 2). Insieme ai prodotti metabolici vengono parzialmente disciolti in acqua e contribuiscono all'aumento dei nutrienti presenti nell'acqua:

- aspetto positivo → le piante possono assorbire i nutrienti direttamente dalla soluzione;
- aspetto negativo → l'ossigeno disciolto viene consumato e viene rilasciata anidride carbonica e ammoniaca.



**Figura 2** – Rappresentazione schematica dei flussi di nutrienti all'interno di un sistema acquaponico.

I fattori che influenzano l'assorbimento dei nutrienti di una pianta sono i seguenti:

- intensità della luce;
- temperatura della zona radicale;
- temperatura dell'aria;
- disponibilità di nutrienti;
- stadio di crescita e tasso di crescita.

Per assicurarsi che il sistema acquaponico sia bilanciato e funzioni correttamente, i metodi di monitoraggio si basano generalmente sul ciclo dell'azoto. Per garantirne il migliore funzionamento, è fondamentale controllare l'equilibrio anche degli altri macronutrienti (N, P, K, Ca, Mg, S) e micronutrienti (Fe, Zn, B, Mn, Mo, Cu) (Cerozi & Fitzsimmons, 2017; Somerville, Cohen, Pantanella, Stankus, & Lovatelli, 2014; Resh, 2022; Sonneveld & Voogt, 2009).

L'azoto (N) è introdotto nei sistemi acquaponici grazie alle proteine presenti nel mangime per pesci, che dopo essere state metabolizzate, vengono escrete dai pesci sotto forma di ammoniaca.

L'assorbimento di azoto (N) sotto forma di ione nitrato o ione ammonio da parte delle piante è influenzato dalla:

- concentrazione anidride carbonica ambientale;
- presenza di microrganismi nell'acquaponica, pertanto è molto importante considerare le associazioni tra piante e microrganismi;
- concentrazione;

- fisiologia della pianta (Sonneveld & Voogt, 2009; Wongkiew, Hu, Chandran, Lee, & Khanal, 2017; Xu, Fan, & Miller, 2012).

Il secondo macronutriente essenziale dopo l'azoto per la crescita delle piante coltivate in acquaponica è il fosforo (P), acquisito dai pesci principalmente tramite il mangime. La solubilità del fosforo dipende dal pH, ovvero un pH maggiore favorisce la precipitazione del fosforo, rendendolo indisponibile per le piante (Yildiz, et al., 2017). L'unica forma biodisponibile per l'assorbimento e l'assimilazione da parte delle piante è l'ortofosfato ionico inorganico ( $H_2PO_4^-$ ), che si lega al calcio quando il pH > 7 (basico). Le varie forme insolubili di fosfato di calcio possono precipitare nei fanghi, così come anche struvite (fosfato di ammonio e magnesio) e/o idrossiapatite, ed essere disperse quando si procede alla rimozione dei reflui. L'eliminazione dei reflui è considerata la principale causa di perdita del fosforo nei sistemi a ricircolo (Le Corre, Valsami-Jones, Hobbs, & Parsons, 2005; Prabhu, Fageria, Berni, & Rodrigues, 2007; Resh, 2022; Yildiz, et al., 2017; Cerozi & Fitzsimmons, 2017; Goddek, et al., 2015).

Il Potassio (K) spesso è carente nei sistemi di coltivazione acquaponica, e può essere aggiunto utilizzando solitamente un tampone pH KOH, in quanto spesso il pH nell'acquaponica diminuisce a causa del processo di nitrificazione, garantendo in questo modo una migliore correlazione con le esigenze delle piante (Goddek, et al., 2015; Schmutz, et al., 2016; Graber & Junge, 2009). Il potassio non è necessario per lo sviluppo dei pesci, infatti, i mangimi commerciali hanno un ridotto contenuto di questo minerale, e quindi la sua disponibilità per le colture vegetali è ancora minore (Graber & Junge, 2009; Seawright, Stickney, & Walker, 1998; Suhl, et al., 2016).

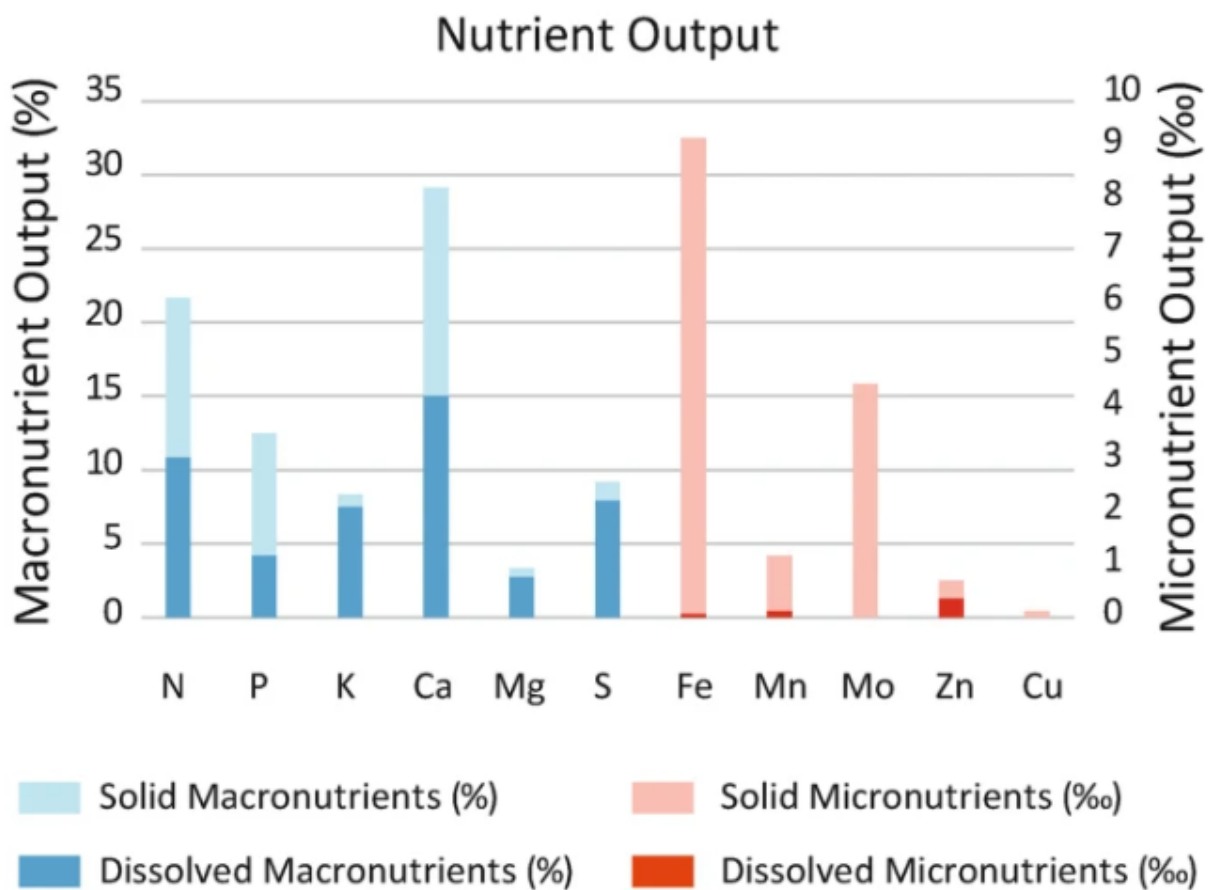
Il carbonio (C) viene assimilato dai pesci attraverso il mangime, e dalle piante tramite il processo di fissazione di  $CO_2$ . I pesci possono sfruttare il 22% del carbonio contenuto nel mangime per aumentare la biomassa e il metabolismo, il 52% viene espirato sotto forma di  $CO_2$ , o escreto in forma disciolta (0,7 – 3%) e solida (25%). La rimanente parte di carbonio non consumato del mangime viene lasciata decomporsi nel sistema (Timmons & Ebeling, 2013; Korner, Gutzmann, & Kledal, 2017).

Per quanto riguarda i micronutrienti invece, sono solitamente presenti nei sistemi acquaponici a livelli troppo bassi, pertanto, è necessaria la loro integrazione (Delaide, et al., 2017).

Le carenze di ferro (Fe) in acquaponica derivano principalmente dall'indisponibilità della forma di ione ferrico, e possono essere risolte mediante l'integrazione di ferro chelato chimicamente per evitarne la precipitazione (Schmutz, Graber, Mathis, Griessler, & Junge, 2015; Seawright, Stickney, & Walker, 1998). Queste tipologie di integrazioni, come descritto al paragrafo "disegno sperimentale", sono state adottate anche in questo lavoro di tesi.

La fonte principale di magnesio (Mg), calcio (Ca) e zolfo (S) è l'acqua di rubinetto in cui sono già disponibili, e questo ne facilita l'assorbimento da parte delle piante (Delaide, et al., 2017). Tuttavia, il calcio (Ca) presente in acquaponica è insufficiente e viene integrato sotto forma di idrossido di calcio  $[Ca(OH)_2]$  (Timmons & Ebeling, 2013; Schmutz, Graber, Mathis, Griessler, & Junge, 2015; Seawright, Stickney, & Walker, 1998).

Ad eccezione del fosforo (P), oltre il 50% dei nutrienti distribuiti ai pesci non vengono trattenuti e sono potenzialmente disponibili per le piante, in particolare i macronutrienti (N, P, K) si accumulano nell'acqua di processo e nella frazione solida, mentre i micronutrienti, come il ferro (Fe), scompaiono nella frazione solida separata dal chiarificatore (Figura 3) (Strauch, et al., 2018).



**Figura 3** – Distribuzione di macro e micronutrienti all'interno dell'acqua di processo e dei solidi negli studi di Strauch et al. (2018).

La quantità di mangime fornita ai sistemi di acquaponica deve essere nota, in modo tale da riuscire a quantificare i nutrienti da integrare, e favorire un ottimo sviluppo delle piante.

Un aspetto molto importante nella gestione dei sistemi acquaponici è la disponibilità di ossigeno, che è fondamentale per mantenere elevata la concentrazione di nitrato disponibile per l'impianto nell'acqua di processo. Maggiore è la densità di allevamento e minore sarà il contenuto di ossigeno nel sistema, e quindi anche di ione nitrato disponibile per kg di mangime. L'ossigeno può essere mantenuto a livelli più elevati, anche se ciò richiede investimenti aggiuntivi per il monitoraggio e il controllo, con notevoli vantaggi finali, in quanto la disponibilità di ossigeno e l'eventuale aerazione dell'acqua delle piante permettono di (Comeau, 2008):

- ottimizzare la qualità dell'acqua per un miglior sviluppo delle piante;
- ridurre il metabolismo microbico anossico, ovvero processi che comportano importanti riduzioni delle concentrazioni dei nutrienti, come per esempio di nitrati e/o solfati;
- consentire ai batteri eterotrofi di convertire i nutrienti organici legati alla fase disciolta, ad esempio l'azoto proteico in ammoniaca;
- consentire ai batteri nitrificanti di trasformare l'ammoniaca in nitrato.

Organismi vegetali e pesci seguono i ritmi circadiani nella maggior parte delle loro funzioni vegetative e fisiologiche, tra cui l'alimentazione e l'assorbimento dei nutrienti. Inoltre, è noto che i pesci mostrano modelli giornalieri di deaminazione di proteine e rifiuti azotati in correlazione al loro stato nutrizionale e ai ritmi di alimentazione (Kaushik & Blanc, 1980).

Gli studi in acquaponica dimostrano l'esigenza di abbinare i ritmi di assorbimento dei nutrienti da parte delle piante con i ritmi di escrezione dei reflui dei pesci, in modo tale da ottimizzare le prestazioni e l'economicità dei sistemi, le diete dei pesci e i programmi di alimentazione, che dovranno essere concepiti per soddisfare le esigenze nutrizionali sia dei pesci che delle piante.

La classificazione degli attuali sistemi di produzione acquaponica dipende dalla tipologia di tecnologia utilizzata nella coltivazione vegetale e dall'integrazione che può essere accoppiata in un singolo ciclo tra le piante e i pesci, oppure disaccoppiata in cicli separati. Le tecnologie comunemente usate nella produzione vegetale sono:

- Deep Water Culture (DWC), in cui le piante vengono coltivate su zattere galleggianti, solitamente di polistirolo, in lunghe vasche di larghezza variabile con funzione tampone, riproducendo di fatto un grande biofiltro e normalizzando le variazioni di temperatura e pH;
- Nutrient Fluid Technology (NFT), in cui le piante vengono coltivate in tubi idroponici di plastica con un sottile strato di acqua nutriente, utilizzata in questo progetto di tesi (Figura 4);



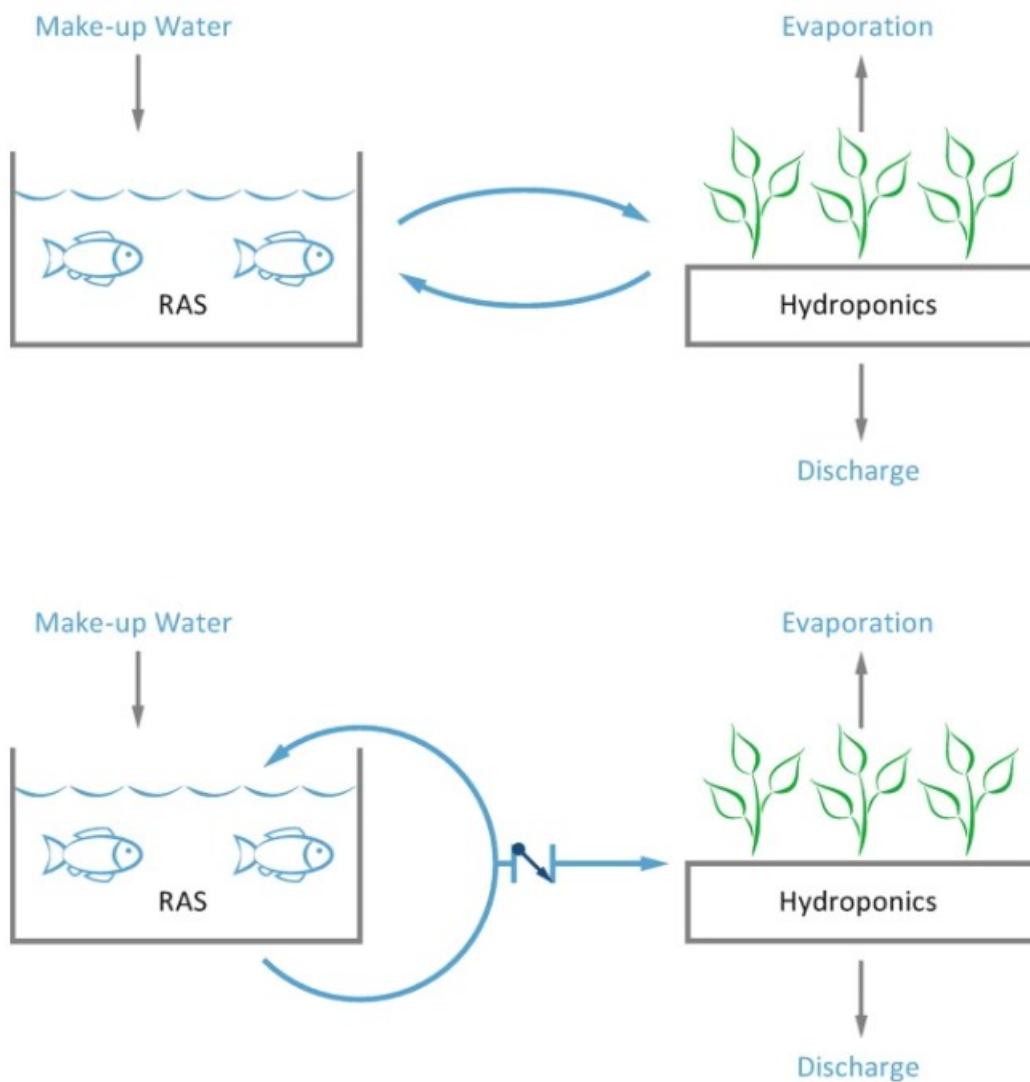
- Flood and Ebb, in cui le piante sono coltivate in vasi collocati su tavoli che sono spesso mobili, e nutrite due o tre volte al giorno. In questo sistema di coltivazione è presente una maggiore flessibilità nella scelta delle piante e delle dimensioni dei vasi.



**Figura 4** – Rappresentazione della tecnologia NFT utilizzata nella presente tesi sperimentale.

I sistemi acquaponici si possono suddividere in due categorie come si evidenzia nei due schemi sottostanti (Figura 5):

- sistemi accoppiati;
- sistemi disaccoppiati.



**Figura 5** – Rappresentazione schematica delle due categorie di sistemi acquaponici, sopra il sistema accoppiato, sotto quello disaccoppiato (Peterhans, 2015).

In questa tesi è stato utilizzato il sistema acquaponico accoppiato basato sul ricircolo (Figura 6), in cui la fonte principale di nutrienti per le piante è il mangime per pesci. Eventuali nutrienti mancanti richiesti dalle piante possono essere aggiunti tramite una qualche forma di regime tampone, o direttamente nell'acqua di coltura sottoforma di nutrienti chelati o spray fogliari (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Nei sistemi di acquaponica accoppiata vengono combinate tre classi di organismi:

- organismi acquatici;
- batteri;
- piante.

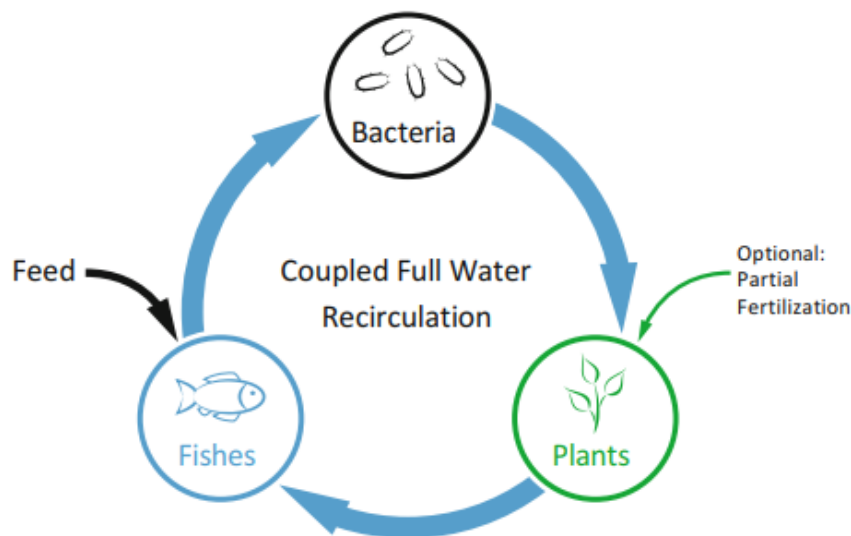


L'acqua è il mezzo di trasporto dei reflui disciolti dei pesci, che verranno successivamente trasformati in nutrienti dai batteri, e saranno utili per la crescita delle piante coltivate.

