



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO
FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI

DOTTORATO IN BIOLOGIA ANIMALE XXIII CICLO

**LA QUALITÀ IN ACQUACOLTURA: VALUTAZIONI SUL
PRODOTTO E SULL'AMBIENTE**

La Dottoranda

Valeria Antonia Tumbarello

Tutor

Ch.mo Prof. Antonio Mazzola

Il Coordinatore del Dottorato di Ricerca

Ch.mo Prof. Nicolò Parrinello

Co-Tutor

Dott.ssa Salvatrice Vizzini

Anno Accademico 2010 - 2011

1 INTRODUZIONE

L'acquacoltura, termine che comprende l'allevamento di organismi acquatici vegetali ed animali, in ambienti di acque dolci, salmastre e marine, è un'attività che affonda le sue radici in tempi molto antichi. Le testimonianze dell'antica Cina, dell'antico Egitto a quelle Fenice e Romane, ci ricordano il continuo tentativo dell'uomo di intervenire anche sul ciclo vitale degli organismi acquatici per poterne controllare la disponibilità e la proprietà. Si tratta dell'insieme delle attività che sono finalizzate alla produzione controllata degli organismi acquatici.

Con riferimento alla specie prodotta, si parla più specificatamente di molluschicoltura (molluschi), crostaceicoltura (crostacei), algicoltura (alghe) e di piscicoltura (pesci); e con riferimento al carico di energia supplita esternamente dall'uomo si suddivide in tre diverse tipologie: estensivo, semiestensivo ed intensivo.

L'allevamento estensivo non richiede elevati apporti di energia supplementare per ottenere l'accrescimento del prodotto e le produzioni sono dell'ordine di chilogrammi per ettaro. L'energia trofica è a carico dell'ambiente ed è un'attività che si svolge su grandi estensioni e in ambienti naturali o seminaturali. L'acquacoltura estensiva può essere praticata in ambienti costieri protetti, confinati e in ambienti lagunari, mentre nel caso di acque dolci, in laghi o dighe. Le aree possono estendersi da alcune migliaia di mq a migliaia di ettari con investimenti economici che sono finalizzati alle sole opere idrauliche (argini, canalizzazioni, dragaggi).

L'allevamento semi-intensivo richiede somministrazione di alimenti e più elevati apporti di energia supplementare. L'accrescimento degli organismi dipende sia dalla disponibilità dell'alimento naturale che da quello somministrato dall'uomo con la funzione di dieta integrativa. Questa pratica produttiva può prevedere la concimazione delle acque, che permette fioriture di fitoplancton e di conseguenza favorisce la produzione di zooplancton e di organismi bentonici, aumentando la disponibilità di alimento naturale per gli organismi allevati.

Nell'allevamento intensivo è invece di fondamentale importanza l'intervento umano per la somministrazione di alimenti con formulazioni complete e bilanciate adatte alle specie allevate, introdotte dall'esterno. Per una migliore crescita e qualità dell'organismo allevato, le materie prime usate per la

produzione di mangimi vengono scelte con particolare attenzione in funzione della loro digeribilità e dell'eco-.

I mangimi utilizzati per l'alimentazione di pesce sono composti principalmente di farina e olio di pesce, in percentuali che variano dal 50% fino all'80%. L'impiego di tali materie è determinante per l'ottenimento di mangimi di elevata qualità perché non si tratta di sottoprodotti ma di derivati da pesce fresco di basso pregio commerciale. Vengono poi utilizzate materie prime di origine vegetale, costituite in gran parte da farine di soia. Inoltre, come leganti, vengono utilizzati amidi derivati dal frumento.

In Italia, l'allevamento ittico intensivo si è praticato in impianti a terra con vasche o bacini artificiali di dimensioni ridotte dai 100 ai 10.000 (ma più frequentemente da 300 a 1.000) metri quadrati, caratterizzati da un battente d'acqua di circa 100 cm e da una pianta a canale (*raceway*) oppure assimilazioni ad un quadrato o ad un rettangolo poco allungato (*pond*).

Negli ultimi anni, tuttavia, è notevolmente aumentato l'allevamento intensivo in mare, chiamato maricoltura, che si effettua in gabbie e/o recinti collocati sia in prossimità della costa - "*in shore*" - sia in mare aperto - "*off shore*"; tale attività consente il superamento di numerosi vincoli cui sono soggette le strutture a terra (disponibilità e captazione delle acque, instabilità dei parametri fisici, restituzione delle acque reflue). L'investimento di capitali è minore, come minori sono i costi di produzione; l'utilizzo diretto del mare e, quindi, la migliore qualità delle acque rispetto ad un allevamento fatto a terra riduce anche l'incidenza di malattie che possono colpire i pesci.

L'allevamento *off shore*, con l'impiego di gabbie galleggianti al largo, ha permesso, tra l'altro, di ridurre i conflitti emersi per l'uso di spazi e risorse nelle aree costiere dove insistono altre attività antropiche.

L'acquacoltura ha implicazioni ambientali molto rilevanti. Essa, infatti, opera su due componenti fondamentali ed altamente sensibili degli ecosistemi acquatici quali l'acqua stessa e le popolazioni ittiche. La prima subisce un'inevitabile alterazione della sua qualità in presenza di un impianto di allevamento, mentre le altre sono esposte a manipolazioni che interferiscono direttamente e indirettamente sui loro compartimenti e sulla struttura genetica delle popolazioni.

Il rapporto tra acquacoltura e ambiente è diventato sempre più oggetto di dibattiti tra acquacoltori, ambientalisti, ecologi e amministratori. La ragione del

contendere sta nell'individuare e definire quelli che devono essere i confini tra conservazione ed acquacoltura nel quadro di uno sviluppo sostenibile.

La F.A.O. (*Food and Agriculture Organization* delle Nazioni Unite), nel definire lo sviluppo sostenibile, afferma che la gestione e conservazione delle basilari risorse naturali devono soddisfare continuamente le necessità umane in relazione sia alle condizioni attuali che a quelle future. Lo sviluppo sostenibile deve *“salvaguardare la terra, l'acqua, gli organismi animali e vegetali, le rispettive risorse genetiche e deve essere, inoltre, non degradante per l'ambiente, tecnologicamente appropriato, economicamente valido e socialmente accettabile”*.

Oltre alla conservazione delle risorse naturali e della biodiversità, affinché un'acquacoltura possa rientrare in una logica di sostenibilità, deve svilupparsi tenendo in debita considerazione la riduzione degli inquinamenti delle acque, l'uso di tecnologie appropriate ai luoghi e alle diverse situazioni, la produzione di profitti e di benessere economico con il minimo costo e la limitazione di contrasti e conflitti sociali.

La sostenibilità passa anche attraverso un'acquacoltura responsabile, secondo il codice di condotta F.A.O. (1995) che prevede, fra l'altro, la valorizzazione dei sistemi marino-costieri, con un dimensionamento delle produzioni adeguato alla ricettività dell'ambiente e con l'adozione di tutti i possibili accorgimenti tecnologici per la neutralizzazione degli inquinanti.

L'obiettivo principale è quello di sviluppare un modello che integri la produzione con la conservazione delle risorse naturali, la sostenibilità ambientale, la salvaguardia ambientale e il mantenimento di ambienti estremamente pregiati da un punto di vista naturalistico e con alto grado di vulnerabilità. In particolare, s'intende giungere alla formazione di un modello di capacità portante sostenibile per ogni sistema considerato.

Nel caso specifico dell'utilizzazione di simili ambienti per scopi acquacolturali, la determinazione dei livelli di capacità portante ambientale si fonda sullo studio di eventuali effetti di *“amplificazione”* ottenibili dalla somma della produzione di materia organica autoctona ed alloctona proveniente dall'acquacoltura e sul controllo dell'eventuale impatto delle pratiche di acquacoltura (Mazzola, 2006).

L'impatto su un ambiente è dato dall'insieme degli effetti causati da un evento, un'azione o un comportamento sull'ambiente nel suo complesso. L'impatto ambientale mostra quali effetti può produrre una modifica, non necessariamente negativa, all'ambiente circostante.

In acquacoltura, il termine “impatto” viene generalmente usato per definire gli effetti dei reflui degli allevamenti sull’ambiente e codifica quelle attività di controllo che portano all’analisi delle conseguenze ambientali sotto il profilo degli inquinanti classici; si parla di impatto anche riferendosi alle conseguenze che l’acquacoltura può avere sulla struttura genetica delle popolazioni naturali. Le linee guida per la pianificazione delle mitigazioni ambientali che si intendono adottare prendono spunto dalle Normative e dai Regolamenti vigenti in molti Paesi, ove le attività di maricoltura rappresentano una quota importante del Prodotto Interno Lordo.

Le normative attualmente in vigore sono la legge 146/94 (che recepisce la Direttiva CEE 85/337 e 97/11), il D.Lgs 152/06 (che recepisce le direttive CEE 91/271e 91/676) e il D.P.R. 12.04.96.

Con l’entrata in vigore della Direttiva 97/11/UE, le attività di maricoltura e acquacoltura sono soggette anche al processo di VIA. L’applicazione di tale direttiva è prevista sia nei casi di attivazione di nuovi impianti sia nei casi di ampliamento di attività già esistenti. La valutazione di impatto ambientale è sottoposta alla direttiva CEE 85/337, inerente la verifica degli effetti degli impianti sulle aree marine circostanti. Essa richiede ai soggetti proponenti progetti che prevedono l’uso delle risorse ambientali di fornire alle Autorità competenti informazioni sullo stato dell’ambiente che si intende utilizzare e sugli effetti potenziali che le attività antropiche potrebbero avere sull’ambiente stesso.

In Sicilia, l’Assessorato Regionale Territorio ed Ambiente in concomitanza con il Dipartimento di Ecologia dell’Università degli Studi di Palermo, l’ISPRA e l’ARPA Sicilia si sono adoperati per fornire degli indirizzi generali per il contenimento dell’impatto sull’ambiente derivante dalle attività di maricoltura per definire ed individuare aree idonee da destinare all’acquacoltura, assicurando compatibilità ambientale ai sensi della Direttiva 92/43/CE del 2001, inerente la presenza di Siti di Interesse Comunitario (SIC), relativamente a specie ed *habitat* soggetti a specifiche misure di protezione, o considerando corpi idrici a rischio ai sensi della Direttiva 2000/60/CE.

Esistono, quindi, diverse normative a livello comunitario e nazionale che dovrebbero assicurare che lo sviluppo economico sia accompagnato da misure che permettano di non incidere negativamente sull’ambiente naturale.

Inoltre, per una sistematica vigilanza e controllo, la Comunità Europea ha predisposto strumenti di controllo volontari per il mondo produttivo, quali quelli rappresentati da EMAS (*Eco-Management and Audit Scheme*) e da Ecolabel.

Con l'applicazione del Regolamento CE n. 761/01-EMAS al settore della piscicoltura, si ha un Regolamento Europeo che stabilisce uno schema Comunitario al quale possono aderire, su base volontaria, le organizzazioni che intendono migliorare le proprie prestazioni ambientali, attraverso la riduzione dell'impatto ambientale.

Nel panorama degli strumenti volontari di ecogestione, occorre ricordare che anche in ambito ISO (*International Organization for Standardization*), è stato adottato uno *standard* per certificare i sistemi di gestione ambientale attraverso la normativa ISO 14001, recepita dal CEN (Comitato Europeo per la Normazione) e dall'UNI (Ente Nazionale Italiano di Unificazione) nel 1996. Questi due strumenti (EMAS e ISO) rappresentano oggi gli unici riferimenti per quelle aziende che vogliono produrre tenendo sotto controllo l'impatto ambientale delle proprie attività, e rappresentano un elemento fondamentale per operare nella direzione di un'acquacoltura ecocompatibile, anche per sensibilizzare i consumatori verso i prodotti da essa derivati.