La funzione dei batteri (ad esempio *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, ecc.) è quella di ossidare l'ammonio prima in ione nitrito e poi in ione nitrato.

In un sistema acquaponico accoppiato sono di fondamentale importanza:

- lo spazio per le unità vegetali e la quantità di piante da coltivare;
- il substrato di crescita batterica;
- i componenti biologici-chimici dell'acqua.

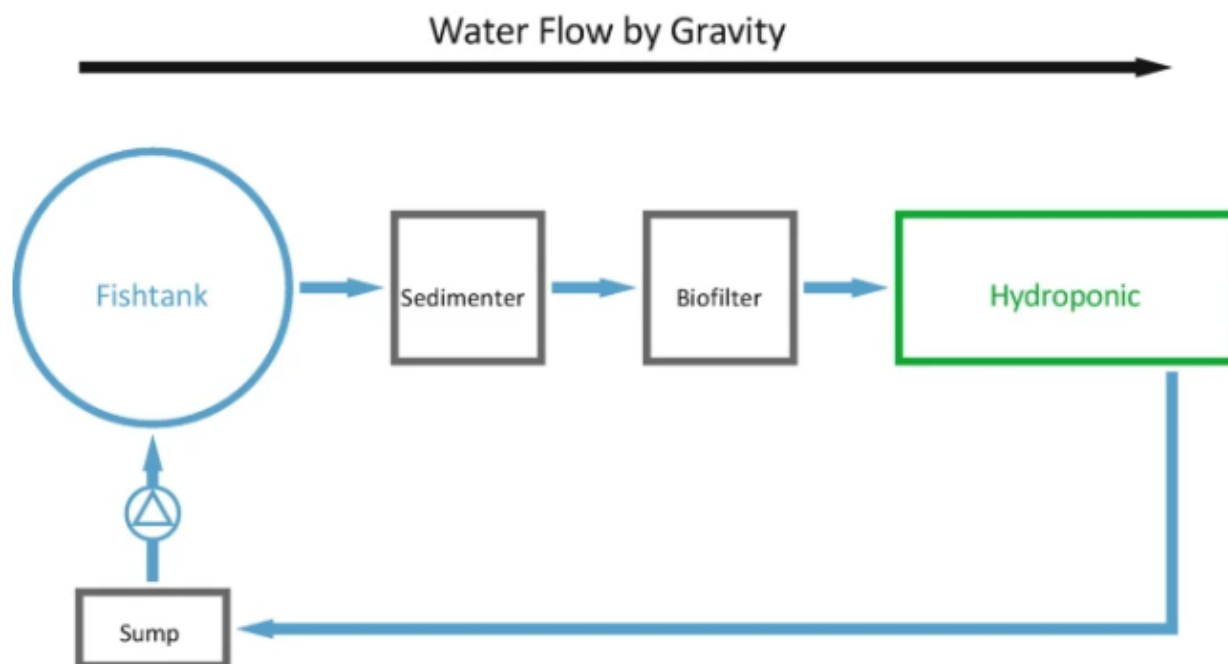


**Figura 6** – Principio del sistema acquaponico accoppiato a ricircolo con pesci, batteri e piante (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Il sistema acquaponico accoppiato (Figura 7) si compone generalmente da:

- una o più vasche di pesci;
- unità di sedimentazione o chiarificatore;
- biofiltri o substrati per la crescita di batteri;
- unità idroponica per la crescita delle piante.

Queste componenti sono collegate tra loro da tubi in modo tale da formare un ciclo chiuso. Generalmente dopo la filtrazione meccanica e il processo di filtrazione biologica attuato dai batteri, l'acqua viene pompata nuovamente alle vasche dei pesci, da dove scorre per gravità verso l'unità idroponica (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).



**Figura 7** – Schema base di un sistema acquaponico accoppiato con vasca per pesci, sedimentatore, biofiltro, unità idroponica e una vasca di raccolta in cui l’acqua viene pompata o trasportata per via aerea alle vasche per pesci e scorre per gravità lungo i vari componenti (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

I dispositivi comunemente utilizzati per la rimozione dei rifiuti solidi nell’acquaponica accoppiata sono definiti chiarificatori, o sedimentatori o separatori a vortice. La maggioranza dei sistemi utilizza inserti lamellari o a piastre per semplificare l’allontanamento dei solidi, in quanto le particelle più grandi devono essere eliminate dal sistema in modo tale da evitare zone anossiche con effetti denitrificanti o lo sviluppo di acido solfidrico ( $H_2S$ ). Durante il funzionamento, le particelle solide precipitano sul fondo del chiarificatore e vanno a formare i fanghi. Di conseguenza l’attività microbica all’interno degli strati di fango si sposta gradualmente verso condizioni anaerobiche, stimolando la denitrificazione microbica. Questo processo risulta controproducente per il sistema e dovrebbe essere evitato, in quanto riduce la presenza di ione nitrato disponibile per le piante (Rakocy, Masser, & Losordo, 2006; Nelson & Pade, 2007; Danaher, Shultz, Rakocy, & Bailey, 2013).

Nei progetti di acquaponica disaccoppiata invece, l’acqua viene utilizzata dai pesci e i nutrienti di scarto vengono forniti alle piante, ma in assenza di ricircolo. Questo sistema consente una maggiore flessibilità nella personalizzazione della qualità dell’acqua, colmando eventuali mancanze nutritive senza la preoccupazione che l’acqua ritorni ai pesci. Nell’acquaponica disaccoppiata, infatti, le produzioni di pesci e di piante sono dotate ognuna del proprio circuito d’acqua, ma sono anche in

collegamento tra di loro tramite un serbatoio di fertilizzante a cui possono attingere le piante in base ai propri fabbisogni. In questo modo si elimina la dipendenza tra la produzione di pesci e di piante, mentre si conservano i benefici simbiotici (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

La difficoltà di trovare un compromesso tra le esigenze ambientali dei diversi “attori” del sistema acquaponico comporta che le principali specie di pesci utilizzate sono poco esigenti ed estremamente adattabili a diverse condizioni di allevamento, come per esempio pescegatto, tilapia e carpa, ma ci sono sperimentazioni anche su pesci ad alto valore commerciale come trota, spigola e orata. Per quanto riguarda invece le principali specie di piante coltivate in acquaponica possiamo citare lattuga (coltivata anche in questo progetto di tesi), basilico, bieta, piante aromatiche, broccoli e pomodoro (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

La produttività nei sistemi acquaponici implica il controllo e la gestione dei parametri ambientali, in modo tale da fornire a ciascun componente microbico, animale e vegetale condizioni di crescita ottimali.

L'omeostasi del sistema, ovvero l'attitudine a conservare le proprie caratteristiche al variare delle condizioni esterne dell'ambiente tramite meccanismi di autoregolazione, implica la regolazione dei parametri operativi per ridurre al minimo le perturbazioni che causano stress all'interno di un'unità o effetti dannosi ad altri componenti. Non ci sarà mai un equilibrio permanente, ma l'obiettivo è di avvicinarsi il più possibile alla stabilità, rispettando i parametri di qualità dell'acqua (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Alcuni dei fattori che influenzano la qualità del pesce allevato in acquaponica sono:

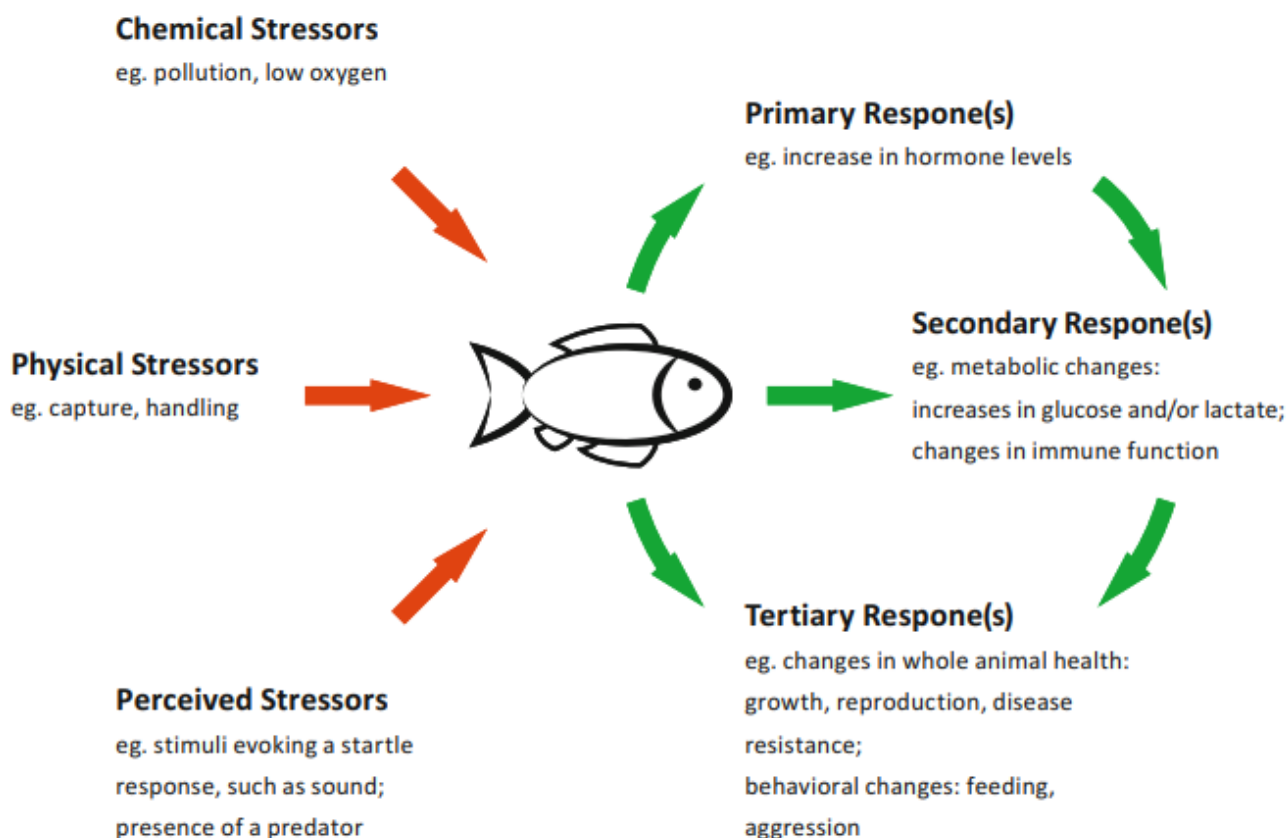
- tecnica e sistema di allevamento;
- densità di allevamento;
- qualità dell'acqua;
- alimentazione;
- tecnica di macellazione, lavorazione e conservazione.

La densità di allevamento, che si esprime in kg di pesce per  $m^3$  d'acqua, è un fattore chiave per bilanciare gli ecosistemi acquaponici, in quanto condiziona la qualità dell'acqua in termini di nutrienti, gas e sottoprodotti di scarto, influenzando così la crescita delle piante e la salute e crescita dei pesci (Birolo, et al., 2020).

Negli ultimi anni il tema del benessere dei pesci è di primaria importanza, tanto che il Farm and Animal Welfare Committee (FAWC) del governo del Regno Unito ha basato le sue linee guida con cui valutare i problemi di benessere sul framework delle “cinque libertà”: libertà dalla fame e dalla sete,

dal disagio, dal dolore, dalle lesioni, dalle malattie, dalla paura e dall'angoscia, così come la libertà di esprimere un comportamento normale. Il FAWC raccomanda quindi di rispettare il concetto di "spazio minimo sufficiente ai pesci per mostrare la maggior parte del comportamento normale con il minimo dolore, stress e paura" (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Le misure di benessere sono ampiamente associate agli effetti terziari (Figura 9) della risposta allo stress, che sono generalmente indicativi di stress prolungato, ripetuto o inevitabile.



**Figura 9** – Gli stress fisici, chimici e altri fattori di stress percepiti possono influenzare i pesci e causare risposte primarie, secondarie e/o dell'intero corpo (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

Nei sistemi acquaponici le malattie dei pesci causate da batteri, virus, parassiti e funghi possono essere suddivise in due categorie e possono avere un impatto devastante: infettive e non infettive.

La prevenzione dell'incremento di malattie infettive passa attraverso le seguenti principali misure:

- uso di acqua priva di agenti patogeni;
- uso di ceppi di pesci certificati esenti da agenti patogeni;
- massima attenzione alle condizioni igienico-sanitarie;

- somministrazione di vaccini commerciali contro i vari patogeni virali e batterici dei pesci tramite iniezione, immersione o tramite cibo;
- adottare misure preventive e correttive per prevenire lo stress nei pesci;
- evitare un'elevata densità di stoccaggio;
- rimuovere costantemente i contaminanti dall'acqua (es. i pesci morti);
- disinfettare le attrezzature utilizzate per la pulizia della vasca e la manipolazione dei pesci.

Tutto ciò potrebbe non essere sufficiente e un patogeno potrebbe comparire nel sistema, a questo punto è importante identificare correttamente i pesci malati e isolarli, in modo tale da fermare la diffusione della malattia e ridurre al minimo le perdite. Per questo motivo l'osservazione dei pesci deve essere svolta giornalmente, in modo costante e attento, in modo tale da individuare eventuali cambiamenti comportamentali prima, durante e dopo l'alimentazione. È importante osservare la presenza di:

- nuoto anomalo come, ovvero il pesce nuota vicino alla superficie, vortica su sé stesso, si torce, guizza, o nuota a testa in giù, ecc.;
- nuoto del pesce graffiando il fondo o i lati della vasca;
- movimenti stranamente lenti;
- perdita di equilibrio;
- adagiamento sul fondo;
- boccheggiamiento sulla superficie dell'acqua, segno di basso livello di ossigeno;
- mancata reazione agli stimoli esterni, ecc.;

Oltre ai cambiamenti comportamentali i pesci possono essere soggetti anche ai cambiamenti di tipo fisico, delle dimensioni, del colore e della consistenza degli organi e dei tessuti. Oppure, si può osservare l'accumulo di fluidi nelle cavità corporee o la presenza di tumori, cisti, ematomi o lesioni necrotiche (Noga, 2010; Parker, 2012; Plumb & Hanson, 2011; Winton, 2002).

Al contrario, i pesci sani nuotano velocemente, sono energici e hanno un grande appetito, infatti, l'indicatore più importante del peggioramento della loro salute è proprio la riduzione o addirittura la cessazione dell'alimentazione.

In caso di peggioramento della salute dei pesci, per prima cosa è importante monitorare la qualità dell'acqua, ovvero temperatura, ossigeno disciolto, pH, livelli di ammoniaca, nitriti e nitrati, e se necessario intervenire immediatamente, in modo tale da ricondurre qualsiasi deviazione nell'intervallo ottimale.

Livelli elevati di ammoniaca provocano ipereccitabilità, spasmi muscolari, cessazione dell'alimentazione e morte. I pesci avvelenati da nitriti hanno cambiamenti comportamentali tipici dell'ipossia, ovvero branchie color nocciola chiaro o marrone e sangue marrone (Noga, 2010).

La combinazione di pesci e piante in acquaponica chiusa può migliorare il benessere dei pesci e generare una migliore crescita delle piante. Somerville et al. (2014) hanno categorizzato le piante in acquaponica in base alle loro esigenze nutrizionali come segue:

- piante con basse esigenze nutrizionali (ad esempio basilico, *Ocimum basilicum*);
- piante con esigenze nutrizionali medie (ad esempio cavolfiore, *Brassica oleracea* var. *Botrytis*);
- piante con elevate esigenze nutrizionali come le specie da frutto (ad esempio fragole, *Fragaria spec.*).

Quindi, non tutte le piante possono essere coltivate in tutti i sottosistemi idroponici con la stessa resa. La scelta della tipologia di piante da coltivare (specie e ceppo) e in particolare del sottosistema idroponico e/o substrato, per esempio torba, fibra di cocco, compost, argilla, ecc. o una miscela di essi, ha un impatto significativo sul risultato finale (Somerville, Cohen, Pantanella, Stankus, & Lovatelli, 2014).

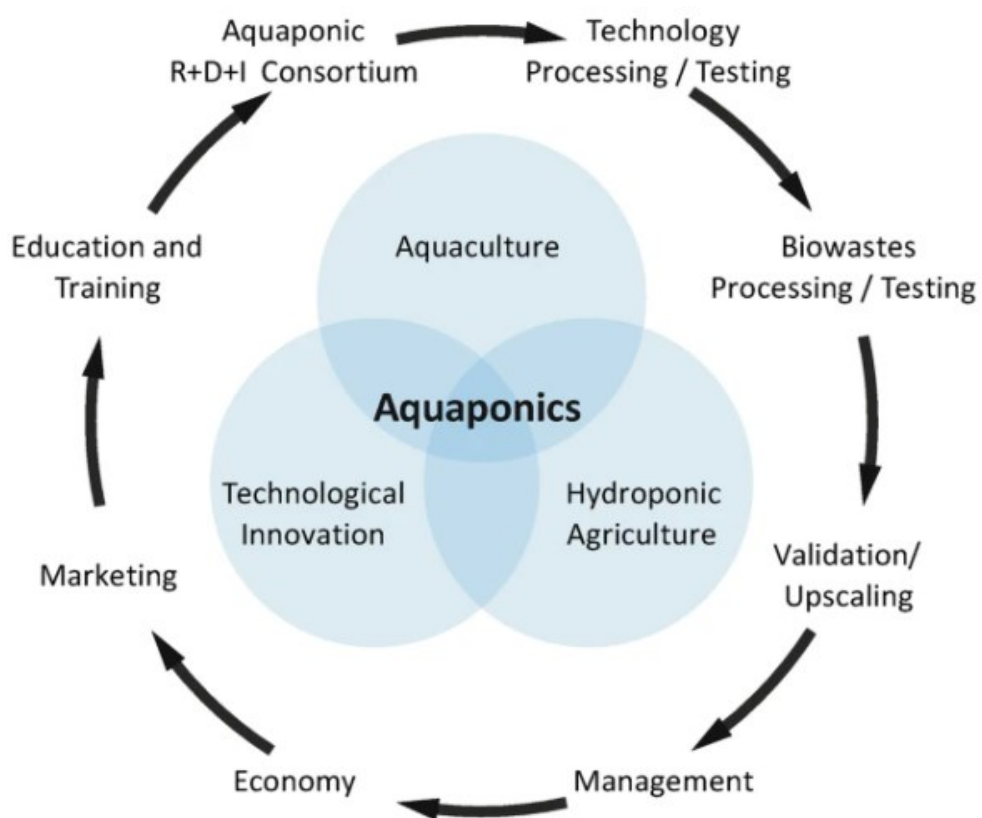
Per produrre cibo in modo innovativo e sostenibile si possono sfruttare i sistemi acquaponici e godere di importanti vantaggi per il ciclo dei nutrienti:

- evitare lo scarico degli effluenti arricchiti di azoto e fosforo disciolti nelle falde acquifere, peraltro già inquinate;
- fertilizzare le colture fuori suolo con una sorta di soluzione organica, evitando di impiegare concimi minerali realizzati con risorse naturali e in via di esaurimento;
- il contenuto minerale e le qualità nutrizionali delle verdure coltivate, come per esempio i pomodori, sono migliori o uguali a quelli ottenuti nelle colture convenzionali;
- la produzione può essere persino migliore rispetto al suolo.

Allo stesso tempo però il riciclaggio degli effluenti aumenta la sfida del monitoraggio dei nutrienti, in quanto diventa più difficile controllare la composizione di una soluzione in cui i nutrienti derivano dalla degradazione biologica del materiale organico, rispetto a monitorare la trasformazione della concentrazione dei nutrienti in una soluzione idroponica basata su composti minerali. Ancora, è necessario soddisfare i fabbisogni nutrizionali delle piante che variano durante lo sviluppo in base alle fasi fisiologiche, in modo tale da riuscire a massimizzare le rese.

L'acquaponica ad oggi consente di riqualificare prodotti e sottoprodotti di materia organica non adatti all'utilizzo per altri scopi, come per esempio insetti, vermi allevati, macro e microalghe, idrolizzati di pesce, nuove piante prodotte in agroecologia, ecc., riducendo in questo modo l'impatto ambientale, sviluppando una generazione di rifiuti zero, ma con una produzione alimentare di qualità (pesce e piante). Per di più l'acquaponica promuove un modo multidisciplinare di apprendere sulla produzione sostenibile e sulla valorizzazione delle risorse biologiche, come per esempio il "Progetto Islandap" (Figura 10).

### Aquaponic Feed Development and the Circular Bioeconomy



**Figura 10** – Rappresentazione schematica di un approccio multidisciplinare per valorizzare localmente i bio-sottoprodotti per le diete acquaponiche (progetto ISLANDAP).

Il pesce è identificato come benefico per la nutrizione e la salute umana e avrà un ruolo importante nelle future diete sane e sostenibili, in quanto fornisce una buona quantità di proteine, grassi insaturi, minerali e vitamine (Beveridge, et al., 2013).

Ad oggi nessuna delle politiche e delle linee guida UE tratta espressamente di acquaponica, anche se l'obiettivo della politica di sicurezza alimentare dell'UE è garantire cibo sicuro e nutriente, derivante da animali e piante sani, supportando contemporaneamente l'industria alimentare. Le politiche ambientali dell'UE più importanti in questo settore sono la strategia sulla prevenzione, il riciclaggio dei rifiuti e il settimo programma d'azione per l'ambiente (EAP) (Unione Europea, 2014; Commissione europea, 2011).

Di seguito sono riassunti alcuni vantaggi riscontrati nell'utilizzo dei sistemi acquaponici:

- l'ubicazione, infatti possono essere posizionati quasi ovunque, compresi deserti, terreni degradati, isole sabbiose e salate, in quanto:
  - l'utilizzo di acqua è minimo, perché si tratta di un circuito chiuso;
  - può sfruttare spazi che non sono adatti ad altri sistemi di produzione alimentare, come per esempio tetti, siti industriali abbandonati, terreni generalmente non coltivabili o contaminati, ecc. riqualificando in certo senso queste aree;
  - fanno molto meno affidamento sulla disponibilità di acqua rispetto ad altri sistemi, essendo che riutilizzano il 90 - 95% dell'acqua impiegata;
- minimizzano la produzione di rifiuti (Goddek, et al., 2015);
- l'acqua viene ricircolata, riducendo al minimo le acque reflue;
- i rifiuti organici, risultanti dall'acqua di processo dei pesci, vengono reimpiegati per soddisfare i fabbisogni nutrizionali delle piante;
- i rifiuti solidi prodotti possono essere mineralizzati e reimpiegati nei sistemi o utilizzati come compost per l'agricoltura tradizionale;
- promuovono la produzione alimentare locale, minimizzando i costi del trasporto;
- l'installazione nei contesti urbani può valorizzare dal punto di vista ecologico le città.



## I minerali

Gli animali acquatici, ai fini del mantenimento delle funzioni fisiologiche essenziali per i normali processi vitali, necessitano di piccole quantità di minerali, ovvero elementi inorganici naturali come per esempio metalli, metalloidi e non metalli. In particolare, i pesci riescono ad assorbire alcuni elementi inorganici anche dall'ambiente esterno oltre che dalla loro dieta.

È noto che tutti gli organismi viventi contengono la maggior parte degli elementi naturali presenti nella tavola periodica, e ad oggi 29 dei 94 elementi naturali sono essenziali per la sopravvivenza animale, in particolare i sei elementi strutturali di base, ovvero carbonio (C), idrogeno (H), azoto (N), ossigeno (O), fosforo (P) e zolfo (S).

Secondo Mertz (1998) "un elemento è considerato essenziale per un organismo quando la riduzione della sua esposizione al di sotto di un certo limite determina costantemente una riduzione di una funzione fisiologicamente importante, o quando l'elemento è parte integrante di una struttura organica che svolge una funzione vitale nell'organismo".

Calcio, fosforo e magnesio costituiscono componenti strutturali di organi e tessuti del corpo, il silicio è presente in ossa, pinne e squame, mentre fosforo e zolfo nelle proteine muscolari. Zinco e fosforo possono anche contribuire a mantenere la stabilità strutturale di molecole e membrane tissutali. Lo zinco (Zn) è importante per il metabolismo della vitamina A e il forte potenziale redox della vitamina C può modificare la valenza di rame (Cu) e ferro (Fe), per cui ridurre o aumentarne l'assorbimento.

Molti oligoelementi sono difficili da studiare, in quanto nonostante i progressi dell'analisi strumentale, persistono molti problemi associati alla loro misurazione nei tessuti dei pesci.

La concentrazione dei minerali nel corpo degli organismi acquatici dipende dalla fonte di cibo, dall'ambiente, dalla specie, dallo stadio di sviluppo e dallo stato fisiologico dell'animale. In generale, la concentrazione di cadmio (Cd), rame (Cu) e zinco (Zn) aumenta lungo la catena alimentare ai livelli inferiori, raggiungendo il massimo nei crostacei e poi diminuendo nei pesci.

Per quanto riguarda la trota iridea, la sua composizione minerale varia a seconda delle dimensioni del pesce, dello stadio del ciclo vitale e dello stato riproduttivo, in particolare le concentrazioni di calcio (Ca), rame (Cu), ferro (Fe), potassio (K), magnesio (Mg), manganese (Mn), sodio (Na), fosforo (P), stronzio (Sr) e zinco (Zn) sono maggiori negli esemplari giovani rispetto agli adulti (Shearer, 1984).

I minerali possono interagire tra di loro o con altri elementi più di altri nutrienti poiché sono labili e sono predisposti a creare legami chimici e interazioni minerale-minerale o minerale-vitamine. Infatti, sono ben note molte interazioni e interrelazioni tra nutrienti negli animali terrestri, nei pesci e

nell'alimentazione umana, come per esempio zinco-rame (Zn-Cu) e calcio-fosforo-vitamina D e K (Ca-P-vitamina D e K) (O'Dell, 1997; Lall, The minerals, 2022).

L'assorbimento dei minerali nei pesci avviene principalmente nel tratto gastrointestinale, in particolare la frazione di nutrienti che l'organismo è in grado di assorbire e di utilizzare per le proprie funzioni fisiologiche si definisce "biodisponibilità". Sono molti i fattori che possono influenzare la biodisponibilità dei minerali, tra cui:

- livello di assunzione;
- forma chimica;
- digeribilità della dieta che fornisce l'elemento;
- dimensioni delle particelle;
- interazione con altri nutrienti, chelanti, inibitori;
- stati fisiologici e patologici dell'animale;
- chimica dell'acqua;
- tipo di lavorazione dei mangimi;
- tipologia di forma molecolare in cui l'elemento è presente.

Per esempio, lo zinco (Zn) nel pesce è assorbito meglio dagli integratori di proteine animali piuttosto che dalle fonti di proteine vegetali, in quanto i cereali e gli altri mangimi vegetali contengono una serie di sostanze, in particolare il "fitato", che possono legare lo zinco, e renderlo indisponibile per l'assorbimento.

Le ossa e la cartilagine costituiscono i principali tessuti scheletrici nei pesci, e nella loro crescita e sviluppo diversi nutrienti sono considerati essenziali, come per esempio i principali minerali (Ca, P, Mg, Mn, Zn) e vitamine (C, D, K), oltre che adeguate scorte di energia e aminoacidi. Lo scheletro rappresenta nella maggior parte dei vertebrati una riserva di calcio, fosforo e altri ioni che sono continuamente in scambio con gli elettroni presenti nel sangue e nei fluidi extracellulari.

I tessuti scheletrici sono costituiti da una miscela di minerali depositati attorno a una matrice proteica, che fornisce resistenza e flessibilità alle vertebre, in particolare circa il 65% del tessuto osseo è minerale inorganico e fornisce durezza, mentre il rimanente 35% è matrice organica con una quota maggiore di fibre di collagene. Sostanzialmente le fibre di collagene della matrice ossea organica rappresentano l'impalcatura su cui vengono depositati i minerali (Lall, The minerals, 2022).

La carenza di nutrienti nelle fasi iniziali del ciclo di vita dei pesci può influenzarne lo sviluppo osseo e aumentare la loro suscettibilità alle malformazioni (Boglione , et al., 2013). Studi sulla biodisponibilità hanno dimostrato che l'integrazione delle diete a base di farina di pesce con zinco

(Zn) e manganese (Mn) è importante per crescita ottimale, mineralizzazione ossea e prevenzione delle malattie nutrizionali nei pesci (Lall, 2010).

Per raggiungere prestazioni e salute ottimali nei pesci è importante che tutti i nutrienti dietetici siano in correlazione tra loro e che la loro concentrazione sia ottimale.

## Selenio

Il selenio (Se) è un oligoelemento essenziale per i pesci ed esiste in quattro stati di ossidazione naturali (-2, 0, +6, +4), in particolare a pH fisiologico la forma più diffusa nei tessuti è  $Se^{2+}$ . Una delle principali forme di selenio nella cellula è la selenocisteina (SeC), ovvero il residuo aminoacidico, tramite il quale il selenio è incorporato sia nelle proteine funzionali che strutturali, molte delle quali sono enzimi con ruolo di protezione antiossidante cellulare. Il sito primario di assorbimento di selenio è il tratto gastrointestinale, nonostante i pesci possano assorbire quantità limitate di selenio dall'ambiente con le branchie e la pelle. Il selenio assorbito sarà associato alle proteine nel plasma per poi essere trasportato ai tessuti. Mentre per quanto riguarda l'escrezione, la via primaria è l'urina, che svolge anche un ruolo quantitativamente rilevante nell'omeostasi del selenio, ma può essere eliminato anche tramite le feci (Janz, et al., 2012; Burk & Hill, 2015).

Il fabbisogno (mg Se/kg di dieta) minimo di selenio nei pesci varia in funzione di:

- forma ingerita;
- disponibilità nella dieta;
- forma inorganica forma organica;
- contenuto di vitamina E nella dieta;
- concentrazioni di selenio trasportato dall'acqua.

La carenza di selenio determina minor crescita in trota iridea, carpa e pesce gatto, mentre la sua deprivazione non genera segni patologici (Hilton, Hodson, & Slinger, 1980; Satoh, Takeuchi, Narabe, & Watanabe, 1983; Gatlin & Wilson, 1984).

## Zinco

Lo zinco (Zn) è un oligoelemento la cui essenzialità è correlata al ruolo rilevante come parte integrante di alcuni metalloenzimi (ad esempio fosfatasi alcalina, RNA nucleotide transferasi, anidrasi carboniche) e come catalizzatore per la regolazione delle attività di specifici enzimi dipendenti da Zn nel metabolismo dei lipidi, dei carboidrati e delle proteine.

Lo zinco è necessario per l'integrità strutturale e funzionale di oltre 2000 fattori trascrizionali coinvolti nell'espressione di molti geni.

Per quanto riguarda le possibili fonti di zinco possiamo citare:

- tra i mangimi la maggior parte dello zinco si trova nella crusca, in particolare nel germe di grano, ovvero una minima frazione della cariosside ad elevata valenza nutrizionale, pertanto, una quota importante di zinco viene persa durante la macinazione;
- i tipici concentrati di proteine vegetali e le farine di semi oleosi possono contenere 30 – 120 mg di Zn/kg;
- farina di pesce che contengono generalmente 80 – 130 mg di Zn/kg;
- farina di carne e ossa e farina di piume di pollame con 90 – 140 mg di Zn/kg;
- albumina di uovo che dato il suo basso contenuto di zinco, inferiore a 3 mg/kg, è solitamente impiegata nelle diete sperimentali a basso contenuto di zinco.

Lo zinco è accumulato nei pesci attraverso le principali vie di assorbimento, ovvero le branchie e il tratto intestinale, sia dall'acqua che da fonti alimentari, mentre quello in eccesso viene escreto mediante bile, desquamazione della mucosa intestinale nelle feci e attraverso le branchie (Hogstrand, Kille, Nicholson, & Taylor, 2009; Handy, 1996). Il suo assorbimento è determinato dal contenuto totale di zinco della dieta, dalla disponibilità di zinco solubile e dal suo stato (Lønnerdal, 2000). La biodisponibilità di zinco corrisponde alla frazione di zinco assorbito che viene trattenuta e utilizzata per le funzioni fisiologiche.

Il fabbisogno minimo di zinco varia in base all'età, alla maturità sessuale, alla composizione della dieta, alla temperatura e alla qualità dell'acqua. Negli animali terrestri la carenza di zinco è associata alla perdita di appetito, depressione della crescita, disturbi scheletrici e cutanei, e compromissione della funzione immunitaria e della riproduzione (Suttle, 2022).

Gli integratori di zinco utilizzati comunemente nelle diete dei pesci sono: solfato di zinco, cloruro di zinco, nitrato di zinco, ossido di zinco, acetato di zinco, carbonato di zinco, citrato di zinco, picolinato di zinco, complessi di zinco-amminoacidi (metionina, glicina o istidina) e proteina di zinco.

L'inquinamento ambientale e la contaminazione da metalli pesanti dei pesci hanno spinto molti ricercatori ad approfondire l'accumulo e la distribuzione di zinco negli organismi acquatici, infatti, è noto che la biodisponibilità e la tossicità dello zinco in particolare, ma anche di altri metalli, variano a seconda della fisiologia dell'organismo e dei meccanismi osmoregolatori (Alsop & Wood, 1999; Bielmyer, Bullington, DeCarlo, Chalk, & Smith, 2012). Gli studi riguardanti gli effetti fisiologici subletali dello zinco attestano che il principale effetto tossico è l'ipocalcemia, generata dalla sua interferenza con l'assorbimento attivo nelle branchie (Hogstrand, Kille, Nicholson, & Taylor, 2009; Hogstrand, Wilson, Polgar, & Wood, 1994).

Per esempio, trota iridea e carpa riescono a tollerare 1700 - 1900 mg di Zn/kg nella dieta senza alcun segno apparente di tossicità, anche se alti livelli di zinco nella dieta della trota iridea (500 – 1000 mg Zn/kg) possono determinare riduzione di emoglobina, ematocrito e delle concentrazioni epatiche di rame (Cu) (Knox, Cowey, & Adron, 1982; Wekell, Shearer, & Houle, 1983).

È noto anche che la sensibilità minerale è maggiore nello stadio larvale rispetto ad altri periodi della vita di un pesce, e che il contenuto di zinco delle squame rispecchia le concentrazioni ambientali dei metalli.

Il limite massimo di zinco (Zn) nei mangimi per pesci è stato stabilito dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare in 150 mg/kg di dieta per i salmonidi, e in 100 mg/kg per gli altri pesci, in quanto l'eccesso di zinco ha effetti negativi sugli ambienti acquatici.

## Iodio

Lo iodio (I) è un elemento non metallico che appartiene al gruppo degli alogeni, ed è volatile a temperatura e pressione ambientale. Lo stato di ossidazione principale è  $-1$ , definito anche "ioduro", ma esistono anche altri stati di ossidazione:  $+1$ ,  $+3$ ,  $+5$  e  $+7$ . Lo iodio è essenziale nei pesci e nelle altre specie di animali, in quanto è una componente integrale degli ormoni tiroidei [3,5,3'-triiodo-L-tironina (T3) e 3,5,3'-5'-tetraiodo-L-tironina (tiroxina, T4)], i quali regolano l'attività e la crescita cellulare in quasi tutti i tessuti, per cui sono necessari per l'ossidazione cellulare, l'emopoiesi, la circolazione, la riproduzione, il funzionamento neuromuscolare e il metabolismo dei principali nutrienti. La sua carenza nella dieta provoca solitamente ipotiroidismo nei vertebrati.

I livelli di "ioduro" (forma ionica  $I^-$ ) nel sangue dei pesci sono influenzati da diversi fattori (Eales, 2019):

- quantità di ioduro nella dieta e nell'acqua;
- temperatura elevata dell'acqua che provoca una maggiore escrezione di ioduro;

- maturazione sessuale;
- differenze nella capacità dei pesci di legare ioduro alle proteine plasmatiche.

La carenza di iodio nella dieta è la causa principale di ipotiroidismo nei vertebrati, ovvero una patologia caratterizzata da una diminuita funzionalità della ghiandola tiroidea, che comporta la diminuzione dei livelli ematici degli ormoni tiroidei triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) che sono fondamentali per la regolazione del metabolismo dell'organismo.

Nella maggior parte delle specie ittiche il fabbisogno minimo di iodio nella dieta non è ancora stato fissato, ma è probabile che sia influenzato da crescita, sesso, età, stato fisiologico, stress ambientale, malattia e contenuto di iodio nell'acqua.

Lo iodio in natura si trova in piante e animali marini, in depositi di origine organica come il carbone, in alcune acque minerali naturali, nella roccia fosfatica sedimentaria, e in particolare nei grandi depositi di nitrati del Cile, che rappresentano la principale fonte commerciale di questo elemento. Le fonti di iodio consentite come additivi per mangimi comprendono iodato di calcio, iodato di sodio, iodato di potassio, ioduro di sodio, etilendiammina diidrioduro (EDDI), iodobenato di calcio, ioduro rameoso, acido 3,5-diiodosalicilico, pentacalcio ortoperiodato e ioduro di timolo. La forma più diffusa negli alimenti e nei mangimi è lo "ioduro inorganico", che viene quasi completamente assorbito dal tratto gastrointestinale (Suttle, 2022).

## Obiettivi

L'acquaponica rappresenta una tecnologia innovativa e sostenibile per la produzione integrata di alimenti sani e nutrienti, combinando l'acquacoltura e l'idroponica in un sistema chiuso che massimizza l'uso di risorse come acqua e nutrienti. Questo approccio non solo riduce l'impatto ambientale delle produzioni agricole e ittiche, ma offre anche la possibilità di migliorare il valore nutrizionale dei prodotti finali attraverso strategie mirate di integrazione alimentare. In particolare, l'aggiunta di microelementi essenziali come iodio, selenio e zinco nella dieta dei pesci allevati in sistemi acquaponici può favorire la biofortificazione del filetto, aumentando il contenuto di nutrienti benefici per la salute umana. Questa tecnica si propone come un valido strumento per coniugare sostenibilità ambientale e innovazione nel settore alimentare.