La Commissione Europea, il 22 giugno 2006, ha varato un "Piano d'azione a favore della biodiversità" per la pesca e l'acquacoltura che dovrebbe contribuire ulteriormente alla realizzazione di questi obiettivi. Il piano prevede una serie di azioni dirette alla riduzione dell'impatto ambientale, dei problemi di natura veterinaria, nonché azioni intese a limitare i problemi che potrebbero insorgere con l'introduzione di specie non autoctone a fini di allevamento. Nel contempo, l'acquacoltura dovrebbe essere riconosciuta come uno dei molteplici utilizzatori del capitale naturale, con gli stessi diritti dei settori in concorrenza con essa per spazio e risorse.

2 EFFETTI AMBIENTALI E QUALITÀ IN ACQUACOLTURA

L'acquacoltura mondiale è cresciuta nel corso degli ultimi 50 anni da una produzione di meno di un milione di tonnellate a circa 51,7 milioni di tonnellate nel 2006; con un valore di 78,8 miliardi di dollari, essa rappresenta il settore in più rapida crescita di produzione alimentare di animali con un consumo procapite che va da 0,7 kg nel 1970 a 7,8 kg nel 2006, e un tasso di crescita medio annuo di circa il 7% (FAO, 2008). Essa è destinata a superare la pesca come attività che procura pesce come fonte di nutrimento.

Lo scenario dell'acquacoltura mondiale è fortemente dominata dall'Asia, che rappresenta l'89% della produzione in termini di quantità e il 77% in termini di qualità. Questo predominio è dovuto alla produzione della Cina. Essa produce il 77% di tutte le carpe (ciprinidi) e 82% delle riserve globali di ostriche (ostreidi).

In Cina lo sviluppo di un'acquacoltura tradizionale e moderna ha portato ad aumentare la disponibilità di prodotti ittici anche nelle aree interne, con benefici effetti sulla qualità dell'alimentazione, il che non è poco nel paese più popolato del mondo.

L'acquacoltura nella Comunità Europea ha conosciuto uno sviluppo notevole negli ultimi anni. La produzione comunitaria annuale sfiora 1,2 milioni di tonnellate, il valore supera 2,1 miliardi di euro, il numero di posti di lavoro in acquacoltura è di circa 57.000 ed è aumentato del 3% all'anno durante l'ultimo decennio. Essa rappresenta attualmente circa il 15% del volume e il 25% del valore dei prodotti della pesca comunitaria, e ha contribuito al miglioramento della situazione socio-economica di numerose comunità costiere, generando occupazione e benessere.

In Europa è il branzino (*Dicentrarchus labrax*) ad essere la prima specie marina commercializzata coltivata ed è il pesce allevato più importante nel bacino del Mediterraneo (FAO, 2006).

L'orata (*Sparus aurata*), prodotto leader nelle produzioni del mediterraneo (Gómez-Requeni *et al.*, 2004), secondo la FAO - Pesca e Acquacoltura e Servizio Informazione Statistica- ha avuto una produzione nel 2008 di 133.026 tonnellate. La qualità delle sue carni, ed il suo conseguente elevato valore commerciale, hanno reso la produzione del prodotto fresco uno business

reddizio, provocando un aumento significativo della produzione di orata nel corso degli ultimi dieci anni (Addis *et al.*, 2010).

Il quadro generale delinea, pertanto, un'evoluzione positiva, pur tuttavia l'acquacoltura comunitaria deve ancora far fronte a diversi problemi.

Nonostante tali numeri, i tassi di crescita per la produzione di acquacoltura sono in rallentamento, in parte a causa di preoccupazioni dell'opinione pubblica sulle pratiche di acquacoltura, sull'inquinamento ambientale e sulla qualità del pesce.

Proprio le relazioni tra acquacoltura e ambiente sono di estrema importanza. Bisogna adottare pratiche di allevamento che ne assicurino la sostenibilità, tenendo anche presenti le esigenze in materia di norme sanitarie e di qualità dei prodotti. Ciò investe simultaneamente due scenari generalmente separati: da un lato lo sviluppo economico attraverso le attività delle imprese, dall'altro la tutela delle risorse ambientali.

Le differenti tipologie di allevamento aprono interessanti prospettive per controllare la qualità del pesce prodotto. L'enorme sviluppo delle differenti tecniche di acquacoltura garantisce ai nostri mercati un rifornimento costante di alcuni prodotti ittici in termini quantitativi, di qualità e pezzatura.

A fronte di un aumento del consumo di prodotti ittici che si osserva in questi ultimi anni e che trova una giustificazione in una maggiore attenzione da parte del consumatore nella scelta dei prodotti alimentari, diventa sempre più attuale la necessità di garantire un prodotto ittico di allevamento che più si avvicini a quello naturale.

L'allevamento di organismi marini in intensivo (gabbie o impianti continentali) rappresenta una potenziale causa di impatto nell'ambiente circostante (Mazzola *et al.*, 1999; Mirto *et al.*, 2000). Il degrado che può provocare sulle aree limitrofe è funzione dell'intensità delle attività di allevamento e delle caratteristiche ecologiche e fisiche dell'ambiente che ospita le attività stesse. In generale, l'impatto di un impianto dipende dalla sua dimensione produttiva, dalle tecniche di allevamento adottate e dalle caratteristiche funzionali degli ecosistemi interessati, in termini di capacità portante, livelli di resistenza e tempi di resilienza.

La produzione intensiva e l'uso di sostanze chimiche che vengono utilizzate negli impianti, hanno sollevato preoccupazioni ambientali e hanno messo in dubbio la qualità del pesce allevato nei confronti del pesce selvatico. L'uso di sostanze

chimiche (ad esempio, sostanze terapeutiche, prodotti farmaceutici, agenti antivegetativi) utilizzate nell'attuale acquacoltura e, ancora, il mangime a base di oli di pesce essenzialmente proveniente dalla cattura di piccoli pelagici e la presenza di sostanze inquinanti nelle acque circostanti possono, tutti insieme, influire sul benessere e sulla qualità del pesce allevato e degli ecosistemi in generale. (Fernandes *et al.*, 2009).

Pur tuttavia, l'utilizzo controllato di sostanze chimiche associato ad una responsabile selezione dei siti di ubicazione degli impianti, possono garantire dei bassi livelli di sostanze inquinanti nei pesci allevati che in alcuni casi risultano essere più bassi dei livelli riscontrati nei pesci selvatici (Fernandes *et al.*, 2009). Anche l'arricchimento di nutrienti influenza l'ambiente modificando le caratteristiche fisiche e chimiche nei dintorni dell'area in cui è presente un impianto (Holmer, 1991; Sarà, 2007). Tali modifiche possono avere un effetto notevole sia sulla colonna d'acqua che sulla chimica dei sedimenti (Holmer, 1991, Iwama, 1991; Wu *et al.*, 1994; Pearson e Black, 2000; Kalantzi e Karakassis, 2006; Sarà, 2007).

Il battente d'acqua sotto la gabbia, la velocità e la direzione della corrente, possono influenzare sensibilmente la sedimentazione del mangime e del materiale fecale e fanno sì che l'area interessata sia più o meno ampia, anche se normalmente gli effetti maggiori si hanno entro un raggio di circa 50 m (Kadowani *et al.*, 1980; Warren-Hansen, 1982; Merican e Phillips, 1985). Si vengono a creare così, diversi fenomeni in seguito all'arricchimento organico .

L'espansione degli allevamenti intensivi, spesso sviluppati in ambienti costieri, dove a volte non si ha un ottimale ricambio idrico, provoca un arricchimento di nutrienti tale da sollevare serie preoccupazioni circa l'impatto dato da biodeposizioni (Sarà *et al.*, 2006): il mangime non utilizzato, i prodotti di scarto del metabolismo delle specie allevate sono tutti composti che contengono azoto e fosforo, che possono causare fenomeni di eutrofizzazione (Phillips *et al.*, 1983), che portano a proliferazione di fitoplancton (Gundersen, 1981).

Si può osservare un assemblaggio crescente di organismi su substrati artificiali delle gabbie, di boe o su altre strutture, processo definito *fouling*, ritenuto un buon indicatore di disturbo ambientale (Calcagno *et al.*, 1998), sia come indice di arricchimento organico (Khalaman, 2001, Mayer-Pinto e Junqueira, 2003; Sarà *et al.*, 2007), sia di inquinamento termico (Zvyagintsev e Korn, 2003).

L'arricchimento organico associato alle sostanze chemioterapiche possono modificare il pH o ridurre l'O₂ disciolto con un aumento della Domanda Biochimica d'O₂ (BOD) e della Domanda Chimica di O₂ (COD) (Iwana, 1991). L'elevato tasso di sedimentazione del materiale proveniente dagli scarichi, infatti, fa sì che aumenti la torbidità e che a livello del sedimento prevalgono meccanismi di riduzione, che portano alla produzione di H₂S e NH₄ da parte della flora microbica anaerobica, per lo scarso apporto di O₂ (Delgado *et al.*, 1998).

La sostanza organica accumulata nei sedimenti in prossimità delle gabbie può essere trasportata dalle correnti verso la costa, determinando gravi danni ecologici: conseguenza immediata è la perdita di biodiversità delle comunità bentoniche e l'affermazione delle sole specie resistenti e opportuniste (Iwana, 1991).

Le modalità di distribuzione dell'alimento possono ridurre la quota di cibo non utilizzata (Gowen *et al.*, 1985), con vantaggi per la redditività dell'allevamento e un abbattimento delle quote di inquinanti (Braaten *et al.*, 1983).

Nei pesci allevati, oltre alla diffusione diretta delle patologie dovute a batteri e parassiti (Austin, 1993; Riddel, 1993; Kent, 1994), lo stress fisiologico per la segregazione e le alte densità dell'allevamento riducono le difese ed accelerano il processo infettivo e la diffusione di patogeni (Sauders, 1991).

L'impianto diventa anche un amplificatore di fenomeni patologici naturali che si sviluppano in modo esponenziale (Johnsen e Jensen, 1991), provocando elevate mortalità, il deposito di sedimenti anossici sotto le gabbie (Wu *et al.*, 1994; Klaoudatos *et al.*, 1996; Karakassis *et al.*, 1998) e l'innesco di processi di auto inquinamento dell'impianto stesso.

Oltre all'impatto generato dal rilascio di sostanze inquinanti, l'attività di acquacoltura può provocare alterazioni nelle popolazioni naturali per l'introduzione di specie alloctone che, se liberate nell'ambiente naturale, possono competere con le specie autoctone, essere veicolo di nuove patologie ed inquinare geneticamente le popolazioni indigene.

Negli impianti in mare, l'effetto attrattivo delle gabbie e dell'alimento somministrato determina un incremento di alcune specie autoctone e l'arrivo di nuovi predatori.

Nel caso della maricoltura le specie bersaglio sono esclusivamente autoctone e la possibilità che specie riprodotte artificialmente possano sfuggire alle gabbie, a

causa di calamità naturali o vandalismo (Webb e Youngson, 1992), non è trascurabile. Nonostante sia accertato che il successo riproduttivo dei pesci fuoriusciti sia ridotto, essi diventano stanziali (Baltz, 1991; Beveridge *et al.*, 1997) e vanno a costituire popolazioni permanenti attorno alle gabbie. Non è infondata, pertanto, la preoccupazione che, in breve tempo, da possibili incroci con individui selvatici, si generino nuovi genotipi nello *stock* selvatico (Lund *et al.*, 1991; Ross e Beveridge, 1995). La stanzialità degli organismi sfuggiti genera, inoltre, alterazioni nelle comunità preesistenti con l'instaurarsi di fenomeni di competizione e predazione, con successiva modificazione dell'*habitat* e riduzione della biodiversità.

Inoltre, negli ultimi anni è aumentata la richiesta, da parte dei consumatori, di un prodotto ittico che presenti opportuni requisiti di salubrità e contenuti nutrizionali e, parallelamente, è aumentato l'interesse, nel mondo scientifico, per le tematiche inerenti la qualità del prodotto ittico mediterraneo.