La presente tesi di laurea ha inteso valutare l'effetto dell'integrazione alimentare con un pre-mix minerale contenente ferro, iodio, manganese, selenio e zinco, a dosi crescenti (M1 = 0,7% di pre-mix minerale; M2 = 1,4% di pre-mix minerale; M3 = 2,1% di pre-mix minerale) su prestazioni produttive e qualità dei pesci persico trota (*Micropterus salmoides*) allevati in un sistema acquaponico accoppiato per la produzione integrata di pesci e lattuga.





## Materiali e Metodi

### Ambiente di coltivazione

La prova sperimentale è stata condotta presso l'azienda agricola sperimentale "Lucio Toniolo" dell'Università degli Studi di Padova, ubicata in viale dell'Università, 4 – 35020 Legnaro (PD) (45°21'06.9"N 11°57'01.5"E), all'interno di una serra (Figura 11) di dimensioni 50 x 12 m con altezza al colmo di 6 m e orientamento Nord – Sud. La prova ha avuto una durata di 170 giorni.



**Figura 11** – foto scattata all'interno della serra in cui è stata svolta la prova sperimentale.

I sistemi di acquaponica accoppiata che sono stati utilizzati in questa prova sperimentale erano a basso input tecnologico, costruiti artigianalmente con materiali facilmente reperibili e a costi sostenibili. Sono stati installati 9 sistemi acquaponici indipendenti, e a ciclo chiuso. Ogni sistema era composto da una vasca di allevamento dei pesci da 500 L (0,5 m<sup>3</sup>) in HDPE (polietilene ad alta densità), connessa al sedimentatore o chiarificatore, ovvero un contenitore da 100 L in HDPE che fungeva da vasca di sedimentazione delle particelle solide grossolane (principalmente feci e

mangime non consumato). In successione, collegato al sedimentatore c'era il biofiltro, costituito anch'esso da un contenitore da 100 L in HDPE, e riempito con materiale di adesione (supporti plastici), funzionale alla crescita dei batteri. L'acqua per gravità passava dal contenitore del biofiltro ad un pozzetto di raccolta da 50 L (recipiente con funzione di indicatore di livello), dove era presente una pompa sommersa (Newa Jet 4500 da 33W, NEWA TecnoIndustria Srl, Loreggia, Italia) con una portata di 4 L/min, per il rinvio dell'acqua filtrata biologicamente al sistema di coltivazione idroponico verticale (Vertical Farming) consistente in 9 colonne NFT alte 150 cm. Il sistema di irrigazione è stato installato in testa ad ogni colonna e l'acqua, per gravità, filtrava nelle colonne ospitanti le colture vegetali. L'acqua in eccesso veniva poi raccolta in una vasca sottostante alle colonne, di volume pari a 275 L in HPDE. In quest'ultima, una pompa (Newa Jet 1700 da 33W, NEWA TecnoIndustria Srl, Loreggia, Italia) movimentava l'acqua alla vasca di allevamento dei pesci, chiudendo quindi il ciclo.

Tra la vasca di raccolta e la vasca di allevamento dei pesci era presente un climatizzatore Teco, Tank Chiller Line, modello TK 1000 (Teco Srl., Ravenna, Italia), idoneo per la climatizzazione dell'acqua.

Le perdite giornaliere di acqua sono state mediamente inferiori al 5%, dovute principalmente ad evapotraspirazione, schizzi provocati dal nuoto dei pesci, eventuali guasti degli impianti, pulizia del filtro climatizzatore Teco. Il volume è stato mantenuto costante grazie alle integrazioni giornaliere di acqua potabile dell'acquedotto del comune di Legnaro (PD), apportate a livello di pozzetto di raccolta.

L'installazione di un biofiltro ha consentito di convertire l'azoto ammoniacale, prodotto dal metabolismo dei pesci, in ione nitrato tramite il processo di nitrificazione, garantendo una buona qualità dell'acqua e un corretto sviluppo delle piante. Per tutta la durata della prova, i biofiltri sono stati monitorati periodicamente per garantirne la corretta funzionalità.

All'interno delle vasche contenenti i batteri per la filtrazione biologica e delle vasche per l'allevamento dei pesci sono state inserite delle pietre porose (4 x 4 x 15 cm, Sweetwater® AS15S, Pentair, Cary, NC, USA), collegate agli aeratori (compressori a membrana Scubla D100 da 106 W, Scubla, Srl, Remanzacco, Italia), con una portata nominale di 102 L/min, che insufflavano ossigeno per mantenere il livello entro i range ottimali.

Le vasche di allevamento dei pesci erano dotate di:

- rubinetto per la regolazione del flusso d'acqua in entrata;
- troppopieno in prossimità del bordo superiore, per scaricare l'acqua in eccesso che con un tubo flessibile a spirale in PVC, veniva convogliata prima nel sedimentatore e poi al biofiltro;

- coperchio in PVC rigido per evitare la fuoriuscita dei pesci;
- rivestimento esterno in lana di roccia dello spessore di 6 cm circa, per ridurre lo sbalzo termico dell'acqua contenuta nelle vasche di allevamento dei pesci.

## Disegno sperimentale

Il disegno sperimentale prevedeva 3 trattamenti alimentari, con concentrazioni crescenti di un pre-mix di micro-minerali, con 3 repliche (sistemi) per ciascun trattamento. Il pre-mix è stato aggiunto ad un mangime commerciale per persico trota (92,5% di sostanza secca, 42,5% di proteina grezza, 16,7% di estratto etereo, 0,86% di fibra grezza). La composizione del pre-mix era la seguente:

- ferro [carbonato di Fe (II), siderite] = 40 000 mg/kg;
- rame [solfato di Cu (II) pentaidrato] = 1000 mg/kg;
- manganese [ossido di Mn (II)] = 4000 mg/kg;
- zinco (ossido di Zn) = 8000 mg/kg;
- iodio (iodato di calcio anidro in granuli rivestiti) = 300 mg/kg;
- selenio (lievito di selenio *Saccharomyces cerevisiae* NCYC R397, inattivato) = 40 mg/kg.

I trattamenti considerati nella presente prova sono stati:

- M1 = pre-mix minerale al 0,7% (trattamento di controllo), applicato alle vasche: 1, 6, 8;
- M2 = pre-mix minerale al 1,4%, applicato alle vasche: 2, 4, 9;
- M3 = pre-mix minerale al 2,1%, applicato alle vasche: 3, 5, 7.

Il pre-mix è stato aggiunto al normale mangime commerciale grazie all'applicazione di un coating con olio di pesce (1% di aggiunta), consentendo quindi di apportare livelli crescenti dell'integratore minerale alla dieta.

I limiti di minerali e vitamine presenti negli alimenti per l'acquacoltura sono stati rispettati, in particolare: selenio 0,5 mg/kg per Se organico (regolamento CE 804/2019), ferro 750 mg/kg, manganese 100 mg/kg, zinco 180 mg/kg per i salmonidi e 150 mg/kg per altre specie (regolamento CE 095/2016), rame 25 mg/kg, iodio 20 mg/kg e vitamina D3 75 µg/kg, ovvero 3000 UI/kg (regolamenti CE 1334/2003, 1831/2003, 479/2006).

Il selenio (Se) è stato somministrato come lievito nutritivo inattivato al selenio biodisponibile, ovvero il lievito a cellule intere inattivato (*Saccharomyces cerevisiae*) che contiene livelli elevati di selenio nella sua forma alimentare naturale, L (+) selenometionina (SeMet). È prodotto dalla crescita del lievito in presenza di quantità misurate di selenio.

## Cicli colturali di lattuga

I sistemi sono stati attivati nei primi giorni di maggio 2023 e successivamente i batteri sono stati inoculati permettendogli di svilupparsi.

L'attività sperimentale è stata suddivisa in quattro cicli colturali, due di lattuga gentile (*Lactuca sativa* var. gentile) e due di lattuga canasta (*Lactuca sativa* l.). Le varie fasi della prova sperimentale sono riassunte come segue:

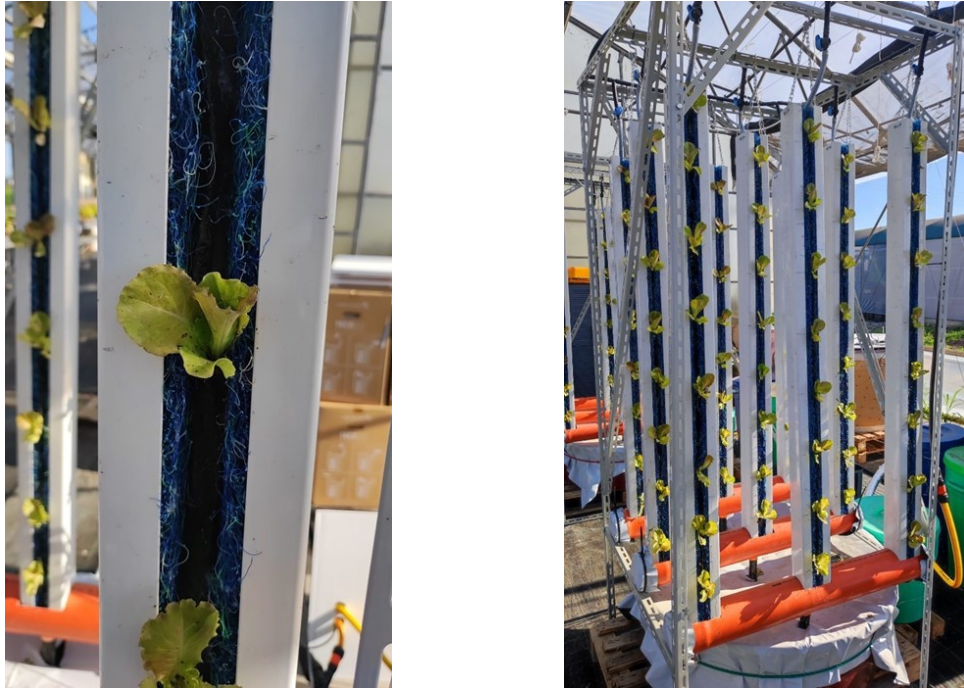
- inizio ufficiale della prova il giorno 03 luglio 2023. In tale data è avvenuto il trapianto del primo ciclo di lattuga gentile nel sistema di coltivazione idroponico verticale (Vertical Farming). Il primo ciclo colturale si è concluso il giorno 10 agosto 2023 con la raccolta della lattuga gentile;
- il secondo ciclo colturale è iniziato il giorno 10 agosto 2023 con il trapianto di lattuga canasta e si è concluso l'11 settembre 2023 con la raccolta del prodotto finale;
- il terzo ciclo colturale è iniziato l'11 settembre 2023 con il trapianto della lattuga canasta e si è concluso con la raccolta del prodotto il giorno 19 ottobre 2023;
- il quarto e ultimo ciclo è iniziato il 19 ottobre 2023 con il trapianto di lattuga gentile e si è concluso con la raccolta il giorno 22 dicembre 2023;
- i pesci sono stati macellati il 20 dicembre 2023, termine della prova sperimentale.

Ogni sistema acquaponico era costituito da 9 torri idroponiche, in cui le piante erano disposte sulla superficie laterale in appositi spazi che contenevano il substrato di coltivazione composto da feltro e materiale plastico.

Le piantine sono state trapiantate con una distanza di circa 20 cm l'una dall'altra, quindi, in ogni torre idroponica sono state messe a dimora 8 piante. In ogni sistema sono state coltivate 72 piante di lattuga (Figure 12) per un totale di 648 piante coltivate per ciclo colturale.

Le piantine sono state trapiantate a mano disponendo il "panetto" di terra all'interno del substrato di coltivazione, e lasciando il "colletto" a livello della superficie del letto di coltura. In questa fase molto delicata sono state adottate le seguenti precauzioni:

- evitare di inserire le piantine troppo in profondità, altrimenti il colletto si sarebbe putrefatto;
- inclinare leggermente verso l'alto la piantina, diminuendo in questo modo sia le perdite per gocciolamento, ma anche la putrefazione del colletto;
- agire con delicatezza, in modo tale da non danneggiare le piantine.



**Figure 12** – Nell’immagine di sinistra l’ingrandimento del substrato di coltivazione. Nell’immagine a destra le 9 torri idroponiche del sistema 2.

Durante la prova non sono stati somministrati trattamenti antibiotici e pesticidi, ma sono stati aggiunti i seguenti composti al fine di regolare il pH e coprire eventuali carenze nutrizionali delle piante:

- 10 ml di acido fosforico ( $H_3PO_4$ ) ad ogni sistema il giorno 19/07/2023;
- 5 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 20/07/2023;
- 5 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 21/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 22/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 24/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 25/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 26/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 27/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ad ogni sistema il 28/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 5, 6, 7, 8 e 9 il 29/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 5, 6, 7, 8 e 9 il 30/07/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 1, 2, 3, 4 e 5 il 02/08/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 6, 7, 8 e 9 il 02/08/2023;
- 0,83 g di ferrilene ad ogni sistema (25% del fabbisogno) il 12/08/2023;

- 15 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 1, 6, 7, 8 e 9 il 14/08/2023;
- 10 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) ai sistemi 1, 6, 8 il 17/08/2023;
- 15 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) al sistema 7 il 17/08/2023;
- 8,5 g di acido citrico ( $C_6H_8O_7$ ) al sistema 8 il 21/08/2023;
- 0,83 g di clorurato di ferro ( $FeCl_3$  – cloruro ferrico) ad ogni sistema il 23/08/2023;
- 80 g di fosfato di potassio ( $K_3PO_4$ ) ad ogni sistema il 31/08/2023;
- 1 ml di acido peracetico ( $CH_3COOOH$ ) ad ogni sistema il 05/09/2023;
- 2 ml di acido peracetico ( $CH_3COOOH$ ) ad ogni sistema il 07/09/2023;
- 80 g di fosfato di potassio ( $K_3PO_4$ ) ad ogni sistema il 01/10/2023;
- 0,85 g di ferro chelato ad ogni sistema il 01/10/2023;
- 80 g di fosfato di potassio ( $K_3PO_4$ ) ad ogni sistema il 30/10/2023;
- 0,85 g di ferro chelato ad ogni sistema il 30/10/2023;
- 80 g di fosfato di potassio ( $K_3PO_4$ ) ad ogni sistema il 19/11/2023;
- 0,85 g di ferro chelato ad ogni sistema il 19/11/2023;
- 0,85 g di ferro chelato ad ogni sistema il 10/12/2023.

L'acido citrico è stato utilizzato per abbassare il pH del sistema. L'acido fosforico è stato utilizzato sia per abbassare il pH che per fornire fosforo. Gli altri elementi sono stati aggiunti per soddisfare i fabbisogni nutrizionali delle lattughe.



## Gestione e monitoraggio dei pesci

In questo lavoro di tesi la specie oggetto di studio è stata il persico trota (*Micropterus salmoides*), in Italia conosciuto comunemente anche come “boccalone”, un pesce osseo d’acqua dolce appartenente alla famiglia “*Centrarchidae*”.



**Figura 13** – Foto di alcuni pesci persico trota poco prima di essere messi sotto ghiaccio.

Di seguito alcune caratteristiche che contraddistinguono questa specie:

- bocca molto grande, obliqua, con denti piccoli e molto numerosi;
- corpo con forma ovale, piuttosto robusto e poco compresso lateralmente;
- l’osso mascellare supera largamente l’occhio e la mandibola è leggermente sporgente;

- la pinna dorsale è unica, con la parte anteriore a raggi spiniformi, mentre la posteriore, è più alta e con raggi molli;
- la pinna anale è costituita da tre raggi spinosi e gli altri molli;
- la pinna caudale è ampia;
- la livrea è generalmente di colore verdastro leggermente più scuro sul dorso che schiarisce sui fianchi e vira al biancastro sul ventre, ma è variabile in funzione delle caratteristiche dell'habitat;
- in tutto il corpo sono presenti macchiette scure, di numero, forma e dimensioni variabili;
- è sempre presente una fascia longitudinale scura molto evidente negli esemplari più giovani, costituita da una serie di macchie nere allineate;
- le pinne sono verdastre;
- negli esemplari adulti sono spesso presenti tre sottili fasce scure radiali che partono dall'occhio e raggiungono il bordo dell'opercolo;
- è un predatore molto vorace;
- non si alimenta durante il periodo riproduttivo e quando la temperatura scende sotto i 5°C o sale sopra i 37°C;
- in base alla capacità di adattarsi a variazioni notevoli della temperatura dell'acqua fa parte delle specie stenoterme, che non sopporta variazioni termiche, o si adatta solo molto gradualmente;
- come quasi tutti i pesci (tranne qualche eccezione come per esempio il tonno), è un animale a sangue freddo (pecilotermo o ectotermo) e la sua temperatura corporea non si discosta molto da quella dell'ambiente e quindi varia molto;
- la misura massima nota è di 97 cm per oltre 10 kg, ma la misura comune degli esemplari adulti è attorno ai 40 cm. In questo progetto di tesi i pesci all'arrivo misuravano in media 21 cm di lunghezza con un peso medio di 128,5 grammi e alla macellazione hanno raggiunto una lunghezza media di 25,39 cm con un peso medio di 241,95 grammi.

I pesci sono stati acquistati dall'azienda agricola Ricco di Mirandola (MO) e sono arrivati nell'azienda agraria sperimentale "Lucio Toniolo" con mezzo di trasporto autorizzato. Al loro arrivo i pesci sono stati pesati e distribuiti in modo omogeneo all'interno delle 9 vasche di allevamento a una densità di circa 20 pesci per vasca. Gli animali non considerati nella prova sono stati messi in una vasca



“secondaria” e conservati come “riserve” per il rimpiazzo di possibili decessi nel corso della prova sperimentale.

I pesci sono stati acclimatati per un periodo di 15 giorni e sono stati alimentati con una dose standard di 4 - 6 g di mangime commerciale. Dall’inizio della prova, ai pesci è stata somministrata una quantità di mangime calcolata sulla base della biomassa presente in ciascuna vasca, considerando l’1 - 2% della biomassa stessa. Il mangime è stato comunque somministrato fino ad uno stato di apparente sazietà. L’alimento è stato somministrato due volte al giorno, mattina e sera, in base alla temperatura dell’acqua, al peso vivo degli animali e al consumo (appetito).

Di seguito si può osservare come si disponevano i 20 pesci persico trota (*Micropterus salmoides*) poco prima di ricevere la razione mattutina (Figura 14):



**Figura 14** – Pesci persico trota (*Micropterus salmoides*), foto scattata il giorno 01.09.2023 ad un sistema oggetto di studio.

Nel corso della prova sono morti 10 pesci (5,75%) su 174:

- uno in vasca 1 di 130 g di peso e 18 cm di lunghezza l’11 luglio 2023;
- uno in vasca 5 di 99 g e 18,5 cm il 31 luglio 2023;
- un altro in vasca 4 di 120 g e 21,5 cm il 3 agosto 2023;
- uno in vasca 8 con peso pari a 177 g e lunghezza pari a 23 cm il 9 agosto 2023;
- un altro in vasca 8 di 121 g e 21,2 cm il 10 settembre 2023;
- uno in vasca 3 di 221 g e 24,1 cm il 25 settembre 2023;

- un altro in vasca 8 di 150 g e 21,5 cm l'8 ottobre 2023;
- un altro in vasca 1 di 217 g e 24,3 cm il 16 ottobre 2023;
- un altro in vasca 3 di 257 g e 26,2 cm il 6 novembre 2023;
- un altro in vasca 8 di 222 g e 21,5 cm il 17 novembre 2023.

### Rilievi sperimentali *in vivo*

I pesci sono stati messi a digiuno le 24 ore prima delle pesate. Per poterli pesare, gli animali sono stati anestetizzati con 4 ml ogni 20 L di acqua di una soluzione 1:10 di olio essenziale di chiodi di garofano con etanolo. I pesci venivano raccolti e disposti in una vasca HPDE separata, a cui veniva poi aggiunta la soluzione. I pesci sono singolarmente pesati e poi inseriti in un'altra vasca in HDPE riempita con acqua potabile, in modo tale da favorire il recupero dell'effetto anestetico prima di essere rimessi nella vasca di allevamento.

Le attività effettuate durante la prova sperimentale sono state le seguenti:

- controllo quotidiano della salute dei pesci e delle piante;
- somministrazione quotidiana del mangime suddiviso in due razioni, una fornita alle ore 8:30 e una alle ore 17:00;
- controllo quotidiano dei livelli d'acqua in ogni sistema ed eventuale aggiunta in base alle necessità;
- ogni lunedì prima della somministrazione del mangime, campionamento dell'acqua dalle vasche utilizzando "siringhe monouso cono luer" da 20 ml (Figura 17), previo filtraggio tramite filtri a membrana monouso utilizzati per la rimozione delle impurità particellari, prima delle analisi HPLC e cromatografia ionica. Una corretta filtrazione dei campioni migliora la qualità e la riproducibilità dei risultati analitici e riduce i tempi di fermo dello strumento. L'acqua campionata è stata messa in provette Falcon da 50 ml in PP e portata in laboratorio per l'analisi degli ioni disciolti (anioni: nitriti, nitrati, cloruri, fosfati, solfati; cationi: ammonio, calcio, magnesio, potassio, sodio). Le analisi in laboratorio sono state effettuate tramite cromatografia ionica con sistema cromatografico a gradiente (HPLC, Dionex ICS-900);
- ogni lunedì, mercoledì e venerdì, rilievi dei principali parametri dell'acqua tramite uno strumento portatile, multiparametro e impermeabile (Figura 15) "Multiparameter Waterproof Meter" (Hanna instruments, Romania) e l'ossimetro portatile (Figura 16) "Handy Polaris 2" (OxyGuard):

- temperatura (°C);
  - ossigeno disciolto (mg/L) e saturazione (%);
  - quantità di acqua aggiunta (L);
  - conducibilità elettrica (EC), ovvero la capacità dell'acqua di condurre la corrente elettrica, che è data dal contenuto di sali minerali disciolti, pertanto è un parametro che indica il grado di mineralizzazione dell'acqua, ovvero il contenuto di sali disciolti. Solitamente l'acqua possiede una EC compresa da 100 a 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ;
  - pH;
  - torbidità (NTU – Nephelometric Turbidity Unit), ovvero una misura del grado di perdita di limpidezza dell'acqua causata da sostanze in sospensione che disperdono o assorbono la luce che la attraversa;
  - potenziale Redox (mV), o potenziale di ossido-riduzione (ORP), fornisce informazioni sul grado di ossidazione o riduzione in una soluzione. Un ambiente riducente creato da bassi livelli di ossidoriduzione nell'acqua aiuta a minimizzare effetti dannosi, in quanto i radicali liberi possono causare danni cellulari e infiammazioni e sono collegati a vari problemi di salute;
- ogni lunedì i rilievi di temperatura, ossigeno disciolto (OD) e % saturazione sono stati effettuati tre volte al giorno (9:00, 12:30 e 17:00) studiando l'andamento dei suddetti parametri anche nel corso dell'intera giornata (Figura 16);
  - una volta al mese misura di peso vivo e lunghezza totale di tutti i pesci, in modo tale da poter calcolare l'indice di condizione corporale (IC);
  - pulizia del filtro dell'acqua del climatizzatore Teco con cadenza settimanale (Figura 18);
  - supporto alle attività di trapianto della lattuga in ogni nuovo ciclo colturale;
  - supporto nelle fasi di cattura, stordimento e uccisione dei pesci tramite annocatura;
  - rilievi di macellazione e qualità della carne;
  - in ultima, supporto nella raccolta delle lattughe e nei rilievi del peso fresco della parte aerea (vendibile) e delle radici.

Al termine della prova, tutti i sistemi sono stati svuotati e i fanghi recuperati, essiccati e pesati.



**Figura 15** – Misuratore portatile multiparametro di pH, EC, DO, Temperatura “Multiparameter Waterproof Meter” (Hanna instruments, Romania).



**Figura 16** – Raffigurazione dei rilievi pomeridiani effettuati tramite ossimetro portatile “Handy Polaris 2 (OxyGuard) di ossigeno disciolto, % saturazione e temperatura dell’acqua.



**Figura 17** – Rappresentazione dei campioni d'acqua prelevati in ogni vasca, numerati e datati.

## Monitoraggio dei pesci e indici di accrescimento

Durante la prova sperimentale i pesci sono stati pesati una volta al mese in modo tale da monitorare l'accrescimento. Le pesate hanno rispettato le seguenti operazioni in ordine temporale:

- digiuno del giorno precedente e del giorno della pesata;
- preparazione delle vasche "stallo temporaneo" per l'accoglimento dei pesci, dotate di pietre porose collegate agli aeratori, di cui una con una piccola dose di olio essenziale di chiodi di garofano distribuita;
- cattura con retino di piccoli gruppi di pesci per volta ed immissione in vasca con dose anestetizzante distribuita;
- pesate, che sono state effettuate utilizzando una bilancia previa taratura;
- misura della lunghezza totale di ogni pesce;
- immissione del pesce in vasca di "stallo temporaneo" per la ripresa delle normali funzionalità;
- spostamento dei pesci a piccoli gruppi nella vasca iniziale.

Con i dati ottenuti sono stati ricavati i seguenti indici necessari per la valutazione dell'accrescimento degli animali:

- DWG, Daily Weight Gain (accrescimento medio giornaliero) =  $\frac{\text{peso finale (g)} - \text{peso iniziale (g)}}{\text{periodo di allevamento (d)}} =$   
= unità di misura → g/d
- SGR, Specific Growth Rate (tasso di accrescimento specifico) =  $\frac{\ln \text{peso finale} - \ln \text{peso iniziale}}{\text{periodo di allevamento (d)}} * 100$   
= unità di misura → %/d
- FCR, Feed Conversion Ratio (tasso di conversione alimentare, o indice di conversione alimentare) =  $\frac{\text{mangime totale fornito (g)}}{\text{incremento complessivo del peso dei pesci (g)}} =$  (senza unità di misura)

## Qualità della carcassa e dei filetti

Durante la pesata finale, il peso e la lunghezza totale di ogni singolo pesce sono stati annotati e gli è stato assegnato un numero di macellazione.

A rilievi ultimati le carcasse dei pesci sono state poste in contenitori di polistirolo, suddivise in base al numero di vasca in cui sono state allevate, e ricoperte di ghiaccio, pronte per essere trasferite nella cella frigorifera a 2°C del Laboratorio Chimico centralizzato (LaChi) del Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE) dell'Università degli Studi di Padova, fino al mattino successivo, in modo tale da essere analizzate dopo circa 24 ore dalla morte.

Il giorno seguente la macellazione, le carcasse dei pesci sono state sottoposte alle operazioni e ai rilievi sotto specificati in ordine temporale:

- prelievo dalla cella frigo dei contenitori in polistirolo e selezione 8 carcasse per sistema (24 per trattamento), per un totale di 72 carcasse da analizzare, alle quali sono stati misurati nuovamente peso e lunghezza totale;
- rilievi indici morfometrici;
- eviscerazione e pesatura degli organi interni e della carcassa eviscerata;
- separazione dei filetti;
- separazione della pelle dal filetto;
- determinazione del colore e del pH del filetto;
- macinazione e liofilizzazione del filetto;
- determinazione delle caratteristiche chimiche del filetto liofilizzato.



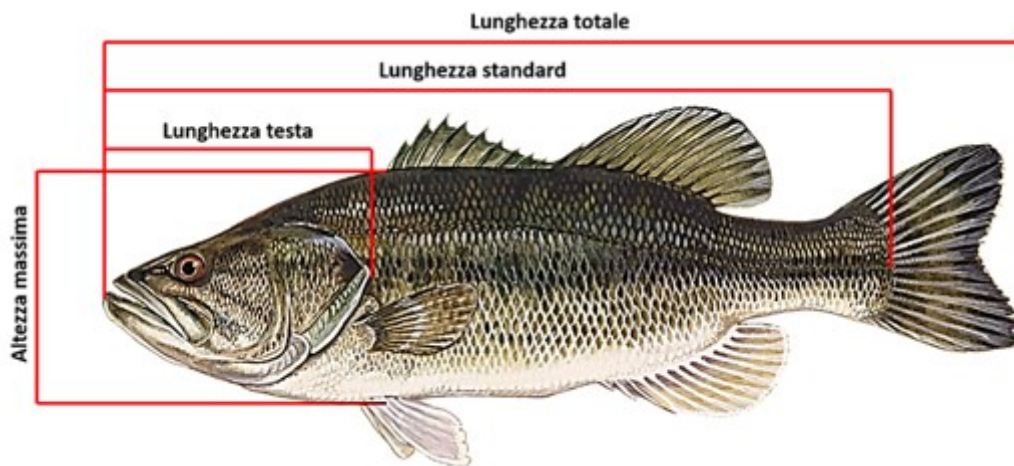
## Biometrie e indici morfometrici

Su tutti gli esemplari selezionati sono state eseguite diverse misure biometriche (Figura 18):

- lunghezza totale, pari alla distanza tra l'estremità anteriore del capo e la parte distale della pinna caudale;
- lunghezza standard, pari alla distanza tra la punta del capo e l'estremità caudale delle fibre dei muscoli (attacco della pinna caudale);
- altezza massima, rilevata tra la prima e la seconda pinna dorsale e la corrispondente area ventrale utilizzando un calibro millimetrato;
- lunghezza della testa, pari alla distanza tra la punta del capo e il margine caudale dell'opercolo.

Da questi valori sono stati calcolati i seguenti indici morfometrici:

- Fattore di Condizione/Condition Factor (FC o K),  $\% = \frac{\text{peso}}{\text{lunghezza totale}^3} * 100$
- Profilo Relativo (PR o RelProf) =  $\frac{\text{altezza massima}}{\text{lunghezza totale}}$
- Indice Craniale (IC o CraIndx) =  $\frac{\text{lunghezza testa}}{\text{lunghezza totale}}$



**Figura 18** – Riferimenti topografici per rilevamento biometrie in pesci persico trota.

## Eviscerazione e pesatura degli organi interni e della carcassa eviscerata

Tutte le 72 carcasse sono state eviscerate (Figura 19) ed è stato rilevato il peso del pacchetto viscerale (comprensivo di cuore, vescica gassosa e gonadi), fegato, grasso periviscerale, gonadi e carcassa eviscerata. Sono stati separati e pesati i singoli filetti, la pelle e lo scarto (resti) costituito da testa, ossa e pinne.

## Separazione dei filetti della carcassa

Le carcasse eviscerate sono state sottoposte a sfilettatura, separando la testa, le pinne dorsali, la pinna ventrale, le ossa cinto-pettorali, gli pterigiofori (ciascuno degli elementi scheletrici, radiali, cartilaginei o ossei delle pinne impari, dorsale e anale dei pesci, che sorreggono distalmente i sottili raggi della pinna) e la porzione caudale, dividendo i pesci lungo il piano sagittale nelle due parti e separando la colonna vertebrale. La resa in filetti è stata calcolata come rapporto percentuale tra il peso dei due filetti comprensivo della pelle e il peso vivo.

Con queste informazioni è stato possibile calcolare i seguenti indici somatici e rese:

- Indice Viscerosomatico/Viscerosomatic Index (IVS o VSI) =  $\frac{\text{peso pacchetto viscerale}}{\text{peso totale}} * 100$
- Indice Epatosomatico/Hepatosomatic Index (IES o HSI) =  $\frac{\text{peso fegato}}{\text{peso totale}} * 100$
- Resa Carcassa (RC) =  $\frac{\text{peso carcassa eviscerata}}{\text{peso totale}} * 100$
- Resa Filetti (RF) =  $\frac{\text{peso dei due filetti}}{\text{peso totale}} * 100$

L'indice epatosomatico viene spesso utilizzato per identificare una risposta dell'organismo ad uno stress non specifico (Perin , 2004).



**Figura 19** – Rappresentazione delle carcasse sfilettate suddivise per numero di spolpo.



## Determinazione del colore e del pH del filetto

Il colore è stato valutato sul filetto dei pesci mediante colorimetro Minolta Spectrophotometer CM-508 C (Minolta, Milano). Il colore è stato espresso secondo il metodo CieLab (1976) per luminosità ( $L^*$ ), indice del rosso ( $a^*$ ) e indice del giallo ( $b^*$ ).

Le misure sono state eseguite su aree di diametro pari a 8 mm in cinque punti del corpo:

- tre in posizione dorsale (anteriore, mediana e posteriore);
- due in posizione ventrale (anteriore e posteriore).

Le misurazioni effettuate sono state riportate come medie delle misure dorsali e di quelle ventrali.

Il pH muscolare dei pesci è stato determinato tramite incisione del muscolo e misura con pHmetro Crison Basic 20 (Crison Instruments S.A., Alella Spagna) con sonda termica Crison (A.T.C. probe immersion) combinato con elettrodo per campioni semisolidi cat. 52.32.

## Liofilizzazione del filetto e determinazione delle caratteristiche chimiche

I filetti freschi sono stati macinati e posti in vaschette di alluminio in modo tale da formare uno strato omogeneo dello spessore di circa 1,5 cm.

I campioni sono stati poi congelati alla temperatura di  $-20^{\circ}\text{C}$  e successivamente sono stati sottoposti ad essiccazione mediante liofilizzazione.

I campioni liofilizzati sono stati nuovamente macinati con Grindomix e analizzati per determinare la composizione chimica tipo (contenuto di umidità residua, estratto etereo, proteina grezza e ceneri) secondo metodiche AOAC (2000) e il contenuto di minerali tramite ICP.

## Analisi statistica

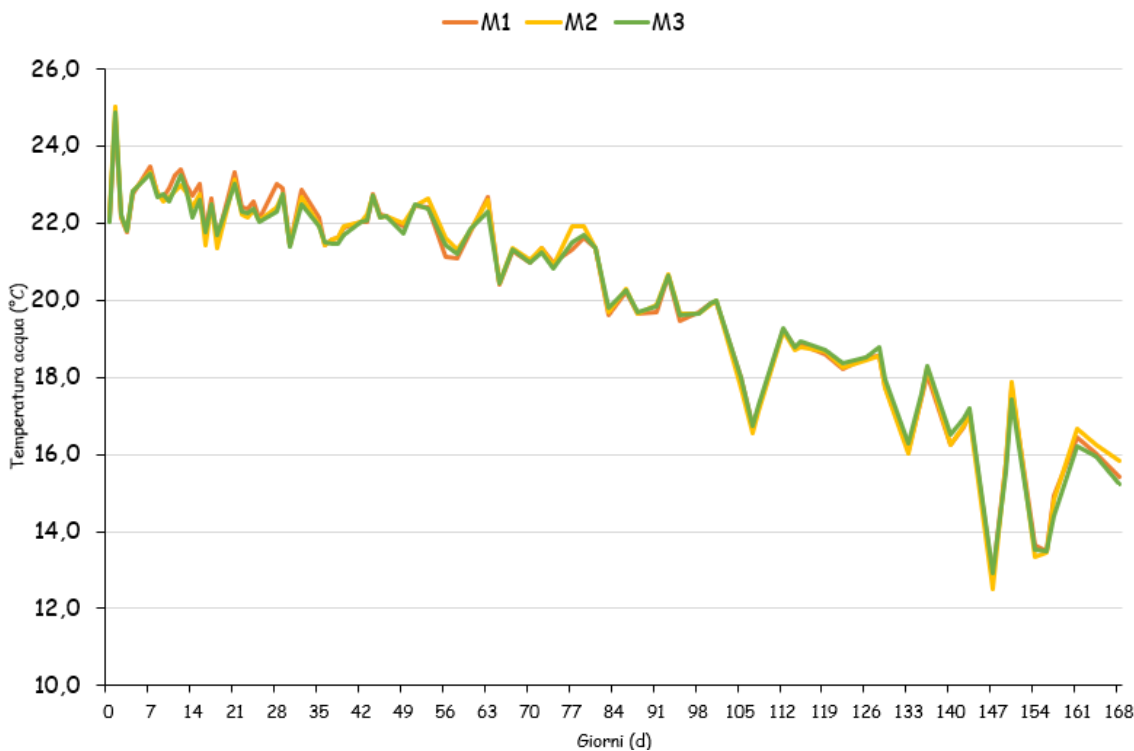
L'elaborazione statistica dei dati individuali di peso vivo e accrescimento dei pesci, così come i dati di rese di macellazione e composizione chimica dei filetti, è stata effettuata mediante analisi della varianza (ANOVA) utilizzando la procedura PROC MIXED (SAS, 2013) e considerando come fattore principale il trattamento alimentare e come effetto random la vasca. L'elaborazione statistica dei dati relativi a consumo alimentare e indice di conversione e le caratteristiche dell'acqua, riferiti alla singola unità sperimentale, è stata effettuata mediante ANOVA utilizzando la PROC GLM (SAS, 2013) e considerando come fattore principale il trattamento alimentare. I dati di produzione in parte edibile delle lattughe sono stati elaborati con a PROC GLM e considerando come fattore principale il trattamento alimentare del pesce.

Differenze tra le medie con  $P < 0,05$  sono state considerate statisticamente significative.

## Risultati e Discussione

### Qualità dell'acqua

Nel corso della prova sperimentale la temperatura dei sistemi (Figura 20) è variata da un minimo di 12,5°C ad un massimo di 25°C, rimanendo comunque all'interno di un range che ha garantito la salute e la possibilità di sviluppo sia dei pesci che delle lattughe.



**Figura 20** – Andamento della temperatura media dei sistemi idroponici nel periodo di studio.

In media durante la prova sperimentale sono stati aggiunti 11,4 L di acqua al giorno in ogni sistema, che rispetto alla capacità idrica complessiva pari a 1025 L, corrispondono all'1,11%. Questi risultati confermano l'utilizzo molto efficiente della risorsa idrica nell'acquaponica come sistema integrato per l'allevamento ittico e la coltivazione fuori suolo.