Per avere una qualità ottimale del prodotto allevato, dietro la domanda consapevole del valore nutrizionale dei prodotti ittici che comincia ad orientare verso questo settore quelle richieste di qualità e sicurezza degli alimenti che alcune produzioni agricole di qualità hanno da tempo soddisfatto è importante verificare: la qualità delle acque, la qualità dei mangimi, l'igienicità dell'ambiente di allevamento, la somministrazione moderata ed oculata di medicinali in modo da soddisfare le aumentate richieste da parte dei consumatori, di prodotti ittici che presentino opportuni requisiti di salubrità e contenuti nutrizionali.

Alcuni studi hanno indicato la necessità di una valutazione dei rischi della salute associati con il consumo alimentare e hanno sottolineato la mancanza di informazioni sui residui di sostanze inquinanti presenti sia nel pesce di coltura che nel pesce selvatico (Easton *et al.*, 2002; Antunes e Gil, 2004; Hites *et al.*, 2004; Shaw *et al.*, 2006).

Un prodotto ittico di qualità deve possedere adeguate caratteristiche morfologiche, biochimiche, nutrizionali, organolettiche ed igienico-sanitarie; non deve, inoltre, presentare contaminanti chimici al di sopra di livelli massimi consentiti dalla legge, né patologie o parassitosi.

Il termine "qualità", riferito ai prodotti ittici della pesca e dell'acquacoltura, prende in considerazione il grado di accettabilità da parte dei consumatori (determinato principalmente per via sensoriale) e una serie di proprietà che dipendono dalle caratteristiche intrinseche della specie e dal valore nutrizionale.

Quest'ultimo è determinato dalla disponibilità, nelle carni, di macro e micronutrienti come proteine, lipidi, vitamine e minerali e dalla presenza o assenza di composti fisiologicamente attivi e potenzialmente dannosi per il consumatore, di origine endogena o ambientale, come, ad esempio, tossine, inquinanti o prodotti derivanti da attività di batteri o parassiti (Sikorski e Sun Pan, 1994).

Fra i principali componenti che determinano la composizione grezza dei pesci, il tenore proteico è abbastanza costante (15-24%) e il tenore in glucidi è bassissimo (0,3-0,5%), per cui, la componente lipidica, che è la più variabile ed ha il più elevato contenuto energetico, si rivela decisiva nello stabilire l'apporto calorico delle carni ed è la componente che influenza le caratteristiche organolettiche (Orban *et al.*, 1998; Poli *et al.*, 1998).

Anche ai fini della commercializzazione, il parametro principale che ne determina la qualità è il tenore lipidico della carne; infatti, è stato dimostrato come sia possibile valutare con accuratezza la qualità di specie pregiate, come il *Thunnus Thynnus*, e prevedere il destino di commercializzazione in quanto parti del corpo a differente contenuto in grassi hanno un diverso valore economico (Santulli *et al.*, 2000; Messina *et al.*, 2001a,b,c).

Diversi autori hanno osservato variazioni della composizione chimica del prodotto allevato, in particolare della componente lipidica, sia in termini qualitativi che quantitativi (Orban *et al.*, 1996, 1998; Poli *et al.*, 1998). Ciò avviene sia a causa della dieta somministrata agli organismi allevati sia al fatto che la segregazione dei pesci in vasca o in gabbia riduce la possibilità di movimento degli animali, modificandone il metabolismo e determinando un accumulo della componente lipidica nel muscolo; fenomeno, questo, che non si verifica negli esemplari selvatici.

Altro fattore di notevole importanza nella valutazione di rischio della qualità del prodotto ittico di allevamento è sicuramente l'inquinamento marino. Non si tratta solo dell'inquinamento legato agli incidenti delle petroliere, agli sversamenti in mare di petrolio o alle attività illegali di scarico in mare dei fusti di rifiuti. Per quanto siano questi gli aspetti più visibili del problema, l'inquinamento dei mari dipende in gran parte da altre fonti, come gli scarichi urbani e industriali, la dispersione in acqua dei pesticidi e dei composti chimici usati nell'agricoltura, gli scarti delle lavorazioni minerarie, i rifiuti radioattivi.

L'inquinamento chimico dei mari da parte dell'uomo riguarda un elevato numero di sostanze differenti. Almeno 4500 dei composti impiegati sono altamente pericolosi: queste sostanze non si decompongono e tendono ad accumularsi nei tessuti degli organismi viventi, alterandone il sistema ormonale, causando tumori, disfunzioni del sistema riproduttivo e alterazioni del sistema immunitario e interferendo con il normale processo di crescita degli esemplari giovani.

E' ovvio che gli organismi assumono tali sostanze in base alla "biodisponibilità", cioè alla concentrazione totale di quest'ultimi nelle matrici abiotiche. La biodisponibilità dipende dalla speciazione dell'elemento in fase di soluzione ed in fase solida, dalla sua concentrazione e dai processi biochimici che si stabiliscono negli organismi (Frache *et al.*, 2001).

Attraverso il processo noto come "bioaccumulo", alcune sostanze xenobiotiche tengono a concentrarsi, attraverso la respirazione, il contatto, l'ingestione, all'interno degli organismi. Il fenomeno del bioaccumulo si amplifica nella catena alimentare con la "biomagnificazione", fenomeno attraverso il quale il contaminante può trovarsi ad alte concentrazioni nei tessuti degli organismi che si trovano al vertice della catena alimentare. Questi contaminanti entrano nelle catene alimentari dove esercitano maggiormente i loro effetti negativi sulle specie ai vertici delle catene alimentari (tonno, pescespada, squalo)(Cognetti *et al.*, 2002).

Oltre alle indiscutibili proprietà benefiche sull'apparato cardiovascolare, recenti ricerche dimostrano come il pesce possa rappresentare per il consumatore una significativa fonte di esposizione alimentare a contaminanti ambientali quali diossine, bifenilipoliclorurati (PCB), e metalli in tracce. La concentrazione di tali contaminanti nel pesce varia in funzione dello stato chimico-fisico del contaminante, della specie ittica, dello stato fisiologico del pesce, del luogo di cattura, della stagione ed è fortemente condizionata dalle abitudini alimentari del pesce stesso.

Poiché i pesci sono esposti ai contaminanti attraverso l'alimentazione, fino a qualche anno fa si riteneva che la dieta somministrata dall'uomo ai pesci di allevamento fosse in grado di produrre un più basso livello di contaminazione in questi rispetto alle specie selvatiche. Tuttavia, ricerche effettuate in salmoni allevati nel Nord Atlantico, area definita a rischio contaminazione dall'EFSA (*European Food Safety Authority*), hanno evidenziato come i sistemi di

allevamento spesso favoriscono la contaminazione degli animali in modo sovrapponibile o addirittura superiore a quelli riscontrati nelle specie selvatiche. Studi più recenti hanno evidenziato come il grado di contaminazione dei pesci allevati è uguale ed in certi casi maggiore rispetto alle specie selvatiche a causa dell'uso di mangimi altamente contaminati (Severino e Anastasio, 2006).

I mangimi impiegati in acquacoltura presentano un contenuto lipidico pari al 18-20%; la quasi totalità di questi grassi è apportata da olii di pesce; l'ulteriore apporto nutritivo è fornito da farine di pesce. Gli olii e le farine di pesce utilizzati nella composizione di mangimi destinati a specie ittiche allevate, rappresentano dunque una delle principali fonti di contaminazione. Infatti, le specie pescate per la produzione di olii e farine di pesce sono soprattutto pesci grassi quali aringhe, sardine e sgombri che sono in grado di bioaccumulare contaminanti liposolubili.

Oetjen e Karl (1998) hanno analizzato il contenuto di toxafene, un pesticida cancerogeno relativamente persistente nel biota, in varie specie di pesci pelagici del Mar Atlantico, Artico, Baltico e del Nord (sardine, aringhe, acciughe, ecc.); tali specie sono la materia prima per la produzione di farina di pesce e di olio di pesce, utilizzati come alimento di trote e di salmone di allevamento. I risultati di questa ricerca hanno dimostrato come il contenuto di toxafene nella farina di pesce e nell'olio di pesce proveniente dal Sud America, fosse minore rispetto ai campioni provenienti dal Nord Europa. In generale, tali risultati indicano come la dieta somministrata negli impianti di allevamento possa contribuire al trasferimento di toxafene (e di vari xenobiotici) dagli organismi selvatici a quelli allevati.

Ulteriori fonti di contaminazione dei mangimi destinati all'allevamento possono essere di origine accidentale; si verificano durante le fasi di produzione, lavorazione o trasporto e sono rappresentati principalmente da guasti degli impianti di lavorazione e da perdite di olii lubrificanti: nel 1999 una perdita accidentale di PCB in impianti di raccolta di materie grasse destinate alla produzione di mangimi determinò la contaminazione dell'intera partita; sempre nello stesso anno furono riscontrati elevati livelli di diossine in un mangime a base di olii vegetali; in questo caso la contaminazione era legata alla fase di essiccazione effettuata con la combustione di legna verniciata (Severino e Anastasio, 2006). La valutazione del rischio tossicologico per l'uomo quale

consumatore di prodotti ittici, pescati o allevati, rientra nel più ampio discorso della sicurezza alimentare che è da tempo l'obiettivo dell'EFSA.

2.1 Metalli pesanti

Con il termine di metalli pesanti si fa riferimento ad elementi tra loro eterogenei appartenenti a diversi gruppi, che vanno dai metalli di transizione ai non metalli. Data la loro concentrazione limitata, vengono anche chiamati elementi in traccia. Si tratta di elementi chimici che hanno una densità relativamente alta, superiore a 5g/cm³ (Tab. 1).

Tab. 1: Densità dei metalli in un confronto con la densità dell'acqua

Elemento	Densità (g/cm³)
Hg	13,5
Pb	11,3
Ni	8,9
Cu	8,9
Cd	8,7
Cr	7,1
Zn	7,1
V	6,1
As	5,8
H ₂ O	1,0

Esempi di metalli pesanti includono il mercurio (Hg), il cadmio (Cd), l'arsenico pur essendo un metalloide (As), lo zinco (Zn), il rame (Cu) ed il piombo (Pb), che sono quelli maggiormente studiati in quanto i loro effetti sugli organismi sono dannosi (Presley, 1997).

L'effetto tossico si esplica per la formazione di un legame, spesso assai stabile (covalente) con gruppi funzionali reattivi delle molecole organiche: ossidrili

(-OH), carbossili (COO-), carbonili (= CO), sulfidrili (SH), aminici (NH₂), imminici (=NH), ecc. poiché degenera l'azione degli enzimi (Grandini, 1993). Ciò comporta alterazioni molecolari, spesso irreversibili, con conseguente danno cellulare permanente. Il danno, data l'ubiquità dei gruppi funzionali reattivi con i quali i metalli si legano, è ovviamente esteso a più organi ed apparati (Al-Yousuf et al., 2000), spiegando perché queste sostanze siano tutte tipicamente dei veleni ad azione dannosa diffusa.

I metalli che vengono dispersi in ambiente marino si possono distribuire tra acqua, materiale sospeso, sedimento, acqua interstiziale. In questo modo possono interagire con gli organismi viventi ed attraverso la catena alimentare raggiungere l'uomo (Salomons *et al.*, 1987). Il processo di assorbimento di tali elementi è strettamente legato alla biodisponibilità del metallo e dalla "speciazione" del metallo (forme chimico fisiche di un elemento che, insieme, concorrono alla sua concentrazione totale (Florence, 1982)), a sua volta dipendente dalle caratteristiche dell'*habitat* acquatico in cui il pesce vive, come il pH, la salinità, il contenuto in Ca-fosfato e la temperatura (Grandini, 1993).

Attraverso le branchie, i metalli vengono veicolati attraverso il circolo sanguigno all'interno del corpo e accumulati in specifici organi. Il passaggio attraverso le branchie rappresenta, quindi, un'importante via di entrata della frazione solubile dei metalli pesanti.

Molti organismi acquatici possono, bioconcentrare i metalli pesanti (Soto *et al.*, 2000), come le ostriche ed i mitili che possono contenere livelli di mercurio e di cadmio 100.000 volte superiore a quelli presenti nelle acque in cui vivono.

Anche i sedimenti rivestono un ruolo importante nella valutazione della contaminazione da metalli in tracce in un ecosistema acquatico, dal momento che costituiscono la principale fase di trasporto all'interno del ciclo idrogeologico, la fonte e/o il serbatoio per le acque sovrastanti e la più importante via di esposizione e accumulo per gli organismi bentonici.

Cadmio

Il Cadmio (Cd) di aspetto metallico, è tossico e relativamente raro; tenero, bianco-argenteo con riflessi azzurrognoli. Si trova nei minerali dello zinco e in altri metalli come impurezza. La presenza ambientale di questo metallo è andata aumentando negli ultimi anni in conseguenza alle sue svariate applicazioni; deriva dagli scarichi dell'industria dello zinco e della galvanoplastica, dagli

scarichi delle vernici e smalti e dall'impiego dei concimi fosfatici spesso contaminati da cadmio. Nella sua forma ionica viene principalmente impiegato come pigmento. Il cadmio presenta la caratteristica di essere facilmente assorbibile e difficilmente eliminabile dall'organismo (Reilly, 1991); nell'ambito acquatico dall'acqua viene immagazzinato nei sedimenti, viene trasferito e si concentra specialmente nel fitoplancton, nelle macrofite e di conseguenza nei crostacei e nei molluschi. Gli invertebrati marini presentano un fattore di concentrazione rispetto all'acqua da 300 fino a 1000 volte (Cossa e Lassus, 1989). Nei pesci i fattori di accumulazione sono più bassi. Un'esposizione acuta a polveri di cadmio pari a 5 mg/m^3 è letale in circa 8 ore; esposizioni pari a 1 mg/m^3 possono invece dare una tossicità rilevante a livello dell'albero respiratorio, con dispnea, tosse, febbre ed astenia. L'ingestione di alimenti contaminati con cadmio provoca invece una sindrome gastroenterica caratterizzata da diarrea, nausea, vomito e disidratazione.

Rame

Il Rame (Cu) è un metallo rosato o rossastro, di conducibilità elettrica e termica elevatissime, superate solo da quelle dell'argento; è molto resistente alla corrosione e non è magnetico. È facilmente lavorabile, estremamente duttile e malleabile; può essere facilmente riciclato e i suoi rottami hanno un alto valore di recupero; si combina con altri metalli a formare numerose leghe metalliche, le più comuni sono il bronzo e l'ottone.

È un metallo essenziale a livello biotico, le cui concentrazioni sono in parte controllate da meccanismi omeostatici, se viene però assunto in condizioni elevate e per lunghi periodi diventa tossico (Lundebye *et al.*, 1999; De Boeck *et al.*, 1995).

Zinco

Lo Zinco (Zn) è il quarto metallo più comune nell'uso tecnologico dopo il ferro, alluminio e rame, per tonnellate di metallo prodotto annualmente. Si usa per galvanizzare metalli come l'acciaio, per prevenirne la corrosione, si usa in leghe come l'ottone, il nichel-argento e in varie leghe per la saldatura. In acqua manifesta la sua tossicità ad elevate concentrazioni, distruggendo il tessuto delle branchie degli organismi acquatici e producendo cambiamenti nella

composizione chimica del fegato e del tessuto muscolare (Malik *et al.*,1998). Lo zinco è uno degli oligoelementi più studiati e di cui si sia accertata l'esistenza di uno stato di carenza degli organismi. E' parte di metallo-enzimi in cui lo zinco svolge un ruolo non solo catalitico ma anche di regolazione e strutturale. Le attività enzimatiche Zn-dipendenti sono coinvolte nei principali aspetti del metabolismo cellulare, specie nella sintesi proteica e nella replicazione e trascrizione del DNA. Risulta, quindi, fondamentale per la crescita e il trofismo cellulare. Malik *et al.* (1998) hanno dimostrato come, in *Channa punctatus*, lo Zn influenzi il trasporto branchiale di sangue, la funzione del sistema nervoso, la respirazione e la capacità di nuoto. Il metabolismo dell'animale rallenta con il tempo di esposizione e si osserva un declino nel valore calorifico dei lipidi, delle proteine e del glicogeno nel muscolo e nel fegato; infine si osserva anche una degenerazione degli epatociti.

Arsenico

L'Arsenico (As) è un semimetallo che si presenta in tre forme allotropiche diverse: gialla, nera e grigia. E' abbondantemente distribuito nei suoli e nella crosta terrestre; è rilevabile in molte acque ed in quasi tutti i tessuti animali e vegetali. I suoi composti trovano impiego come pesticidi, erbicidi ed insetticidi; è, inoltre, usato in alcune leghe. La tossicità dell'arsenico e dei suoi composti è in relazione alle forme chimiche dell'elemento: i composti inorganici sono i più tossici, seguiti da quelli organici ed infine dall'arsina che è un gas infiammabile ed altamente tossico composto da arsenico ed idrogeno. In passato è stato ampiamente utilizzato in campo farmaceutico ed agricolo, come insetticida ed antiparassitario, ma oggi le restrizioni per la tossicità dell'elemento ne hanno bandito l'uso.

La flora e la fauna acquatiche hanno la capacità di accumulare As ma soltanto in pochi casi si può parlare di biomagnificazione. Pesci, crostacei e molluschi provenienti dall'ambiente marino possono contenere alti livelli di arsenico e possono contribuire in modo significativo all'assunzione giornaliera dell'elemento nell'uomo.

Mercurio

Il Mercurio (Hg) è uno dei metalli maggiormente pericoloso. Oltre ai semplici sali, il mercurio forma un'importante classe di composti organo-metallici. Il legame carbonio-mercurio è chimicamente stabile, dovuto ad una bassissima affinità del mercurio con l'ossigeno. Dal punto di vista tossicologico, i più importanti di questi composti organo-metallici sono la sottoclasse di brevi catene alchil-mercuriali, nelle quali il mercurio è legato ad un atomo di carbonio di un gruppo metil, etil o propil.

Già nel 1998, l'EPA (*Environmental Protection Agency*) aveva puntato i riflettori sulle fonti di inquinamento da mercurio, sulla loro tossicità per l'uomo, e sulla necessità di individuare, quantificare e regolamentare le emissioni industriali. Il mercurio è un elemento naturalmente presente in alcuni minerali, ma come contaminante viene prodotto soprattutto da inceneritori e centrali elettriche a carbone. E' uno degli inquinanti più pericolosi in quanto tende ad accumularsi negli organismi e lungo la catena alimentare, ciò rende pressoché impossibile controllarne la dispersione nell'ambiente. Ha azione neurotossica e agisce anche su cuore, reni e sistema immunitario, sia nel caso di avvelenamenti acuti che cronici; può essere assimilato per inalazione di vapori o per ingestione o cibi.

Per l'uomo la fonte principale è proprio quella alimentare, rappresentata per lo più dal consumo di pesci e crostacei. I pesci assimilano il metallo e lo mantengono nei tessuti principalmente sottoforma di metilmercurio, anche se la maggior parte del mercurio ambientale a cui sono esposti è inorganico. I valori più elevati di mercurio sono stati riscontrati nei pescati sottocosta, da imputare all'inquinamento chimico marino principalmente costiero. Le molecole di mercurio metilato penetrano senza difficoltà attraverso le membrane biologiche grazie alle piccole dimensioni e alla loro lipofilia. All'interno delle cellule, queste molecole subiscono delle trasformazioni che danno luogo a nuove specie chimiche che si fissano sugli amminoacidi e sulle proteine.

Piombo

Il Piombo (Pb) è un metallo tenero, pesante, malleabile. Viene usato nell'edilizia, nella produzione di batterie per autotrazione e di proiettili per armi da fuoco e, allo stato liquido, come refrigerante nei reattori nucleari, a volte in lega eutettica con il bismuto. Il piombo è un componente del peltro e di leghe metalliche usate

per la saldatura. L'ingestione di piombo risulta per l'organismo notevolmente tossica e causa una forma di avvelenamento dai sintomi caratteristici, detta saturnismo. A causa dell'utilizzo di piombo nella benzina si è formato un ciclo artificiale. Nei motori delle automobili esso viene bruciato, portando alla formazione di sali quali quelli di cloro, di bromo e alla formazione di ossidi che poi vengono emessi nell'ambiente attraverso gli scarichi. Le particelle più grandi finiscono immediatamente sul terreno o nell'acqua superficiale inquinandola, mentre le particelle più piccole attraversano lunghe distanze aeree e, in parte, rimangono nell'atmosfera e, in parte, ricadono sulla terra sotto forma di pioggia. Il piombo, in ambienti riducenti, è saldamente legato ai solfuri minerali e tende a formare ioni complessi con la materia organica insolubile mentre, negli ambienti ben ossigenati, è incorporato negli ossidi di ferro.

Nichel

Il Nichel (Ni) è un metallo duro, duttile e malleabile e si ritrova in forma elementare soltanto nelle meteoriti ma, combinato con altri elementi, è piuttosto diffuso sulla crosta terrestre in minerali come la garnierite, la millerite, la niccolite, la pentlandite e la pirrotite. L'esposizione al nichel metallico ed ai suoi sali solubili non dovrebbe superare gli 0,05 mg/cm³ per 40 ore a settimana; fumi e polveri di solfuro di nichel sono considerati cancerogeni; molti altri composti del nichel sono sospetti cancerogeni. Il nichel tetracarbonile [Ni(CO)₄] è un gas estremamente pericoloso la cui tossicità è la combinazione di quella intrinseca del metallo con la tendenza che il composto ha a dissociarsi liberando monossido di carbonio, anch'esso altamente tossico.

Cromo

Il Cromo (Cr) è un metallo duro, lucido, color grigio acciaio. Il cromo si estrae sotto forma di cromite (FeCr₂O₄): da questa, riscaldata in presenza di alluminio o silicio, si ottiene il cromo metallico commerciale. Il cromo, nel suo stato esavalente, è un elemento altamente tossico per pressoché ogni organismo vivente, uomo compreso, per il quale si è dimostrata mutagenicità e cancerogenicità. Si discute, invece, se il cromo trivalente sia un oligonutriente essenziale, necessario per il corretto metabolismo degli zuccheri nel corpo umano. La Food Standards Agency inglese, per esempio, ha visto e ricorretto i

dati relativi al fabbisogno umano di tale elemento, spesso supplementato nella dieta in forma di cromo picolinato e varie volte accusato di essere al contrario solamente dannoso o, al più, ininfluenza se assunto in piccole dosi.

Vanadio

Il Vanadio (V) è un elemento raro, tenero e duttile, che si trova sotto forma di composto in certi minerali. Si usa soprattutto in metallurgia, per la produzione di leghe. Un atomo di vanadio è il componente essenziale di alcuni enzimi, in particolare la vanadio-nitrogenasi, usata da alcuni microorganismi per fissare l'azoto. Il vanadio è essenziale per alcuni organismi marini - gli ascidiacea ed i tunicati - dove è presente nelle proteine del loro sangue in concentrazione anche un milione di volte superiore a quella dell'acqua marina circostante. Il vanadio in polvere è infiammabile e tutti i suoi composti sono considerati altamente tossici, causa di cancro alle vie respiratorie quando vengono inalati. Il più pericoloso è il pentossido di vanadio.

3 OBIETTIVO DELLA RICERCA

La presente tesi dottorale ha come obiettivo la valutazione dell'impatto ambientale generato dalle attività di maricoltura e la verifica degli effetti delle attività antropiche come potenziali pericoli per lo stato di salute degli organismi allevati attraverso l'utilizzazione di descrittori di qualità specifici. Tale attività rientra nella visione più ampia di valutazione della qualità del prodotto ittico allevato, attraverso l'uso di descrittori specifici, nell'ottica dello sviluppo di pratiche di acquacoltura che rientrano nei principi della sostenibilità e della qualità totale, ossia del prodotto e dell'ambiente.