La concentrazione di ossigeno disciolto (OD) è stata mantenuta mediamente a concentrazioni elevate (Figura 21) e sono stati soddisfatti i fabbisogni dei pesci allevati. In generale, il limite raccomandato per i livelli di OD nell'allevamento ittico è di 6 ppm per i pesci d'acqua fredda e di 4 ppm per i pesci d'acqua calda. È noto anche che la solubilità dell'ossigeno in acqua diminuisce con l'aumentare della temperatura (Yildiz, et al., 2017), pertanto il periodo più delicato è stato sicuramente quello estivo, che come si può osservare graficamente (dal giorno 30 al giorno 110) ha determinato un leggera flessione verso il basso della tendenza.



**Figura 21** – Andamento dell'ossigeno disciolto (OD) in funzione della dieta somministrata.

La media della concentrazione di OD è risultata simile in tutti i sistemi e pari a 8,0 mg/L, in quanto:

- sono state aggiunte le pietre porose collegate agli aeratori in ogni vasca;
- la densità di allevamento era simile in ogni vasca, in quanto a inizio prova le vasche erano state riequilibrate in base al peso dei pesci.

È noto che nell'ambiente acquatico l'ammoniaca è presente in due forme distinte e in equilibrio, ovvero ammoniaca non ionizzata e ammonio ionizzato. L'equilibrio tra  $NH_3$  e  $NH_4^+$  varia principalmente in funzione alla temperatura e alla concentrazione di ioni idrogeno, ovvero del pH (Yildiz, et al., 2017).

In generale, lo ione nitrato (prodotto finale della nitrificazione) non è tossico, tranne a concentrazioni molto elevate (oltre i 300 ppm). Tuttavia, nell'acquaponica i composti azotati dovrebbero sempre essere valutati in relazione al fattore vegetazione, in quanto nitrato e ammonio sono le forme di azoto comunemente assorbite dalle piante (Yildiz, et al., 2017).

Il pH dell'acqua nel primo mese di allevamento era molto simile in tutti i trattamenti attestandosi su valori medi pari a 8,5, dopodiché è sceso gradualmente fino a 7 - 7,5 (Figura 22). La stabilizzazione del pH è necessaria nei sistemi acquaponici, perché esso tende a diminuire influenzato dal processo di nitrificazione, che aumenta gli ioni  $H^+$  e  $NO_3^-$  nel sistema. La maggior parte delle piante richiede

un pH compreso tra 5,5 e 6,5 per migliorare l'assorbimento dei nutrienti. Mentre il pH ottimale delle tre principali popolazioni batteriche è pari a:

- 7,5 per i *Nitrobacter*;
- 7,0 – 7,5 per i *Nitrosomonas*;
- 8,0 – 8,3 per i *Nitrospira*.

La tolleranza dei pesci ai cambiamenti di pH, in funzione della specie e delle loro dimensioni, varia da 6,5 a 8,5 (Yildiz, et al., 2017).



**Figura 22** – Andamento del pH nei sistemi acquaponici in funzione della dieta somministrata.

Valori del pH maggiori a 7,0 riducono la solubilità dei micronutrienti e del fosforo, mentre bassi livelli di pH dell'acqua nei sistemi acquaponici influenzano negativamente il benessere dei pesci. Il fosforo (P) in acquacoltura non è incluso nei parametri di qualità dell'acqua, e non ha un impatto sulla salute e sul benessere dei pesci.

In generale, i parametri di qualità dell'acqua tollerabili dai pesci rientrano nello stesso intervallo delle piante, fatta eccezione per la temperatura dell'acqua e per il pH.

Di seguito il grafico che rappresenta l'andamento della concentrazione dei nitrati (Figura 23) nel corso della prova sperimentale. La concentrazione di nitrati è aumentata fino ai 70 giorni dall'inizio della prova, ha mantenuto una concentrazione tendenzialmente stabile fino ai 140 giorni e poi ha evidenziato un calo.



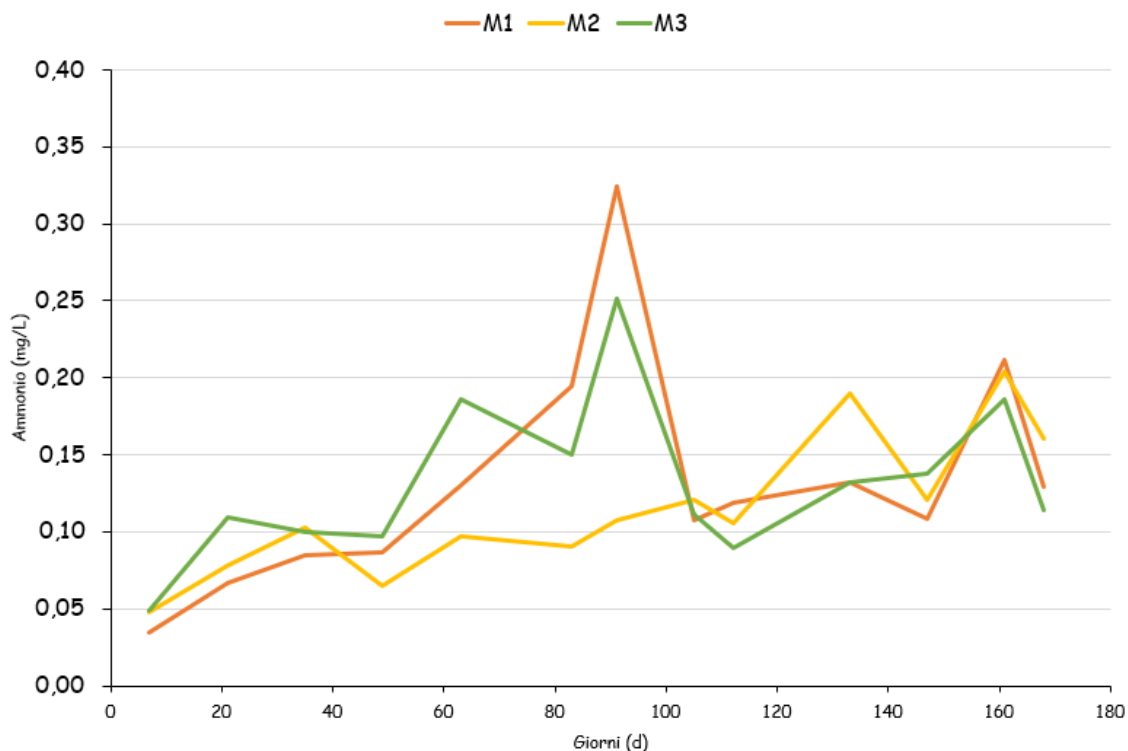
**Figura 23** - Andamento della concentrazione dei nitrati in funzione della dieta somministrata.

Di seguito il grafico che rappresenta l'andamento della concentrazione di ammonio (Figura 24) nel corso della prova sperimentale, che è risultata molto variabile tra i tre trattamenti. In particolare, i trattamenti M1 e M3 hanno evidenziato un picco a 90 giorni dall'inizio della prova sperimentale, e un secondo picco al 160 giorno, assieme al trattamento M2.

Le concentrazioni di nitriti, nitrati e ammonio rilevate sono aumentate progressivamente, ma comunque rientravano in un range considerato sicuro per la salute dei pesci (Goddek, Joyce, Kotzen, & Burnell, 2019).

La scarsa concentrazione di ammonio ( $NH_4^+$ ) dimostra l'efficienza dell'attività del biofiltro nel portare a termine una corretta nitrificazione (Lekang & Kleppe, 2000; Tyson, Simonne, White, & Lamb, 2004). Tutti i minerali che non sono stati rimossi dal sistema possono essere considerati rifiuti (Cripps & Bergheim, 2000). I composti contenuti nel mangime vengono digeriti, assorbiti e utilizzati nei processi metabolici e trattenuti in diverse misure nel corpo dei pesci, ma 2/3 di essi vengono espulsi durante la crescita (Edwards, 2015). Mangime non consumato, escrementi, sostanze chimiche e terapeutiche, componenti disciolti come nutrienti a base di fosforo e azoto e solidi sospesi, sono alcuni esempi dei principali rifiuti prodotti dall'acquaponica (Losordo & Westers, 1994). Alcuni autori

hanno proposto un intervallo dal 10% al 30% di rifiuti costituito dal solo cibo non consumato proveniente dall'acquacoltura intensiva (Hoelzi & Vens-Cappell, 1980; Penczak, Galicka, Molinski, Kusto, & Zalewski, 1982).



**Figura 24** - Andamento della concentrazione di ammonio in funzione della dieta somministrata.

È noto anche che la principale perdita di fosforo nei pesci avviene tramite feci. Negli ultimi anni però, grazie alla miglior disponibilità di fosforo e proteine nelle diete, sono stati ridotti significativamente i solidi fecali ed è stata migliorata l'efficienza alimentare (Cripps & Bergheim, 2000).

I solidi sospesi hanno un impatto diretto sulla salute dei pesci, in particolare nei sistemi a ciclo chiuso come i RAS (sistemi di acquacoltura a ricircolo) caratterizzati dall'accumulo di particolato fine (Patterson, Watts, & Timmons, 1999). Alcuni studi condotti soprattutto nei salmonidi, evidenziano gli effetti negativi conseguenti ai livelli elevati di solidi sospesi sulla salute dei pesci, come per esempio abrasione meccanica e intasamento o rivestimento delle branchie, con conseguente tosse e stress respiratorio, diminuzione dell'alimentazione, maggior suscettibilità alle malattie, e aumento della mortalità (Bruton, 1985; Redding, Schreck, & Everest, 1987; Newcombe & MacDonald, 1991; Servizi & Martens, 1991; Martens & Servizi, 1993; Metzeling, Doeg, & O'connor, 1995; Hughes & Morgan, 1973; Servizi & Gordon, 1990).

Una concentrazione di solidi sospesi da centinaia a centinaia di migliaia di mg/L può essere letale, mentre concentrazioni comprese nell'intervallo da decine a centinaia di mg/L sono generalmente subletali (Lake & Hinch, 1999). L'aumento del numero di globuli rossi, dell'ematocrito e della concentrazione di emoglobina, come descritto nella revisione di Wilber e Clarke, sono le risposte subletali comunemente riscontrate (Wilber & Clarke, 2001).

Di seguito l'andamento della torbidità (NTU – Nephelometric Turbidity Unit) riscontrato in questo studio (Figura 25), ovvero una misura del grado di perdita di limpidezza dell'acqua causata da sostanze in sospensione che disperdono o assorbono la luce che la attraversa.



**Figura 25** – Andamento della torbidità (NTU) nei sistemi acquaponici in funzione della dieta somministrata.

L'insufficiente rimozione dei rifiuti solidi è responsabile di oltre l'85% del fallimento dei sistemi acquaponici, infatti, anche le piante e i substrati sono influenzati negativamente, a causa dell'ostruzione sulle radici e dell'aumento della richiesta di ossigeno con il conseguente rischio di produzione di idrogeno solforato e metano (Thorarinsdottir, 2015).

In acquaponica, è importante massimizzare i tassi di riciclo di fosforo e azoto e soddisfare i requisiti di qualità dei prodotti risultanti come la biomassa vegetale e l'acqua effluente, senza dimenticare il benessere dei pesci allevati.



## Prestazioni produttive dei pesci

Per quanto riguarda l'effetto della composizione della dieta sulle prestazioni produttive dei pesci non si sono riscontrate differenze significative dal punto di vista statistico come si può evincere nella Tabella 1.

Le prestazioni produttive dei pesci allevati sono state in media molto modeste, in particolare:

- ✓ a fine prova i pesci hanno raggiunto un peso vivo medio individuale pari a 241,94 g, avendo un aumento di peso giornaliero (DWG) medio pari a 0,502 g/d e un tasso di accrescimento specifico (SGR) medio pari a 0,362 %/d;
- ✓ il fattore di condizione (K) medio iniziale era di 1,374 e quello medio a fine prova si è assestato a 1,472;
- ✓ mortalità media sistemi M1, M2 e M3 = 5,75%;

**Tabella 1** - Effetto dell'integrazione della dieta con pre-mix minerale sulle prestazioni produttive di pesci persico trota.

	Tipologia di dieta			Radice	<i>P-value</i>
	M1	M2	M3	MSE	
Pesci totali iniziali, n°	57	58	59		
Vasche pesci, n°	3	3	3		
Pesci per vasca, n°	18/20	19/20	19/21		
<i>Peso vivo medio individuale, g</i>					
0 d (inizio prova)	130,40	133,04	131,43	27,699	0,889
28 d	146,06	148,04	146,42	29,473	0,936
63 d	193,12	193,87	192,00	36,093	0,965
122 d	226,26	228,25	222,13	41,055	0,739
170 d (macellazione)	242,20	245,21	238,49	44,269	0,739
<i>Condition factor (FC o K), %</i>					
0 d	1,380	1,374	1,369	0,096	0,833
28 d	1,383	1,364	1,364	0,103	0,558
63 d	1,462	1,456	1,452	0,094	0,869
122 d	1,512	1,511	1,494	0,099	0,576
170 d	1,499	1,459	1,460	0,109	0,109
<i>Daily weight gain (DWG), g/d</i>					
0-28 d	0,559	0,536	0,535	0,203	0,791
28-63 d	1,343	1,309	1,302	0,280	0,744
63-122 d	0,560	0,583	0,511	0,159	0,063
122-170 d	0,331	0,353	0,341	0,130	0,675
0-170 d	0,515	0,506	0,486	0,080	0,174
<i>Specific growth rate (SGR), %/d</i>					
0-28 d	0,418	0,386	0,390	0,146	0,493
28-63 d	0,806	0,781	0,782	0,128	0,526
63-122 d	0,269	0,280	0,249	0,061	0,034
122-170 d	0,142	0,150	0,148	0,047	0,660
0-170 d	0,368	0,364	0,353	0,043	0,190

**Tabella 1 – Continua.**

	Tipologia di dieta			Radice	<i>P-value</i>
	M1	M2	M3	MSE	
<i>Consumo medio del mangime per pesce (C)</i>					
0-28 d	0,832	0,828	0,815	0,036	0,848
28-63 d	1,558	1,567	1,604	0,026	0,147
63-122 d	1,109	1,084	1,106	0,028	0,524
122-170 d	1,295	1,274	1,277	0,058	0,888
0-170 d	1,209	1,195	1,209	0,030	0,810
<i>Indice di conversione</i>					
0-28 d	1,571	1,607	1,537	0,230	0,934
28-63 d	1,184	1,233	1,262	0,054	0,270
63-122 d	2,022	1,944	2,280	0,206	0,194
122-170 d	3,996	3,743	4,028	0,556	0,796
0-170 d	1,865	1,869	1,992	0,108	0,332

MSE = mean square error.

In merito all'effetto della composizione della dieta sulle dimensioni e sugli indici morfometrici non si sono riscontrate differenze significative dal punto di vista statistico come si può evincere nella tabella 2 di seguito riportata.

**Tabella 2 - Effetto dell'integrazione della dieta con pre-mix minerale su dimensioni e indici morfometrici dei pesci persico trota.**

	Tipologia di dieta			Radice	<i>P-value</i>
	M1	M2	M3	MSE	
<i>Lunghezza totale (LT), cm</i>	25,64	25,98	26,05	1,318	0,526
<i>Lunghezza standard (Lstd), cm</i>	21,79	21,76	21,70	1,123	0,955
<i>Lunghezza testa (Ltest), cm</i>	7,23	7,25	7,26	0,420	0,956
<i>Altezza massima (Hmax), cm</i>	6,73	6,70	6,73	0,421	0,956
<i>Profilo relativo (RelProf)</i>	0,263	0,258	0,259	0,011	0,266
<i>Indice craniale (CraIndx)</i>	0,282	0,279	0,279	0,013	0,705

## Risultati di macellazione e qualità della carne dei pesci

I risultati di macellazione dei pesci, ovvero resa e pH, e i dati relativi alla carcassa eviscerata, ovvero peso, resa, viscerosomatic index e hepatosomatic index, non hanno evidenziato differenze significative dal punto di vista statistico in funzione delle tre diverse diete somministrate (Tabella 3).

**Tabella 3** - Effetto dell'integrazione della dieta con pre-mix minerale su risultati di macellazione dei pesci persico trota.

	Tipologia di dieta			Radice MSE	P-value
	M1	M2	M3		
<i>Carcassa</i>					
Peso carcassa, g	220,40	216,71	210,21	41,1	0,522
Resa carcassa, %	88,53	87,95	88,42	4,259	0,813
Viscerosomatic Index (VSI/IVS), %	6,66	6,56	6,68	2,409	0,970
<i>Fegato</i>					
Hepatosomatic Index (HSI/IES), %	2,89	2,80	2,81	0,69	0,814
<i>Filetti</i>					
Resa filetti, %	36,07	37,81	37,43	4,941	0,443
pH	6,37	6,30	6,36	0,113	0,209

IVS = Indice Viscerosomatico; IES = Indice Epatosomatico

Il trattamento alimentare non ha influito nemmeno sulla composizione chimica delle carni dei pesci, che infatti hanno ottenuto valori medi simili come si può evincere dalla tabella di seguito riportata (Tabella 4).

Le prestazioni produttive dei pesci allevati, mediamente modeste e molto simili, giustificano l'assenza di differenze significative dal punto di vista statistico anche nei risultati di macellazione, nella qualità e nella composizione chimica dei filetti.

**Tabella 4** - Effetto dell'integrazione della dieta con pre-mix minerale sulla composizione chimica dei filetti dei pesci persico trota.

	Tipologia di dieta			Radice MSE	P-value
	M1	M2	M3		
Sostanza secca, %	24,49	24,63	24,50	0,856	0,907
Proteina grezza, %	19,64	19,42	19,62	0,399	0,343
Estratto etereo, %	3,28	3,63	3,28	1,055	0,642
Ceneri, %	1,35	1,37	1,39	0,075	0,481

I risultati della composizione minerale dei filetti dei pesci però non hanno evidenziato differenze significative dal punto di vista statistico in funzione delle tre diverse diete somministrate, tranne per il selenio (Se) e per lo iodio (I) che sono aumentati in modo significativo ( $P < 0,05$ ) all'aumentare dell'inclusione di pre-mix minerale nella dieta (Tabella 5).

**Tabella 5** - Effetto dell'integrazione della dieta con pre-mix minerale sulla composizione minerale dei filetti dei pesci persico trota.