Lo scopo è stato quello di indagare su due tipologie di impianti: uno di maricoltura confinato all'interno di un'area portuale con batimetria minore di 25 m ed un impianto maggiormente distanziato dalla costa, installato in un'area con profondità maggiore di 25 m. Le finalità della ricerca, hanno, interessato lo studio sia del comparto abiotico che degli organismi allevati in due diversi impianti di maricoltura. Gli strumenti utilizzati sono stati:

1. La caratterizzazione ambientale al fine di valutare l'influenza dell'impianto sull'ambiente circostante e viceversa. Il sedimento, corpo recettore finale di tutte le sostanze di scarto e/o produzione dell'impianto e di tutti i composti xenobiotici presenti nell'ambiente in seguito ad attività antropogeniche, è stata analizzato attraverso l'uso di:
 - ✓ descrittori trofici e biochimici: clorofilla-*a* e feopigmenti, concentrazione di Lipidi, Protidi e Glucidi, rapporto RNA/DNA;
 - ✓ descrittori isotopici: isotopi stabili del carbonio: $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}$ e dell'azoto: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $\delta^{15}\text{N}$;
 - ✓ contaminanti ambientali attraverso l'analisi dei metalli pesanti.
2. La valutazione delle qualità del mangime, parte del protocollo nutrizionale degli impianti di maricoltura, attraverso l'utilizzo di:
 - ✓ descrittori biochimici; concentrazione di Lipidi, Protidi e Glucidi;
 - ✓ isotopi stabili del carbonio: $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}$ e dell'azoto: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $\delta^{15}\text{N}$;
 - ✓ analisi dei metalli pesanti, per accertarsi della condizione di contaminazione del mangime e del pesce.

- 3.** Le stesse variabili utilizzate per la caratterizzazione del mangime sono state utilizzate per l'analisi del tessuto edibile di *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* allevati, per stabilire le qualità organolettiche, nutrizionali e lo stato di salute degli stessi.

4 MATERIALI E METODI

4.1 Area di Studio

I due impianti di maricoltura scelti per il raggiungimento degli obiettivi si trovano rispettivamente nella costa settentrionale della Sicilia, all'interno del Golfo di Castellammare nella fascia costiera antistante la città di Trappeto (PA), e nella costa meridionale della Sicilia, all'interno del porto di Licata (AG).

Le due aree di studio sono caratterizzate da un substrato mobile sabbioso/pelitico. In entrambi gli impianti vengono allevate soprattutto spigole (*Dicentrarchus labrax*) ed orate (*Sparus aurata*), ma nell'impianto di Trappeto anche altre specie pregiate come dentice (*Dentex dentex*) e pagello (*Pagellus erythrinus*).

Impianto "Ittica Trappeto" – Golfo di Castellammare

Il Golfo di Castellammare, che costituisce una delle insenature più ampie e profonde della costa siciliana, si estende per circa 78 km da Capo San Vito a ponente, a Punta Molinazzo a levante, occupando una superficie di circa 300 km² (Figura 1). La parte più interna del golfo risente di una bassa circolazione delle acque che si ripercuote sui tempi di ricambio e, di conseguenza, sull'intero assetto sedimentologico e bionomico del tratto di mare racchiuso nell'insenatura; in estate si osserva, infatti, la quasi isotermità e la coincidenza dei flussi d'acqua in superficie e sul fondo, con occasionali fenomeni di ristagno. Molto differente è invece la situazione man mano che uscendo dal golfo ci si sposta verso San Vito; si assiste infatti ad un assetto idrodinamico simile a quello della circolazione generale, con presenza del termoclino e differenza tra la dinamica alle due quote che mostrano una bassa intensità e andamento diretto verso N-NO per il flusso profondo e una direzione tra E e SE per quello superficiale, che comunque risulta più variabile sia in direzione che in intensità. I venti spirano in prevalenza dal IV quadrante nella stagione invernale e spingono le acque contro la costa e generano correnti centrifughe. In estate, i venti spirano in prevalenza dal II e III quadrante: tale regime di vento, invece, dà origine a correnti di deriva verso il largo e mette in moto controcorrenti dal

fondo assimilabili a limitati moti di *upwelling*, con conseguenze sulla qualità delle acque costiere.



Fig. 1 Immagine satellitare del Golfo di Castellammare

L'impianto "Ittica Trappeto", ubicato ad una distanza dalla costa di circa 2.000 m e ad una batimetrica compresa tra 26 e 40 m, rappresenta un sistema di maricoltura in mare aperto. Esso è costituito da 5 gabbie galleggianti da 4.500 m³ (Farmocean) e 6 gabbie galleggianti circolari di circa 12,5 m di diametro e con gabbie cilindriche in rete profonde circa 6 m. Le gabbie Farmocean (Figura 2) sono dotate di un sistema di alimentazione computerizzato. Questo automaticamente determina la scelta ottimale del mangime in base alla quantità e all'età del pesce, condizioni meteo-marine, temperatura dell'acqua, tramite un meccanismo pneumatico del trasporto dell'alimento posto in cima ad ogni gabbia.

Ogni gabbia è costituita da una rete sottile (18 mm) agganciata ad una struttura galleggiante e dal suo sistema per l'alimentazione computerizzato collegato ad un silos di stoccaggio di 3 tonnellate, che permette notevole autonomia. L'alimentatore automatico è composto, inoltre, da un sistema di dosatura, da un

disco rotante distributore, da un sistema di controllo e da un sistema di alimentazione elettrica. Ogni singola unità funzionante ha una capacità massima di 3500 kg di pesce. Ogni gabbia è dotata di una passerella di attracco, rotante attorno alla struttura e sorretta da galleggianti.



Fig. 2 Gabbia “Farmocean” dell’impianto “Ittica Trappeto”

Queste strutture hanno due diversi livelli di galleggiamento: uno per le normali operazioni e uno per le operazioni di servizio e manutenzione. Al primo livello la struttura galleggia semisommersa, con il pontile perimetrale a 3 m sotto la superficie dell’acqua dove il moto ondoso è sensibilmente ridotto. In caso di mareggiate, dunque, si sfrutta la parziale sommergibilità della struttura.

Le 6 gabbie galleggianti più piccole vengono utilizzate per la semina di avannotti di piccola taglia (inferiore ai 15 g) e hanno la funzione di gabbie stagionali per il preingrasso.

Impianto “Ittica San Giorgio” – Porto di Licata

Il porto di Licata (AG) si trova nella costa meridionale della Sicilia, tra Porto Empedocle e Gela, esso è costituito da due dighe, una di ponente e una di levante e da due moli interni. La diga ad ovest è raccordata ad un vecchio molo e, con questo, forma una darsena per pescherecci; a questa diga è radicato sul

lato esterno, a circa 200 m dalla testata, un prolungamento a scogliera della stessa, di circa 600 m, orientato per SSE. La diga ad est è lunga circa 1.900 m e protegge l'intero porto dai banchi mobili che sono dovuti alla presenza della foce del fiume Salso (Figura 3). All'interno di queste due grandi dighe, esistono due moli che racchiudono la darsena centrale commerciale.



Fig. 3 Il Porto di Licata con a sinistra la foce del Fiume Salso

L'impianto "Ittica San Giorgio", ubicato all'interno del porto di Licata ad una batimetrica minore di 25 m, rappresenta un sistema di maricoltura costiera ravvicinata.

Le correnti sono costanti in tutto il periodo dell'anno e ciò favorisce lo smaltimento dei cataboliti, la riduzione della sedimentazione nel sito e, soprattutto nel periodo estivo, un rapido ricambio d'acqua all'interno delle gabbie. Le condizioni climatiche sono particolarmente favorevoli, in quanto le temperature medie mensili del sito non raggiungono, nel periodo invernale, valori al di sotto dei 13 °C e nel periodo estivo, grazie alle costanti correnti litoranee, non superano i 26 °C. Le strutture di allevamento sono costituite da

gabbie galleggianti circolari (Figura 4), di diverse dimensioni: le più grandi hanno un diametro di 20 metri, mentre quelle più piccole di 15 metri. Ogni gabbia è composta da due reti, una interna per il contenimento dei pesci ed una esterna per la protezione dai predatori. La maglia delle reti è di diverso calibro e larghezza, a seconda della pezzatura del pesce da contenere.



Fig. 4 Sistema di gabbie circolari dell’impianto “Ittica San Giorgio”.

Per evitare un eccessivo *fouling* sulla rete è pianificato un programma di cambiamento periodico delle reti, che non restano in acqua per più di sei mesi. Le reti vengono pulite con l’ausilio di un’apposita lavatrice senza l’aggiunta di alcun detergente. Le parti galleggianti vengono periodicamente liberate dal materiale biologico formatosi sotto la linea di galleggiamento. Non viene fatto uso di vernici antivegetative in alcuna parte delle strutture dell’impianto.

L’alimentazione è costituita da somministrazione di mangime distribuito manualmente da personale specializzato. Le densità di allevamento sono diverse in funzione della pezzatura del pesce all’interno delle singole gabbie.

4.2 Attività di campo

Il disegno sperimentale ha previsto due prelievi per quanto riguarda la componente abiotica: un campionamento nel periodo di alta produttività (**Tempo 1**: Maggio/Luglio 2009) ed uno che nel periodo di bassa produttività (**Tempo 2**: Novembre 2009/Gennaio 2010).

I prelievi di sedimento, in entrambe le aree di studio, Trappeto e Licata (Figg. 5 e 6), sono avvenuti in 7 stazioni, la cui localizzazione è stata definita tramite un *Global Positioning System* (GPS) e scelta in base ad una specifica posizione rispetto alle gabbie contenenti i pesci allevati.



Fig. 5 Impianto “Ittica Trappeto”: stazioni di campionamento del sedimento (TR1 – TR7) e indicazione delle gabbie Farmoceano (F1 – F5) e circolari (M).



Fig. 6 Impianto “Ittica San Giorgio”: stazioni di campionamento del sedimento (LC1 – LC7).

I campioni di sedimento, per l'analisi dei descrittori trofici e biochimici (clorofilla-*a* e feopigmenti, concentrazione di Lipidi, Protidi e Glucidi, rapporto RNA/DNA) e dei descrittori isotopici (isotopi stabili dell'azoto: $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $\delta^{15}\text{N}$), sono stati prelevati ad una profondità media di circa 30 m a Trappeto e di 10 m a Licata. Tali campioni sono descritti nella Tabella 2.

Il prelievo di sedimento utilizzato per l'analisi dei metalli pesanti, invece, è avvenuto sia a Trappeto che a Licata, in 2 stazioni: NEAR in prossimità dell'impianto e FAR, distanziata che funge da controllo (Figure 7 e 8).

Il sedimento è stato prelevato con l'ausilio di imbarcazioni messe a disposizione dagli operatori degli impianti. Il prelievo è avvenuto manualmente in immersione A.R.A. da parte di operatori subacquei, per mezzo di carotatori in *plexiglass* trasparente aventi un diametro interno di 4 cm e dotati di tappi da applicare ad entrambe le estremità.

In ogni stazione i campioni sono stati raccolti in triplice replica. Le carote sono state subito poste a -20°C fino al momento delle determinazioni analitiche.

Tab. 2. Descrizione delle stazioni di campionamento a Trappeto e a Licata del sedimento per l'analisi delle variabili trofiche, biochimiche e isotopiche

Impianto	Stazione	Posizione	Profondità
Trappeto	TR 1	1500 m a sud-ovest rispetto ad F5	25 m
	TR 2	50 m a sud ovest rispetto a F4	30 m
	TR 3	50 m a sud ovest rispetto a F3	30 m
	TR 4	Al centro rispetto a F1, F2, F3	30 m
	TR 5	250 m a nord est rispetto ad M	30 m
	TR 6	700m a nord-est rispetto a M	30 m
	TR 7	1500m a nord-est rispetto a M	30 m
San Giorgio Licata	LC 1	1000 m a nord-ovest rispetto ad LC 2	10 m
	LC 2	Ingresso del porto	14 m
	LC 3	Al centro dell'impianto ovest	10 m
	LC 4	Interno del porto	7 m
	LC 5	Al centro dell'impianto est	10 m
	LC 6	650 m a nord-est rispetto a LC 2	10 m
	LC 7	Foce fiume Salso	3 m



Fig. 7 Impianto “Ittica Trappeto”: stazioni di campionamento del sedimento NEAR e FAR.



Fig. 8 Impianto “Ittica San Giorgio”: stazioni di campionamento del sedimento NEAR e FAR

Per quanto riguarda gli organismi, sono stati campionati le due specie ittiche più rappresentative negli allevamenti, cioè il *Dicentrarchus labrax* e lo *Sparus aurata*. I campioni di pesci, prelevati dalle diverse vasche, appartenevano a quattro classi di taglia, così suddivise:

- **a**=avannotti, con peso totale compreso 10 e 25 gr;
- **taglia 1°** con peso totale compreso tra 25 e 50 gr;
- **taglia 2°** con peso totale compreso tra 50 e 150 gr;
- **taglia 3°** con peso totale compreso tra 150 e 400 gr.

Le orate erano rappresentate in tutte le taglie sopradescritte, sia a Licata che a Trappeto, mentre per quanto riguarda le spigole, gli unici individui presenti sono stati quelli appartenenti alle classi di taglia a, 1° e 3° a Trappeto, e 1° e 2° a Licata.

Per ogni organismo (4 individui per ogni classe di taglia disponibile) sono stati rilevati i seguenti parametri biometrici: lunghezza totale (LT, cm), lunghezza standard (LS, cm), lunghezza alla forca (LF, cm) e peso umido totale (PT, kg).

In tabella 3 vengono elencati i valori biometrici di tutti i pesci campionati

Da ogni organismo è stato prelevato un campione di tessuto muscolare dorsale, che è stato conservato a -20°C fino allo svolgimento delle analisi

In entrambi gli impianti di allevamento, sono stati prelevati, anche, campioni di mangimi, corrispondenti a 3 diverse pezzature, utilizzate, secondo il protocollo nutrizionale, nelle diverse fasi di crescita del pesce allevato, come riportato in Tabella 4. Ogni campione è stato ottenuto prelevando da sacchi diversi della stessa partita onde costituire un *pool* rappresentativo per le indagini. Tutti i mangimi sono stati posti all'interno di sacchetti di plastica ad uso alimentare, per evitare problemi di cessione e, successivamente, posti in contenitori di plastica per proteggerli dall'esposizione solare ed assicurarne la conservabilità. Una volta giunti in laboratorio, i campioni sono stati sottoposti ad opportuno sminuzzamento e quindi accuratamente omogeneizzati.

Le varie tipologie di mangime sono di diverse marche nei due impianti (Trappeto e Licata), ma uguali nelle composizioni generali; sono cioè in tutti i casi costituite da:

- prodotti di pesce
- oli e grassi
- prodotti e semiprodotto di semi oleosi
- cereali

- prodotti e semiprodotti di cereali

Su tutti i campioni di tessuto muscolare di pesce e sui mangimi sono state analizzate la composizione biochimica (concentrazione di Lipidi, Protidi e Glucidi), la composizione isotopica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) e i metalli pesanti (Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, Pb, Hg, As e V).

Tabella 3 Valori medi dei pesi totali (gr) e delle lunghezze totali (cm) delle classi di taglia delle orate e delle spigole di Trappeto e di Licata.

Trappeto									
Specie	Taglia	peso	dev.st	max	min	LT	dev.st	max	min
Orata	a	16,30	2,6	18,6	10,9	9,60	0,6	10,0	7,5
Orata	1°	37,95	7,6	43,1	26,1	13,47	0,8	14,2	12,2
Orata	2°	92,40	16,8	123,1	48,4	18,23	1,0	20,0	17,2
Orata	3°	286,63	69,9	366,5	153,3	26,25	2,2	29,0	23,5
Spigole	a	18,71	1,3	19,6	16,7	10,32	0,4	11,9	9,6
Spigole	1°	36,58	6,6	47,1	26,1	13,98	0,8	15,0	12,8
Spigole	3°	341,8	41,8	402,3	149,1	32,28	1,6	34,2	30,5

Licata									
Specie	Taglia	peso	dev.st	max	min	LT	dev.st	max	min
Orata	a	19,50	4,1	23,9	12,7	10,68	0,7	12,0	9,5
Orata	1°	43,80	6,5	49,6	38,1	13,33	1,1	14,5	12,4
Orata	2°	96,33	21,4	142,3	50,1	19,97	0,5	20,5	19,5
Orata	3°	245,67	55,7	309,2	146,7	23,75	1,6	25,7	21,5
Spigole	a	19,27	1,3	19,8	17,1	11,28	0,4	11,5	10,7
Spigole	1°	35,40	2,6	47,2	23,8	14,02	0,5	14,4	10,5
Spigole	2°	125,80	28,0	170,9	79,3	22,98	1,5	24,5	22,0

Tabella 4 Mangime somministrato ai pesci allevati negli impianti di Trappeto e Licata

Classe di taglia pesci	Tipologia di mangime	Dimensione mangime
a	P1	2 mm
1°	P1	2 mm
2°	P2	3 mm
3°	P3	4 mm

4.3 Attività di laboratorio

Tutte le analisi che hanno riguardato la matrice abiotica, sono state svolte sullo strato 0-1 cm delle carote di sedimento.

Fitopigmenti

La stima dei fitopigmenti, espressione della biomassa microfitobentonica, è stata condotta secondo il metodo di Plante-Cuny (1974), leggermente modificata, su aliquote di sedimento (fino a 2 g), messo in una provetta di vetro contenente carbonato di magnesio, la cui presenza evita la rapida degradazione della clorofilla-*a*. L'estrazione dei pigmenti fotosintetici avviene a freddo in una soluzione di acetone al 90 %. Le provette contenenti i campioni vengono quindi tappate accuratamente, agitate mediante vortex e poste in frigorifero (4 °C) al buio. Dopo centrifugazione, su ogni estratto la concentrazione della clorofilla-*a* è stata determinata per via spettrofotometrica alle lunghezze d'onda di 665 e 750 nm (Lorenzen e Jeffrey, 1980). La quota dei feopigmenti è stata determinata trattando successivamente l'estratto con acido cloridrico, rileggendo la sua assorbanza alle lunghezze d'onda di 665 e 775nm. I risultati sono stati espressi in µg/g di peso secco.

I Pigmenti Cloroplastici Equivalenti (CPE) sono stati calcolati come somma delle concentrazioni di Clorofilla-*a* e Feopigmenti (Pfannkuche, 1993).

Composizione Biochimica

Le analisi della composizione biochimica sono state effettuate separatamente su aliquote di sedimento (circa 0.5 – 1 gr), di mangime (circa 10 mg omogenato in 1 ml di acqua deionizzata fredda) e di muscolo di pesce (circa 30-40 mg per i protidi e i carboidrati e circa 6 mg per i lipidi in 1 ml di acqua deionizzata fredda).

La concentrazione dei carboidrati totali è stata stimata secondo la metodica proposta da Dubois *et al.* (1956) ed applicata ai sedimenti da Gerchacov e Hatcher (1972), sfruttando la capacità degli zuccheri di reagire con fenolo ed acido solforico. Il trattamento in bagno ad ultrasuoni facilita l'estrazione

(Danovaro e Fabiano, 1990). L'assorbanza del campione è stata letta, allo spettrofotometro, alla lunghezza d'onda di 485 e 600 nm. Il calcolo della concentrazione è stato effettuato sulla base di rette di taratura ottenute facendo reagire soluzioni standard di D(+) Glucosio secondo la metodica descritta.

Il dosaggio delle proteine è stato effettuato con il metodo di Hartree (1972). Tale metodo colorimetrico sfrutta la proprietà delle proteine di reagire in una prima reazione con il tartrato rameico ed in una seconda reazione con il reattivo di Folin-Ciocalteu in ambiente basico (pH 10). L'aggiunta del reattivo Folin-Ciocalteu permette di ottenere una colorazione blu stabile e proporzionale al tenore proteico nella miscela di reazione. Al fine di ottimizzare l'estrazione delle proteine, il dosaggio è preceduto da trattamento ad ultrasuoni (Khripounoff *et al.*, 1985; Le Coz, 1985). Dopo centrifugazione si è proceduto alla lettura mediante spettrofotometro. L'assorbanza del campione è stata letta alla lunghezza d'onda di 650 nm. La retta di taratura è stata effettuata utilizzando albumina sierica bovina (BSA).

La stima dei Lipidi è stata effettuata previa estrazione in solvente organico (cloroformio e metanolo), in accordo con Bligh e Dyer (1959), semplificando il metodo con trattamento in bagno ad ultrasuoni (Danovaro e Fabiano, 1990). La successiva determinazione è stata eseguita seguendo il metodo di Marsh e Weinstein (1966). Si tratta di una carbonificazione in presenza di acido solforico concentrato a 200 °C che sviluppa una colorazione bruna proporzionale alla concentrazione dei lipidi. La retta di taratura è stata realizzata con tripalmitina e le letture sono state effettuate a 375 nm.

I risultati sono stati espressi in $\mu\text{g/g}$ di peso secco.

Per ogni determinazione biochimica del sedimento, i bianchi sono stati preparati a partire dallo stesso campione trattato preventivamente in una fornace a 450 °C per 4 ore, al fine di rimuovere ogni residuo organico.

Gli equivalenti in Carbonio di lipidi (C-LIP), proteine (C-PRT) e glucidi (C-CHO) sedimentari sono stati calcolati usando rispettivamente 0.75, 0.49 e 0.40 μgCg^{-1} come fattori di conversione, mentre il Carbonio della Frazione Biopolimerica sedimentaria (C-BPF) è stato definito come la somma di C-LIP, C-PRT e C-CHO (Fichez, 1991; Fabiano *et al.* 1996; Danovaro e Fabiano, 1997). I valori delle concentrazioni di proteine (PRT) e carboidrati (CHO) sono stati integrati in un indice trofico, PRT/CHO che permette di valutare il bilancio tra la concentrazione totale delle proteine e quella dei carboidrati (Danovaro *et al.*,

2000; Fabiano *et al.*, 2001) e descrive le proprietà e la natura delle risorse trofiche.

Il contenuto in Materia Organica Totale (OM) è stato determinato per calcinazione in accordo al protocollo proposto da Parker (1983). Alcuni grammi di sedimento superficiale (0 - 1 cm) sono stati posti su crogioli in stufa (a 100 °C), per alcune ore fino a peso costante e pesati.

Il contenuto di materia organica totale è stato determinato per differenza ponderale tra il peso del campione essiccato per diverse ore, ed il peso dello stesso campione, una volta volatilizzata la frazione organica per combustione in muffola, i risultati sono stati espressi come % del peso secco del campione analizzato.

Rapporto RNA/DNA

L'estrazione e l'analisi degli Acidi Nucleici sono stati eseguiti con il metodo di Zachleder (1984), come applicato da Danovaro *et al.* (1993, 1996), con qualche modifica per l'estrazione del DNA dai sedimenti. Un'aliquota di sedimento è stato prima trattata con acido perclorico 0,5 N e sonicato tre volte per 1 minuto (con intervalli di 30 secondi). I campioni sono stati dunque riscaldati in bagnetto termostatico a 75°C per 30 minuti sotto continua agitazione. Dopo centrifugazione, è stata misurata l'assorbanza del contenuto totale degli acidi nucleici (TNA) a 260 nm. L'assorbanza del DNA è stata determinata con difenilamina (2% in acido acetico) a 598 nm e convertita in concentrazione usando soluzioni standard di *calf thymus* DNA. Le concentrazioni di DNA sono state, quindi, riportate come equivalenti di assorbanza a 260 nm, in modo da poter calcolare l'assorbanza del RNA dalla differenza delle assorbanze: $ABS_{RNA} = ABS_{TNA} - ABS_{DNA}$. L'assorbanza del RNA è stata convertita in concentrazione, usando soluzioni standard di *baker's yeast* RNA.

Analisi isotopiche

La preparazione del sedimento per l'analisi della composizione isotopica del C e dell'N è avvenuta in questo modo: per ogni campione è stata prelevata un'aliquota di circa 20 gr, che è stata prima setacciata su un filtro di maglia di pochi μm e poi è stata acidificata con HCl 2N, in modo da rimuovere chimicamente la componente carbonatica. Il campione è stato filtrato, mediante

pompe da vuoto, su filtri di fibra di vetro Whatman GF/F con pori di 0.45 µm (precedentemente precalcinati, al fine di eliminare qualsiasi traccia di materiale organico dal filtro). I filtri sono stati sciacquati con abbondante acqua distillata prima di essere posti in stufa ad una temperatura di 60°C.