	Tipologia di dieta			Radice MSE	P-value
	M1	M2	M3		
Calcio (Ca), mg/kg	427,05	567,95	445,39	202,13	0,194
Rame (Cu), mg/kg	0,266	0,245	0,254	0,030	0,238
Ferro (Fe), mg/kg	2,89	2,46	2,43	1,11	0,520
Potassio (K), mg/kg	3131,05	3151,01	3120,23	115,06	0,803
<b>Iodio (I)</b> , mg/kg	1,90 <sup>b</sup>	3,29 <sup>ab</sup>	4,10 <sup>a</sup>	1,93	0,028
Magnesio (Mg), mg/kg	410,02	413,06	411,90	14,43	0,874
Manganese (Mn), mg/kg	0,248	0,282	0,246	0,103	0,630
Sodio (Na), mg/kg	684,51	656,45	657,49	67,032	0,516
Fosforo (P)mg/kg	2643,53	2704,17	2633,13	95,237	0,159
Zolfo (S), mg/kg	2353,39	2259,17	2361,20	107,898	0,048
<b>Selenio (Se)</b> , mg/kg	0,345 <sup>c</sup>	0,384 <sup>b</sup>	0,416 <sup>a</sup>	0,051	0,007
Zinco (Zn), mg/kg	4,12	4,06	4,186	0,235	0,443

I dati sui possibili effetti dell'integrazione alimentare o delle carenze dei minerali (Fe, Se, Zn, Mn) sul sistema immunitario dei pesci e sulla loro resistenza alle malattie sono pochi e a volte poco coerenti. Le interazioni tra i diversi micronutrienti possono essere responsabili di queste differenze, ma ad oggi pochi studi hanno analizzato l'effetto delle interazioni tra vitamine e/o minerali in vitro e in vivo sul sistema immunitario dei pesci (Hung, Tu, & Wang, 2007, p. a; Hung, Tu, & Wang, 2007, p. b; Sealey & Gatlin III, 2002).

La composizione minerale dei filetti dei pesci oggetto di studio non è variata in modo significativo, in quanto probabilmente i fabbisogni minerali erano già stati soddisfatti, pertanto, i microelementi e gli oligoelementi in eccesso sono stati escreti nell'acqua delle vasche di allevamento.

Un altro aspetto da prendere in considerazione è la biodisponibilità dei minerali forniti, infatti, alcuni studi condotti da Henry et al. nel 2020 sui branzini evidenziano che il ferro di origine vegetale sia meno biodisponibile rispetto al Fe presente nella farina di pesce, per cui si potrebbe fornire una miscela di micronutrienti (Nutrient Package - NP) con un maggior contenuto di ferro, più vicino ai

livelli raccomandati dall'UE (180 - 387 mg/kg di Fe dietetico rispetto ai 750 mg/kg autorizzati). Per quanto riguarda manganese (Mn) e selenio (Se), i crescenti livelli dietetici non si sono tradotti in un aumento significativo dell'incorporazione corporea di questi minerali. Inoltre, i livelli di Mn erano più alti di quelli riscontrati nei pesci alimentati con farina di pesce, suggerendo che Mn potrebbe essere stato in eccesso in tutte le diete integrate, e quindi che l'integrazione potrebbe non essere necessaria nello specifico per il branzino per quanto riguarda queste specie minerali (Henry, et al., 2020).

Henry et al. nel 2020 hanno anche dimostrato che basse dosi di micronutrienti sono necessarie per ottenere crescita e salute ottimali dei pesci, mentre con dosi elevate i metalli trasportati dalla dieta possono accumularsi in diversi tessuti, e generare tossicità cronica attraverso l'interruzione dei meccanismi ionoregolatori e respiratori, provocando stress ossidativo e interrompendo le funzioni sensoriali con possibili effetti negativi sullo sviluppo dei pesci (Prabhu, Schrama, & Kaushik, 2016; Bury, Walker, & Glover, 2003; Wood, 2011). Questo meccanismo dose-risposta a campana (o modello quadratico) ai minerali essenziali è dimostrato nei vertebrati, invece, nei pesci non è stata ancora chiaramente evidenziata (Wood, 2011).

Livelli di "Nutrient Package – NP" (miscela di micronutrienti composta da vitamine, minerali e altri micronutrienti) superiori al 100% non generano un miglioramento significativo nella crescita o nella salute dei pesci (Henry, et al., 2020).

In uno studio di Ramalho Ribeiro et al. nel 2017 le trote sono state alimentate con integratori di "Laminaria digitata" (dieta LAM), una macroalga ricca di iodio (strategia di fortificazione con iodio), ed è stato evidenziato un aumento significativo del contenuto di iodio nei loro filetti, in particolare è stato osservato un aumento di sei volte rispetto ai livelli di iodio riscontrati nelle trote alimentate regolarmente. Lo ioduro ( $I^-$ ), predominante nelle macroalghe, ha una maggiore biodisponibilità rispetto ad altri composti inorganici, questo comporta un miglioramento della digeribilità, dell'assorbimento e della ritenzione nei pesci (Doucha, Lívanský, Kotrbáček, & Zachleder, 2009; Ramalho Ribeiro, et al., 2017; Cotter, McLean, & Craig, 2009; Kouba, Velíšek, Stará, Masojídek, & Kozák, 2014).

Ramalho et al. nel loro studio hanno anche aumentato la quantità di selenio nel mangime fornito ai pesci, da 0,25 mg/kg ai massimi livelli approvati dal mercato europeo (0,5 mg/kg), con un lievito selenizzato (dieta SE), ovvero lievito arricchito di selenio, ottenendo un aumento di 2,9 volte del contenuto di selenio nei filetti di trota (Ramalho Ribeiro, et al., 2017). Per cui l'utilizzo di fonti organiche di selenio (lievito selenizzato) è stato vantaggioso, in quanto il selenio legato in modo

organico si è rivelato più biodisponibile rispetto alle fonti inorganiche utilizzate negli studi sull'arricchimento della trota iridea (Küçükbay, et al., 2009; Rider, et al., 2009). Il contributo nutrizionale giornaliero di una porzione di filetto da 160 g è stato aumentato dal 34% al 98%, considerando un apporto giornaliero adeguato di selenio di 70 µg, come recentemente stabilito dall'EFSA. Uno dei principali risultati di questo studio, infatti, è stato quello di stabilire l'uso dietetico del lievito selenizzato come strategia efficace e naturale per arricchire i filetti arcobaleno in selenio. L'uso di fonti naturali di oligoelementi, in sostituzione dei sali minerali inorganici nei mangimi per pesci, rientra perfettamente nella dimensione di allevamento sostenibile e privo di sostanze chimiche, che è uno degli aspetti principali dei sistemi di acquaponica. Ad oggi questi sistemi consentono di riqualificare prodotti e sottoprodotti di materia organica non adatti all'utilizzo per altri scopi, come per esempio insetti, vermi allevati, macro e microalghe, idrolizzati di pesce, nuove piante prodotte in agroecologia, ecc., riducendo in questo modo l'impatto ambientale, sviluppando una generazione di rifiuti zero, ma con una produzione alimentare di qualità (pesce e piante). Per di più l'acquaponica promuove un modo multidisciplinare di apprendere sulla produzione sostenibile e sulla valorizzazione delle risorse biologiche.

Il rame (Cu) è un metallo essenziale coinvolto in diversi enzimi che intervengono principalmente nella difesa contro le reazioni di ossidazione, incluso il superossido dismutasi (SOD) a Cu/Zn, ovvero una classe di metalloenzimi che catalizzano la dismutazione dell'anione superossido in ossigeno molecolare e perossido di idrogeno, attraverso reazioni di ossido-riduzione che coinvolgono lo ione rame del sito attivo. Ma il rame partecipa anche alla produzione di energia a livello cellulare, alla neurotrasmissione, alla sintesi del collagene e alla produzione di melanina. Bassi livelli di rame possono ridurre l'efficienza alimentare e la crescita, mentre per quanto riguarda la sua tossicità provoca danni alle branchie e necrosi epatica e renale (Hardy & Kaushik, 2021; Tang, et al., 2013; Watanabe, Kiron, & Satoh, 1997).

Il ferro (Fe) è implicato nel trasporto di elettroni, nel trasferimento di ossigeno e nella respirazione cellulare, e ha una grande importanza nell'emoglobina. Il ferro può essere parzialmente assorbito anche dalle branchie, anche se la maggior parte viene assimilata dall'intestino. La carenza provoca anemia, basso ematocrito e riduzione della sua concentrazione nel plasma, mentre l'eccesso comporta una crescita ridotta, mortalità e diarrea (Hardy & Kaushik, 2021; Watanabe, Kiron, & Satoh, 1997; Bury & Grosell, 2003).

Il manganese (Mn) è un metallo di transizione essenziale per la vita, che agisce come cofattore per i metalloenzimi essenziali coinvolti nello sviluppo della matrice organica dell'osso (McDowell, 2003).

La sua carenza riduce l'attività del superossido dismutasi del Mn (MnSOD) nei tessuti dei pesci e il livello di Mn, Ca e Na nelle vertebre (Knox, Cowey, & Adron, 1981). L'eccesso invece, può influenzare l'immunità intestinale, che è fondamentale soprattutto nei pesci marini per una corretta regolazione degli ioni.

Lo zinco (Zn) è un cofattore necessario per molti processi metabolici nei pesci ed è compreso nei 20 metalloenzimi coinvolti nel metabolismo di lipidi, carboidrati e proteine. Lo zinco è fondamentale per le componenti strutturali come ossa, pelle e squame, nella regolazione dello stress ossidativo e dell'immunità, e interviene nei processi riproduttivi. Inoltre, lo Zn è implicato nella formazione e mineralizzazione delle ossa attivando le cellule osteoblastiche e inibendo il riassorbimento osseo osteoclastico (Yamaguchi, 1998). La sua carenza nei pesci comporta un rallentamento della crescita, cataratta, erosione della pelle e delle pinne e nanismo (Watanabe, Kiron, & Satoh, 1997). Anche lo Zn generalmente viene assorbito da branchie e intestino, ma la presenza di chelanti o sostanze competitive possono alterare la sua disponibilità, come per esempio calcio, fosfati, elevata salinità dell'acqua e pH acido (Bury, Walker, & Glover, 2003; Zhang & Wang, 2007; Zhang & Wang, 2007). La tossicità dello zinco è stata poco studiata, ma verosimilmente il suo effetto tossico più importante è collegato all'inibizione dell'assorbimento del calcio, in quanto condividono gli stessi canali di trasporto (Hogstrand, Verbost, Bonga, & Wood, 1996; Alsop & Wood, 1999; Hansen, Welsh, Lipton, Cacula, & Dailey, 2002).



## Produzione e resa delle lattughe

Per quanto riguarda la resa ottenuta dalle specie orticole coltivate (Tabella 6) si sono riscontrate differenze significative dal punto di vista statistico in funzione della dieta somministrata nei cicli 1+2+3 e 1+2+3+4, dove il trattamento M2 ha fatto registrare valori più elevati rispetto ai trattamenti M1 ed M3.

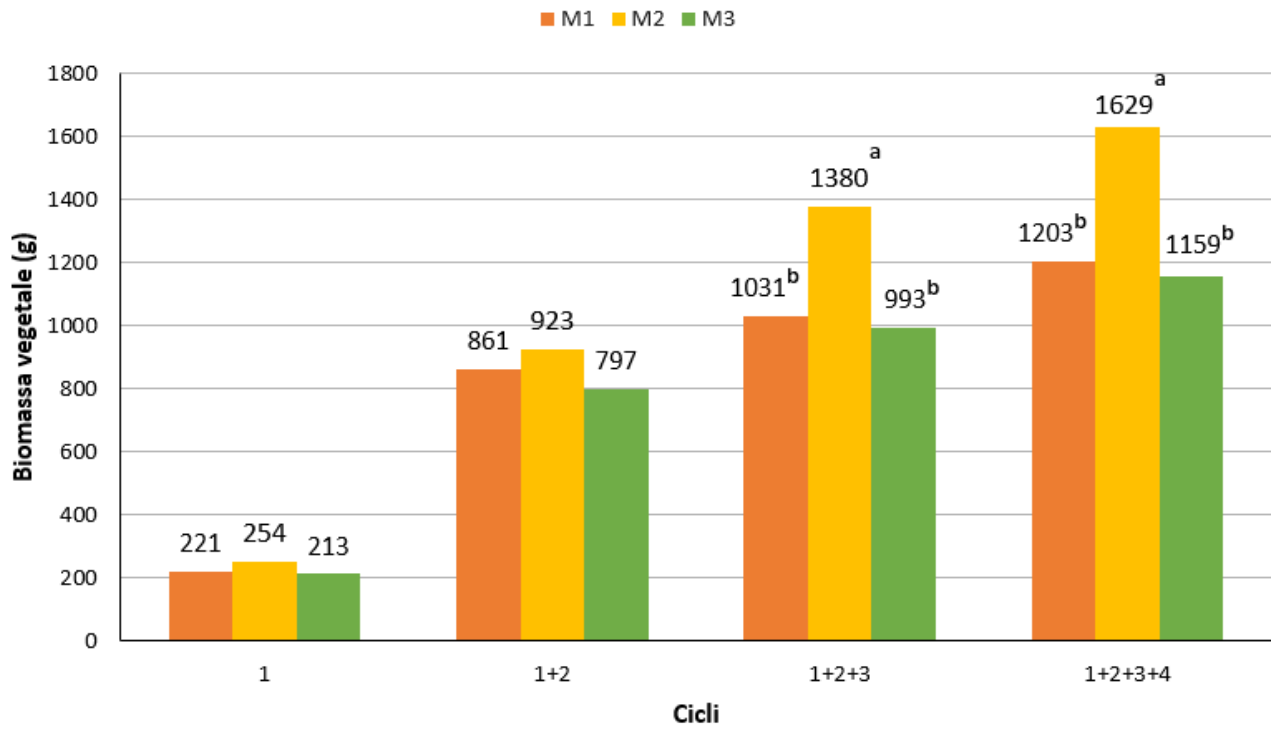
**Tabella 6** - Effetto della dieta somministrata ai pesci sulla biomassa vegetale.

	Tipologia di dieta			Radice MSE	P-value
	M1	M2	M3		
Colonne per sistema, n°	9	9	9		
Sistemi per trattamento, n°	3	3	3		
Colonne totali per trattamento, n°	27	27	27		
Piante lattuga per trattamento, n°	216	216	216		
<i>Biomassa ciclo 1, grammi (g)</i>	238,77	254,42	213,34	91,69	0,2581
<i>Biomassa cicli 1+2, g</i>	861,49	923,32	797,26	263,23	0,2191
<i>Biomassa cicli 1+2+3, g</i>	1031,13 <sup>b</sup>	1379,59 <sup>a</sup>	992,62 <sup>b</sup>	375,05	0,0004
<i>Biomassa cicli 1+2+3+4, g</i>	1202,98 <sup>b</sup>	1628,57 <sup>a</sup>	1158,97 <sup>b</sup>	462,69	0,0005

Nel ciclo 1 con durata dal 3 luglio 2023 al 10 agosto 2023 è stata coltivata lattuga gentile, mentre nel ciclo 2 con durata dal 10 agosto 2023 all'11 settembre 2023 è stata coltivata lattuga canasta. Stessa varietà è stata coltivata anche nel ciclo 3 con durata dal 11 settembre 2023 al 19 ottobre 2023, invece nel ciclo 4 (ultimo) con durata dal 19 ottobre al 22 dicembre 2023 è stata coltivata nuovamente lattuga gentile.

Le rese delle lattughe sono state rappresentate come "rese cumulate" (ad esempio "Biomassa cicli 1+2+3" e "Biomassa cicli 1+2+3+4"), poiché in termini agronomici i risultati ottenuti sono stati modesti. Il valore riportato in tabella di ogni ciclo rappresenta la somma del peso delle 8 piante coltivate in ogni colonna, in modo tale da avere la produzione media totale delle colonne di ogni ciclo.

Dai risultati ottenuti (Figura 26) le differenze significative dal punto di vista statistico sono state riscontrate nel trattamento M2 (pre-mix al 1,4%), in particolare nelle rese cumulate della biomassa dei cicli 1+2+3 e 1+2+3+4.



**Figura 26** – Effetto sulla biomassa vegetale cumulata della dieta somministrata ai pesci.

## Conclusioni

Le attività svolte e i risultati ottenuti in questa tesi di laurea magistrale hanno permesso di conseguire l'obiettivo generale di contribuire a valutare l'impatto di dosi crescenti di micro-elementi su prestazioni e qualità di pesci persico trota (*Micropterus salmoides*) allevati in sistemi acquaponici e rafforzare gli studi sulla biofortificazione dei prodotti ittici con microelementi essenziali.

Dei microelementi presenti nel pre-mix minerale integrato a dosi pari a 0,7% (trattamento M1), 1,4% (trattamento M2) e 2,1% (trattamento M3) della dieta, solo iodio e selenio hanno mostrato un accumulo significativo nel filetto dei pesci all'aumentare del livello di integrazione del pre-mix nella dieta. D'altra parte, il trattamento alimentare non ha modificato le prestazioni produttive dei pesci e la mortalità registrata durante la prova.

Per quanto riguarda le lattughe, malgrado i modesti risultati ottenuti in termini di resa, sono state riscontrate differenze significative negli ultimi due cicli colturali. In entrambi i casi, i risultati migliori sono stati riscontrati nel trattamento M2.

In conclusione, i risultati del presente studio suggeriscono che la composizione del pre-mix minerale potrebbe essere rivista prevedendo un aumento della concentrazione di iodio e selenio in modo da promuovere la biofortificazione dei filetti con micro-elementi essenziali. In alternativa, una dose più elevata di integrazione di pre-mix minerale nel mangime (fino al 2,1%) rispetto a quella normalmente applicata (0,5 - 0,7%) potrebbe favorire lo stesso risultato senza alterare le prestazioni produttive e la salute dei pesci. Inoltre, in sistemi di acquaponica accoppiati, i micro-elementi non trattiene dal pesce verrebbero rilasciati nell'acqua e potrebbero essere disponibili per le piante.



## Bibliografia

- Alsop, D. H., & Wood, C. M. (1999). Influence of waterborne cations on zinc uptake and toxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Beveridge, M. C., Thilsted, S. H., Phillips, M. J., Metian, M., Troell, M., & Hall, S. J. (2013). Meeting the food and nutrition needs of the poor: the role of fish and the opportunities and challenges emerging from the rise of aquaculture. *Journal of Fish Biology*.
- Bielmyer, G. K., Bullington, J. B., DeCarlo, C. A., Chalk, S. J., & Smith, K. (2012, January 3-7). The effects of salinity on acute toxicity of zinc to two euryhaline species of fish, *Fundulus heteroclitus* and *Kryptolebias marmoratus*. *Integrative and Comparative Biology*, pp. 753-760.
- Birolo, M., Bordignon, F., Trocino, A., Fasolato, L., Pasquale, A., Godoy, S., . . . Xiccato, G. (2020). Effects of stocking density on the growth and flesh quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in a low-tech aquaponic system. *ScienceDirect*.
- Boglione, C., Gavaia, P., Koumoundouros, G., Gisbert, E., Moren, M., Fontagné, S., & Witten, P. E. (2013). Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 1: Normal and anomalous skeletogenic processes. *Reviews in Aquaculture*.
- Bruton, M. N. (1985). The effects of suspensoids on fish. *Perspectives in Southern Hemisphere Limnology: Proceedings of a Symposium, held in Wilderness, South Africa, July 3–13, 1984* (pp. 221-241). South Africa: Springer.
- Burk, R. F., & Hill, K. E. (2015). Regulation of selenium metabolism and transport. *Annual review of nutrition*.
- Bury, N. R., Walker, P. A., & Glover, C. N. (2003). Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of experimental biology*.
- Bury, N., & Grosell, M. (2003). Iron acquisition by teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*.
- Carsiotis, M., & Khanna, S. (1989). *Genetic engineering of enhanced microbial nitrification*. United States: United States Environmental Protection Agency.
- Cerozi, B. d., & Fitzsimmons, K. (2017). Phosphorus dynamics modeling and mass balance in an aquaponics system. *Agricultural Systems*.
- Comeau, Y. (2008). Microbial metabolism. *Biological wastewater treatment: principles, modeling and design, Cap*.