Il tessuto muscolare dei pesci e il mangime, invece, sono stati lavati ed essiccati in stufa a 60°C fino a peso costante.

Successivamente, tutti i campioni, sono stati ridotti in polvere molto fine mediante l'utilizzo di pestello e mortaio e, quindi, sono stati pesati mediante l'utilizzo di una bilancia analitica. Ogni campione posto in capsule di stagno di 4 mm di diametro, è stato analizzato per la determinazione dei rapporti isotopici di C e N, mediante uno spettrometro di massa (Thermo-Electron Delta Plus XP) per isotopi stabili (IRMS: *Isotope Ratio Mass Spectrometer*), accoppiato ad un analizzatore elementare di carbonio e azoto (Thermo-Electron Flash EA 1112). I risultati sono stati espressi in δ secondo la seguente equazione:

$${}^X\delta = \delta^X E = (R_{\text{campione}}/R_{\text{standard}} - 1) \times 10^3$$

dove: δ = deviazione del rapporto isotopico di un campione, relativa a quella di un campione di riferimento; X = massa dell'isotopo più pesante (¹⁵ per N, ¹³ per C); E = elemento in questione; R = rapporto tra l'isotopo pesante e quello leggero (¹⁵N/¹⁴N e ¹³C/¹²C). La riproducibilità delle analisi è stata di 0.2‰ per entrambi i rapporti isotopici.

Metalli pesanti

La determinazione dei metalli è stata condotta seguendo il protocollo del metodo US EPA 6010B/96 per l'analisi di: mercurio (Hg), cadmio (Cd), piombo (Pb), cromo (Cr), rame (Cu), nickel (Ni), zinco (Zn), arsenico (As) e vanadio (V), che prevede l'utilizzo della tecnica di spettrometria di emissione atomica mediante plasma induttivamente accoppiato (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer*, ICP-OES; Varian Vista MPX).

I campioni, sia di sedimento che di mangime che di pesce, precedentemente seccati a 40°C, sono stati sottoposti ad un processo di mineralizzazione.

All'interno dei vessel in teflon è stato aggiunto un quantitativo noto di campione secco (0.2 gr circa) e vi è stata aggiunta una miscela di reazione, composta da 9 ml di HNO₃ 67-70%, 3 ml di HF al 40%, 0,5 ml di H₂O₂ al 30% e 2,5 ml di acqua

MilliQ per il sedimento e da 5 ml di HNO₃ 67-70%, 1 ml di H₂O₂ al 30% e 4 ml di acqua MilliQ per il mangime e i pesci. Tutti i reagenti erano Suprapuri.

Successivamente, i teflon sono stati introdotti all'interno di un forno a microonde dotato di carosello rotante (CEM, Modello MARS®) e sottoposti ad attacco in "bomba".

Dopo il raffreddamento, ogni campione è stato trasferito in un matraccio e portato ad un volume finale di 50 ml per il sedimento e di 30 ml per il tessuto biologico e il mangime, con acqua deionizzata MilliQ. Per ogni ciclo di mineralizzazione è stato preparato un bianco costituito dalla miscela di estrazione senza il campione. Il controllo analitico è stato effettuato mediante mineralizzazione di materiale certificato: *Marine Sediment* MESS-3 (*National Research Council of Canada*) e il *Dogfish muscle* DORM-2 (*National Research Council of Canada*). Tutte le analisi sono state condotte in triplice replica.

La determinazione quantitativa dei metalli dei campioni mineralizzati e del materiale certificato è stata effettuata attraverso l'impiego di uno spettrometro ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer*, Varian Vista MPX) dotato di un autocampionatore e di un generatore di vapori VGA-77 per la determinazione del mercurio e dell'arsenico.

La quantificazione dei metalli si è basata sulle preparazione di curve di calibrazione a partire da *standard* multi-elemento. Tali curve sono state determinate diverse volte durante il periodo di analisi. Per ogni elemento analizzato è stata scelta una specifica lunghezza d'onda (λ). Il materiale di riferimento certificato sopradescritto è stato analizzato per valutare la percentuale di recupero del processo di mineralizzazione, che è risultato variabile tra il 90 e il 100%.

Il VGA-77 è un generatore di idruri che viene utilizzato per l'analisi di mercurio (Hg) ed arsenico (As): la sua tecnologia a flusso continuo permette che i campioni e i reagenti liquidi vengano pompati insieme e miscelati tra loro. Il prodotto di reazione gassoso viene spinto verso l'ICP-OES da un flusso di argon. Per l'analisi quantitativa del mercurio (Hg), è stata utilizzata una soluzione riducente contenente NaBH₄ 0,3% e NaOH 0,5% ed una soluzione carrier costituita da HCl 5M.

Per la determinazione analitica dell'arsenico (As) è stata utilizzata una soluzione riducente contenente NaBH₄ 0,6% e NaOH 0,5% ed una soluzione carrier costituita da HCl 5-10 M. A 3 ml di campione mineralizzato, è stato aggiunto 3

ml di KI al 5%, 3 ml di acido ascorbico al 5% e 3 ml di HCl al 5% (quindi posto per 45 minuti al buio per evitare la fotossidazione) per trasformare tutto l'arsenico ad As^{3+} in modo che, successivamente, venga ridotto in As elementare. I reagenti sono tutti Suprapuri. Tutti i dati sono stati espressi in mg/kg p.s..

4.4 Elaborazione dati.

I risultati sono stati analizzati mediante un approccio univariato (analisi della varianza, ANOVA) e multivariato (*non-metric multi dimensional scaling*, nMDS).

L'ANOVA è stata eseguita sui valori delle principali variabili relative ai sedimenti, al fine di valutare nei due diversi impianti separatamente le variazioni spaziali e temporali della composizione biochimica ed isotopica della materia organica sedimentaria.

Per ciascun impianto sono stati considerati due fattori: fattore Stazione (7 livelli; a Trappeto: TP1-TP7 e a Licata: LC1-LC7) e fattore Tempo (2 livelli: Tempo 1 e 2, considerati fissi ed ortogonali al fattore Stazione).

L'omogeneità delle varianze è stata verificata tramite il test di Cochran, mentre confronti multipli a posteriori sono stati realizzati mediante test di Student-Newman-Keuls (test SNK) (Underwood, 1997). L'analisi della varianza è stata realizzata mediante il software GMAV5 (University of Sydney, AU).

Le analisi multivariate sono state effettuate sui valori delle variabili biochimiche del sedimento, del mangime e dei pesci e sui valori degli elementi in tracce come i metalli pesanti nei mangimi e nei pesci allevati. Dalle matrici iniziali è stata ricavata la matrice di similarità attraverso le distanze euclidee normalizzate ed è stato poi eseguito l'ordinamento nMDS. Il valore dello "Stress" indica se l'ordinamento ottenuto risulta essere una buona rappresentazione dei dati (stress ≤ 0.1 corrisponde ad una buona rappresentazione; stress ≤ 0.2 corrisponde ad un utile ordinamento a 2-dimensioni, mentre valori di stress ≥ 0.2 corrispondono ad un ordinamento che può portare ad una interpretazione dei dati non corretta). Le analisi sono state realizzate con il software PRIMER 5 (vers. 5.2.9) (Plymouth Routines In *Multivariate Ecological Research*, Plymouth Marine Laboratory, UK) (Clarke e Warwick, 1994).

5 RISULTATI

5.1 Caratterizzazione ambientale – sedimento

Impianto “Ittica Trappeto”

Le Tabelle 5 e 6 riportano i valori medi (\pm d.s.) delle variabili chimico-trofiche (Clorofilla-*a*, Feopigmenti, Materia Organica totale, C-BPF, Lipidi, Protidi e Glucidi) misurate nei sedimenti dell’area di Trappeto, per ciascuno dei due periodi di campionamento.

Le Tabelle 7 e 8 riportano i risultati dell’analisi della varianza (ANOVA) eseguita su tutte le variabili misurate nel sedimento e sull’indice trofico utilizzato, per verificare le differenze tra periodi (tempo 1 e tempo 2) e stazioni (n. 7) e le interazioni tra questi principali effetti. In particolare, l’analisi della varianza ha evidenziato differenze significative tra i due periodi di campionamento che riguardano quasi tutte le variabili analizzate. Anche per il fattore stazione si osservano differenze significative per la maggior parte delle variabili studiate, con livelli più elevati in quelle poste al di sotto dell’impianto.

Le Figure 9 e 10 riportano rispettivamente i valori medi delle concentrazioni di Clorofilla-*a* e di Feopigmenti nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento. I valori medi della concentrazione di clorofilla-*a* subiscono un generale incremento nel secondo periodo di campionamento, con livelli maggiori nei sedimenti della stazione TR1. Anche per i feopigmenti si osserva un andamento simile, con livelli superiori in corrispondenza del secondo periodo di campionamento. Le Figure 11 e 12 riportano il contributo delle due frazioni (clorofilla-*a* e feopigmenti) ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici equivalenti) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni, rispettivamente nel primo e nel secondo tempo di campionamento. In generale, si osserva in tutta l’area di studio un incremento della quota dei feopigmenti in seno ai CPE totali durante il secondo periodo di campionamento.

Tab. 5 Variabili chimico-trofiche misurate nei sedimenti dell'area di Trappeto (OM = Materia Organica Totale; C-BPF = Carbonio della Frazione Biopolimerica).

Stazione	Tempo	Clorofilla-a µg/g		Feopigmenti µg/g		OM %		C-BPF µg/g	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
<i>TR1</i>	1	2.91	0.91	2.20	0.39	1.63	0.14	808.00	41.55
	2	2.24	0.24	3.39	0.97	2.03	0.92	2135.54	124.04
<i>TR2</i>	1	0.98	0.13	3.26	0.21	1.91	0.22	892.37	59.15
	2	1.87	0.25	3.82	1.26	1.83	0.17	1885.91	117.49
<i>TR3</i>	1	1.07	0.41	2.22	0.10	1.67	0.19	1530.70	28.88
	2	1.696	0.32	2.66	1.27	3.09	0.66	2138.09	76.89
<i>TR4</i>	1	2.02	0.99	4.00	0.40	2.43	0.15	1719.99	40.10
	2	1.03	0.41	4.65	2.59	3.19	0.88	2416.75	48.25
<i>TR5</i>	1	1.88	0.30	2.79	0.12	1.58	0.37	902.91	43.95
	2	2.33	0.62	4.20	0.37	2.15	0.69	1561.80	113.18
<i>TR6</i>	1	1.19	0.08	4.59	0.22	0.96	0.09	582.92	85.57
	2	0.63	0.15	2.72	0.43	1.28	0.10	1020.59	73.21
<i>TR7</i>	1	0.15	0.01	3.37	0.30	1.22	0.17	548.59	35.17
	2	0.63	0.19	3.58	0.76	1.13	0.08	1096.13	91.88

Tab. 6 Variabili chimico-trofiche misurate nei sedimenti dell'area di Trappeto.

Stazione	Tempo	Lipidi µg/g		Protidi µg/g		Glucidi µg/g	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
<i>TR1</i>	1	476.72	24.66	658.75	60.37	319.19	34.46
	2	657.47	80.43	2784.30	124.80	1062.80	101.23
<i>TR2</i>	1	438.59	72.70	738.02	52.98	504.48	34.42
	2	798.20	90.12	1952.70	142.40	826.04	52.82
<i>TR3</i>	1	504.99	17.57	1686.80	30.03	813.57	61.95
	2	609.30	35.70	2559.70	80.00	1067.23	68.88
<i>TR4</i>	1	475.20	50.96	2199.98	134.95	714.01	116.00
	2	416.63	32.14	3145.50	91.00	1407.50	75.07
<i>TR5</i>	1	441.97	55.81	790.83	97.35	459.81	15.00
	2	374.71	69.05	1558.20	118.00	543.07	126.01
<i>TR6</i>	1	341.41	69.53	549.75	95.50	143.71	21.55
	2	377.99	76.51	1263.60	105.80	294.77	44.40
<i>TR7</i>	1	251.07	46.01	497.24	67.70	292.18	17.75
	2	382.52	71.83	1365.30	86.20	350.67	70.44

Tab. 7 Analisi della varianza eseguita sulle variabili studiate nei sedimenti dell'area di Trappeto per verificare le differenze nel confronto tra i periodi (T1 = Tempo 1, T2 = Tempo 2), le stazioni (TR1, TR2, TR3, TR4, TR5, TR6, TR7) e le interazioni tra questi principali effetti. [Ns = differenza non significativa ($P > 0,05$)] [Ln(X) = dati trasformati al logaritmo naturale]. Sono stati omessi i risultati del test *a posteriori* SNK.