- Commissione europea. (2011). Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. 1-43. Retrieved from EU: [https://european-union.europa.eu/priorities-and-actions/actions-topic/food-safety\\_en](https://european-union.europa.eu/priorities-and-actions/actions-topic/food-safety_en)
- Cotter, P. A., McLean, E., & Craig, S. R. (2009). Designing fish for improved human health status. *Nutrition and health*.
- Cripps, S. J., & Bergheim, A. (2000). Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquacultural engineering*.
- Danaher, J. J., Shultz, R. C., Rakocy, J. E., & Bailey, D. S. (2013). Alternative solids removal for warm water recirculating raft aquaponic systems. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Delaide, B., Guillaume, D., Dermience, M., Gott, J., Soyeurt, H., & Jijakli, M. H. (2017). Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small-scale aquaponic system. *Aquacultural Engineering*.
- Doucha, J., Lívanský, K., Kotrbáček, V., & Zachleder, V. (2009). Production of Chlorella biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. *Applied microbiology and biotechnology*.
- Eales, J. G. (2019). The relationship between ingested thyroid hormones, thyroid homeostasis and iodine metabolism in humans and teleost fish. *General and comparative endocrinology*.
- Ebeling, J. m., & Timmons, M. B. (2013). *Recirculating aquaculture*. New York: Ithaca Publishing.
- Edwards, P. (2015). Aquaculture environment interactions: past, present and likely future trends. *Aquaculture*.
- Gatlin, D. M., & Wilson, R. P. (1984). Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. *The Journal of nutrition*.
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, O., Ragnarsdottir, K., Jijakli, H., & Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics. *Sustainable Agriculture* .
- Goddek, S., Joyce, A., Kotzen, B., & Burnell, G. (2019). *Acquaponics Food Production Systems: Combined Aquaculture and Hydroponic Production Technologies for the Future* (1st ed. 2019 ed.). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG. doi:10.1007/978-3-030-15943-6
- Graber, A., & Junge, R. (2009). Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production. *Desalination*.

- Handy, R. D. (1996). Dietary exposure to toxic metals in fish. *Seminar series-society for experimental biology* (pp. 29-60). Cambridge: Cambridge University Press.
- Hansen, J. A., Welsh, P. G., Lipton, J., Cacela, D., & Dailey, A. D. (2002). Relative sensitivity of bull trout (*Salvelinus confluentus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to acute exposures of cadmium and zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*.
- Hardy, R. W., & Kaushik, S. J. (2021). *Fish nutrition*. Academic press.
- Henry, M. A., Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Rigos, G., Kokou, F., & Karalazos, V. (2020). Dietary micronutrient supplementation in low fishmeal based diets for optimum growth and immune status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*.
- Hertrampf, J. W., & Piedad-Pascual, F. (2012). *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*. Springer Science & Business Media.
- Hilton, J. W., Hodson, P. V., & Slinger, S. J. (1980). The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of nutrition*.
- Hoelzi, A., & Vens-Cappell, B. (1980). Profitability of food-fish production in net cages. *Fisch. Teichwirt*.
- Hogstrand, C., Kille, P., Nicholson, R. I., & Taylor, K. M. (2009). Zinc transporters and cancer: a potential role for ZIP7 as a hub for tyrosine kinase activation. *Trends in molecular medicine*.
- Hogstrand, C., Verbost, P. M., Bonga, S. E., & Wood, C. M. (1996). Mechanisms of zinc uptake in gills of freshwater rainbow trout: interplay with calcium transport. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*.
- Hogstrand, C., Wilson, R. W., Polgar, D., & Wood, C. M. (1994). Effects of zinc on the kinetics of branchial calcium uptake in freshwater rainbow trout during adaptation to waterborne zinc. *Journal of Experimental Biology*.
- Hughes, G. M., & Morgan, M. (1973). The structure of fish gills in relation to their respiratory function. *Biological reviews*.
- Hung, S.-W., Tu, C.-Y., & Wang, W.-S. (2007). In vitro effects of singular or combined anti-oxidative vitamins and/or minerals on tilapia (*Oreochromis hybrids*) peripheral blood monocyte-derived, anterior kidney-derived, and spleen-derived macrophages. *Fish & Shellfish Immunology*.
- Hung, S.-W., Tu, C.-Y., & Wang, W.-S. (2007). In vivo effects of adding singular or combined anti-oxidative vitamins and/or minerals to diets on the immune system of tilapia (*Oreochromis*

hybrids) peripheral blood monocyte-derived, anterior kidney-derived, and spleen-derived macrophages. *Veterinary immunology and immunopathology*.

- Janz, D. M., DeForest, D. K., Brooks, M. L., Chapman, P. M., Gilron, G., Hoff, D., . . . Palace, V. P. (2012). Selenium toxicity to aquatic organisms. *Ecological assessment of selenium in the aquatic environment*.
- Kaushik, S. J., & Blanc, D. (1980). Influence of nutritional status on the daily patterns of nitrogen excretion in the carp (*Cyprinus carpio* L.) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reproduction Nutrition Développement*.
- Knox, D., Cowey, C. B., & Adron, J. W. (1981). The effect of low dietary manganese intake on rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition*.
- Knox, D., Cowey, C. B., & Adron, J. W. (1982). Effects of dietary copper and copper: zinc ratio on rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*.
- Korner, O., Gutzmann, E., & Kledal, P. R. (2017). A dynamic model simulating the symbiotic effects in aquaponic systems. *International Society for Horticultural Science (ISHS) - Acta Horticulturae*.
- Kouba, A., Velíšek, J., Stará, A., Masojídek, J., & Kozák, P. (2014). Supplementation with sodium selenite and selenium-enriched microalgae biomass show varying effects on blood enzymes activities, antioxidant response, and accumulation in common barbel (*Barbus barbus*). *BioMed research international*.
- Küçükbay, F. Z., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M. N., & Sahin, K. (2009). The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. *Aquaculture Nutrition*.
- Lake, R. G., & Hinch, S. G. (1999). Acute effects of suspended sediment angularity on juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Lall, S. P. (2010). Disorders of nutrition and metabolism. In J. F. Leatherland, & P. T. Woo, *Fish diseases and disorders, Volume 2* (pp. 202-237). Halifax, Canada: Wallingford, Regno Unito: CABI.
- Lall, S. P. (2022). The minerals. In R. W. Hardy, & J. E. Halver, *Fish nutrition* (pp. 469-554). Londra: Academic Press.
- Le Corre, K. S., Valsami-Jones, E., Hobbs, P., & Parsons, S. A. (2005). Impact of calcium on struvite crystal size, shape and purity. *Journal of Crystal Growth*.
- Lekang, O.-I., & Kleppe, H. (2000). Efficiency of nitrification in trickling filters using different filter media. *Aquacultural Engineering*.



- Lichtenstein, E. P. (1959). Plant absorption of insecticides, absorption of some chlorinated hydrocarbon insecticides from soils into various crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Lönnerdal, B. O. (2000). Dietary factors influencing zinc absorption. *The Journal of nutrition*.
- Losordo, T. M., & Westers, H. (1994). System carrying capacity and flow estimation. *Developments in aquaculture and fisheries science*.
- Losordo, T. M., Masser, M. P., & Rakocy, J. E. (1998, April). Recirculating aquaculture tank production systems: an overview of critical considerations. *Southern Regional Aquaculture Center (SRAC)*, p. 12.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Brock, T. D. (2007). *Biologie des micro-organismes*. Parigi: Pearson Education France.
- Martens, D. W., & Servizi, J. A. (1993). Suspended sediment particles inside gills and spleens of juvenile Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Martillotti, F., Antongiovanni, M., Rizzi, L., Santi, E., & Bittante, G. (1987). *Metodi di analisi per la valutazione degli alimenti d'impiego zootecnico*. Roma: Quaderni metodologici n. 8, C.N.R. - I.P.R.A.
- McDowell, L. R. (2003). *Minerals in animal and human nutrition*. Amsterdam: Elsevier Science BV.
- Mertz, W. (1998). Review of the scientific basis for establishing the essentiality of trace elements. *Biological trace element research*.
- Metzeling, L., Doeg, T., & O'connor, W. (1995). The impact of salinization and sedimentation on aquatic biota. *Conserving biodiversity: threats and solutions*.
- Nelson, R. L., & Pade, J. S. (2007). Aquaponic equipment the clarifier. *Aquaponics J*.
- Newcombe, C. P., & MacDonald, D. D. (1991). Effects of suspended sediments on aquatic ecosystems. *North American journal of fisheries management*.
- Noga, E. J. (2010). *Fish disease: diagnosis and treatment*. Ames: Wiley-Blackwell.
- O'Dell, B. L. (1997). Mineral-ion interaction as assessed by bioavailability and ion channel function. In B. L. O'Dell, & R. A. Sunde, *Handbook of nutritionally essential mineral elements* (pp. 641-660). New York: CRC Press.
- Parker, R. (2012). *Aquaculture science*. Clifton Park: Delmar Cengage Learning.
- Patterson, R. N., Watts, K. C., & Timmons, M. B. (1999). The power law in particle size analysis for aquacultural facilities. *Aquacultural Engineering*.

- Penczak, T., Galicka, W., Molinski, M., Kusto, E., & Zalewski, M. (1982). The enrichment of a mesotrophic lake by carbon, phosphorus and nitrogen from the cage aquaculture of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Applied Ecology*.
- Perin , G. (2004). Metodi Biologici di Previsione degli Effetti Ambientali degli Stressori. *Ecotossicologia, Ambiente e Salute*.
- Peterhans, H. (2015). Aquaponic nutrient model. *Thesis Biobased Chemistry and Technology*.
- Plumb, J. A., & Hanson, L. A. (2011). *Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Prabhu, A. S., Fageria, N. K., Berni, R. F., & Rodrigues, F. A. (2007). Phosphorus and plant disease. *Mineral nutrition and plant disease*.
- Prabhu, P. A., Schrama, J. W., & Kaushik, S. J. (2016). Mineral requirements of fish: a systematic review. *Rev Aquac* 8: 172–219.
- Rakocy, J. E., Masser, M. P., & Losordo, T. M. (2006). *Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics-integrating fish and plant culture*. Southern Region Aquaculture Center: SRAC Publication.
- Ramalho Ribeiro, A., Gonçalves, A., Bandarra, N., Nunes, M. L., Dinis, M. T., Dias, J., & Rema, P. (2017). Natural fortification of trout with dietary macroalgae and selenised-yeast increases the nutritional contribution in iodine and selenium. *Food Research International*.
- Randall, D. J., & Tsui, T. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*.
- Redding, J. M., Schreck, C. B., & Everest, F. H. (1987). Physiological effects on coho salmon and steelhead of exposure to suspended solids. *Transactions of the American Fisheries Society*.
- Resh, H. M. (2022). Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower. *CRC Press, Boca Raton*.
- Resh, H. M. (2022). *Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower*. Boca Raton: CRC press.
- Rider, S. A., Davies, S. J., Jha, A. N., Fisher, A. A., Knight, J., & Sweetman, J. W. (2009). Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications on selenium status and health responses. *Aquaculture*.
- Roosta , H. R., & Hamidpour, M. (2013). MINERAL NUTRIENT CONTENT OF TOMATO PLANTS IN AQUAPONIC AND HYDROPONIC SYSTEMS: EFFECT OF FOLIAR APPLICATION OF SOME MACRO- AND MICRO-NUTRIENTS. *Journal of Plant Nutrition*.

- Rosell, M. Á. (2004). New european legislation on feed additives. *Recent advances in animal nutrition*.
- Rurangwa, E., & Verdegem, M. C. (2015). Microorganisms in recirculating aquaculture systems and their management. *Wiley Online Library*.
- Satoh, S., Takeuchi, T., Narabe, Y., & Watanabe, T. (1983). Effects of deletion of several trace elements from fish meal diets on growth and mineral composition of rainbow trout fingerlings. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*.
- Schmautz, Z., Graber, A., Mathis, A., Griessler, B. T., & Junge, R. (2015). Tomato production in aquaponic system: mass balance and nutrient recycling. *Aquaculture Europe*.
- Schmautz, Z., Loeu, F., Liebisch, F., Graber, A., Mathis, A., Bulc, T. G., & Di Giovane, G. (2016). Tomato Productivity and Quality in Aquaponics: Comparison of Three Hydroponic Methods. *Aquaponics: Toward a Sustainable Water-Based Production System?*
- Sealey, W. M., & Gatlin III, D. M. (2002). Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops*♀× *M. saxatilis*♂) but have limited effects on immune responses. *The Journal of nutrition*.
- Seawright, D. E., Stickney, R. R., & Walker, R. B. (1998). Nutrient dynamics in integrated aquaculture–hydroponics systems. *Aquaculture*.
- Servizi, J. A., & Gordon, R. W. (1990). Acute lethal toxicity of ammonia and suspended sediment mixtures to chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*.
- Servizi, J. A., & Martens, D. W. (1991). Effect of temperature, season, and fish size on acute lethality of suspended sediments to coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Shearer, K. D. (1984). Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri*, associated with growth and reproduction. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Shoda, M., & Ishikawa, Y. (2014). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of high-strength ammonium in anaerobically digested sludge by *Alcaligenes faecalis* strain No. 4. *J Biosci Bioengineering*.
- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., & Lovatelli, A. (2014). Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming. *Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome*.

- Sonneveld, C., & Voogt, W. (2009). *Plant Nutrition of Greenhouse Crops*. Londra/New York: Springer.
- Strauch, S. M., Wenzel, L. C., Bischoff, A., Dellwig, O., Klein, J., Schüch, A., . . . Palm, H. W. (2018). Commercial African catfish (*Clarias gariepinus*) recirculating aquaculture systems: Assessment of element and energy pathways with special focus on the phosphorus cycle. *Sustainability*.
- Suhl, J., Dannehl, D., Kloas, W., Baganz, D., Jobs, S., Scheibe, G., & Schmidt, U. (2016). Advanced aquaponics: Evaluation of intensive tomato production in aquaponics vs. conventional hydroponics. *Agricultural Water Management*.
- Suttle, N. (2022). *Mineral nutrition of livestock*. Regno Unito: Commonwealth Agricultural Bureaux International, Oxfordshire.
- Tang, Q. Q., Feng, L., Jiang, W. D., Liu, Y., Jiang, J., Li, S. H., . . . Zhou, X. Q. (2013). Effects of dietary copper on growth, digestive, and brush border enzyme activities and antioxidant defense of hepatopancreas and intestine for young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Biological Trace Element Research*.
- Thorarinsdottir, R. I. (2015). *Aquaponics guidelines*, Haskolaprent, Iceland.
- Timmons, M. B., & Ebeling, J. M. (2013). *Recirculating aquaculture*. *Cayuga Aqua Ventures*.
- Tyson, R. V., Simonne, E. H., White, J. M., & Lamb, E. M. (2004). Reconciling water quality parameters impacting nitrification in aquaponics: the pH levels. *Florida State Horticultural Society*.
- Unione Europea. (2014). *Vivere bene, entro i limiti del nostro pianeta, 7° PAA - Il nuovo programma generale di azione dell'Unione in materia di ambiente fino al 2020*.
- Vilbergsson, B., Oddsson, G. V., & Unnthorsson, R. (2016). Taxonomy of means and ends in aquaculture production—Part 2: The technical solutions of controlling solids, dissolved gasses and pH. *Water*.
- Watanabe, T., Kiron, V., & Satoh, S. (1997). Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*.
- Wekell, J. C., Shearer, K. D., & Houle, C. R. (1983). High zinc supplementation of rainbow trout diets. *The Progressive Fish-Culturist*.
- Wilber, D. H., & Clarke, D. G. (2001). Biological effects of suspended sediments: a review of suspended sediment impacts on fish and shellfish with relation to dredging activities in estuaries. *North American journal of fisheries management*.
- Winton, J. R. (2002). *Fish health management. Fish hatchery management, 2nd edition*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

- Wongkiew, S., Hu, Z., Chandran, K., Lee, J. W., & Khanal, S. K. (2017). Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review. *Aquacultural Engineering*.
- Wood, C. M. (2011). An introduction to metals in fish physiology and toxicology: basic principles . *Fish physiology*.
- Xiccato , G. (2023). Corso di Laurea Magistrale "Acquacoltura e qualità dei prodotti ittici". Legnaro (PD): Università degli Studi di Padova.
- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual review of plant biology*.
- Yamaguchi, M. (1998). Role of zinc in bone formation and bone resorption. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans*.
- Yildiz, H. Y., Robaina, L., Pirhonen, J., Mente, E., Domínguez , D., & Parisi, G. (2017). Fish welfare in aquaponic systems: its relation to water quality with an emphasis on feed and faeces. *Scholar*.
- Zhang, L., & Wang, W.-X. (2007). Gastrointestinal uptake of cadmium and zinc by a marine teleost *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquatic toxicology*.
- Zhang, L., & Wang, W.-X. (2007). Waterborne cadmium and zinc uptake in a euryhaline teleost *Acanthopagrus schlegeli* acclimated to different salinities. *Aquatic toxicology*.

## RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Professore Marco Birolo per la sua disponibilità e professionalità, è stata una bellissima esperienza.

Ringrazio mia moglie Marta, perché da quando ci siamo conosciuti ha sempre creduto in me. Ogni giorno è al mio fianco e mi supporta, “sei la mia LUCE!” Questa laurea è anche un po' sua, “INSIEME ce l’abbiamo fatta AMORE MIO”.

Ringrazio mamma Rosanna, papà Mario, mia sorella Chiara e la sua famiglia, per esserci sempre stati, per non aver mai mollato, per tutto quello che fanno e sono per me.

Ringrazio nonna Celestina, perché è la più bella del mondo.

Ringrazio Alessandro, perché ha sempre le parole giuste al momento giusto, perché mi ha spinto a crederci e non mollare mai.

Ringrazio il saldo della carta di credito, che con il suo tetto massimo non mi ha permesso di pagare quel “benedetto” bollettino.

Ringrazio Veronica, per il supporto nella revisione del mio elaborato.

Ringrazio me stesso, per aver iniziato, per aver sbagliato, per essermi fidato, per aver imparato e per essere determinato.

Ringrazio Francesco, perché mi ha aiutato tantissimo e continua ad esserci, “sei un faro importante nella mia vita”.

Infine, ringrazio questo corso di laurea, perché mi ha permesso di imparare tantissime cose, fare molte esperienze e mettermi in gioco.

Grazie a chi è sempre presente nella mia vita, un abbraccio,

Daniele