		Chl-α			Feopigmenti		
Sorgente di variazione	df	MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	5.73	61.48	<0.001	0.2575	3.52	<0.01
Tempo	1	2.78	29.84	<0.001	0.1395	1.91	Ns
Stazione x Tempo	6	1.12	12.07	<0.001	0.2425	3.32	<0.01
Residui	42	0.09			0.0731		
Test Cochran				Ns			Ln(X)
		OM			C-CHO		
Sorgente di variazione	df	MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	2.93	14.21	<0.001	756414.17	158.29	<0.001
Tempo	1	3.08	14.92	<0.001	1518152.03	317.70	<0.001
Stazione x Tempo	6	0.55	2.66	Ns	158572.69	33.18	<0.001
Residui	42	0.21			4778.58		
Test Cochran				Ns			Ns

Tab. 8 Analisi della varianza eseguita sulle variabili studiate nei sedimenti dell'area di Trappeto per verificare le differenze nel confronto tra i periodi (T1 = Tempo 1, T2 = Tempo 2), le stazioni (TR1, TR2, TR3, TR4, TR5, TR6, TR7) e le interazioni tra questi principali effetti. [Ns = differenza non significativa ($P > 0,05$)]. Sono stati omessi i risultati del test *a posteriori* SNK.

Sorgente di variazione	df	C-PRT			C-LIP		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	3422519.61	363.49	<0.001	105363.98	28.62	<0.001
Tempo	1	14844278.77	1576.56	<0.001	134796.28	36.61	<0.001
Stazione x Tempo	6	298006.80	31.65	<0.001	44014.16	11.96	<0.001
Residui	42	9415.63			3681.65		
Test Cochran				Ns			Ns
Sorgente di variazione	df	PRT/CHO			C-BPF		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	4.30	14.00	<0.001	1889982.66	321.90	<0.001
Tempo	1	6.13	19.95	<0.001	7054822.94	1201.56	<0.001
Stazione x Tempo	6	2.01	6.55	<0.001	232121.62	39.53	<0.001
Residui	42	0.31			5871.36		
Test Cochran				Ns			Ns

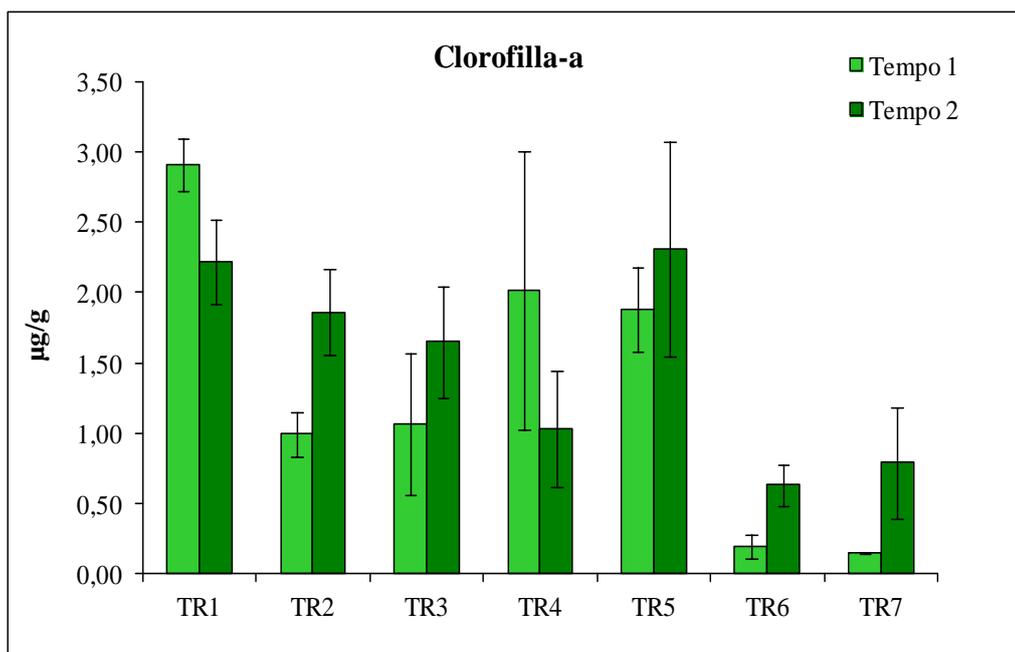


Fig. 9 Valori medi di Clorofilla-a ($\mu\text{g/g} \pm \text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

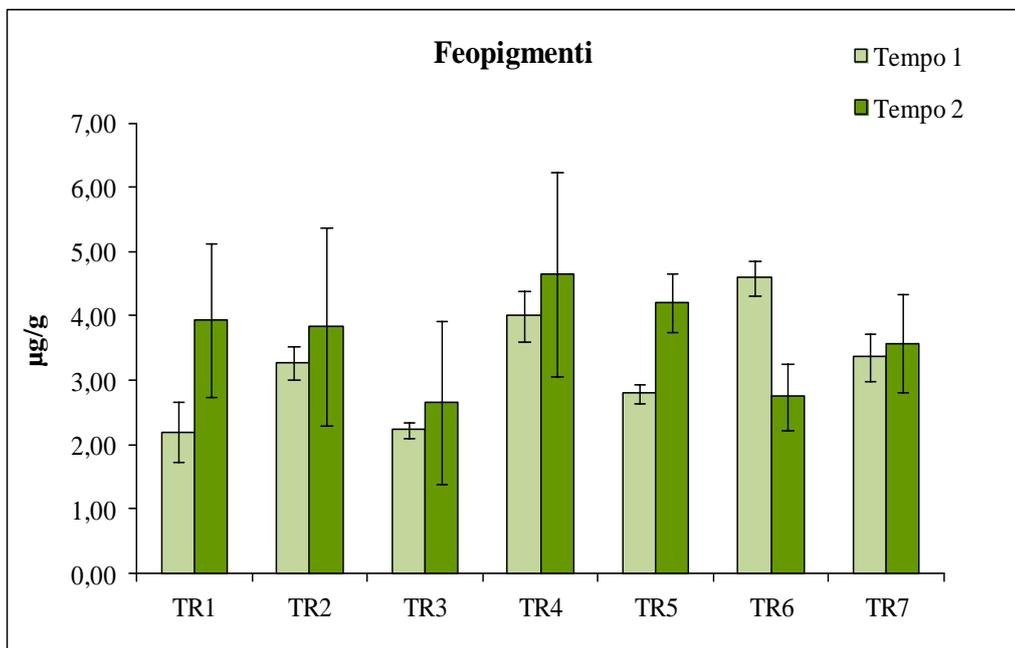


Fig. 10 Valori medi di Feopigmenti ($\mu\text{g/g} \pm \text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

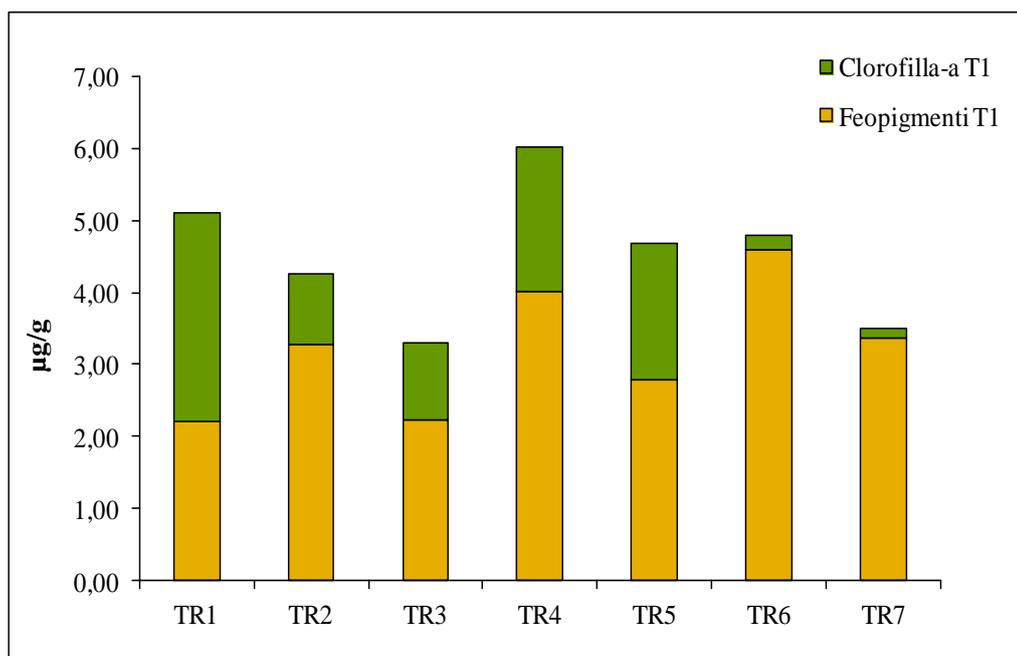


Fig. 11 Contributo della clorofilla-a e dei feopigmenti ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici equivalenti) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto nel primo tempo di campionamento.

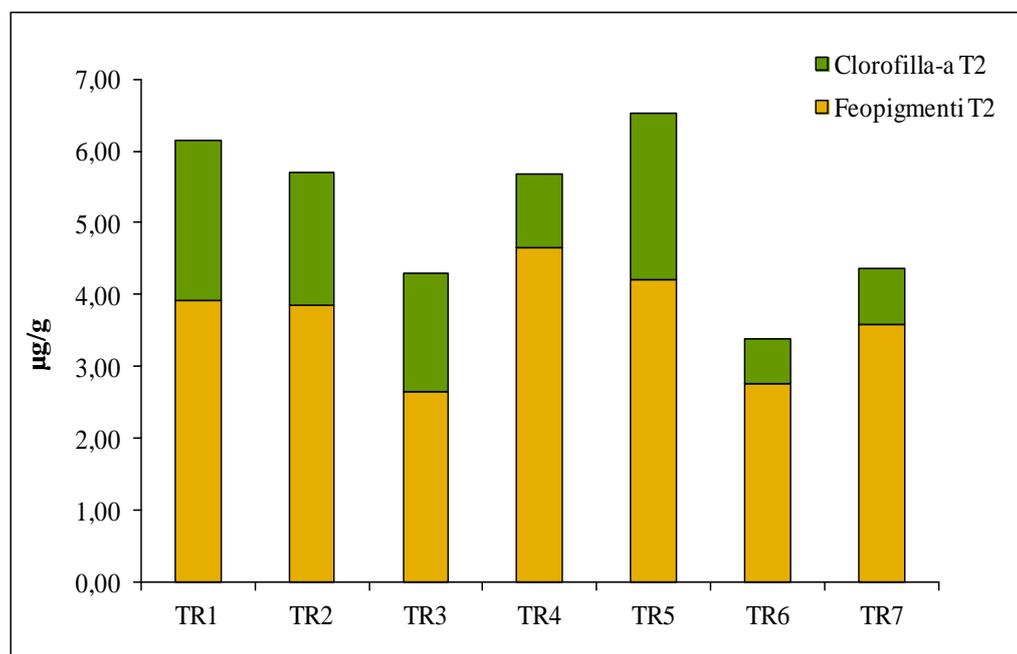


Fig. 12 Contributo della clorofilla-a e dei feopigmenti ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici Equivalenti) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto nel secondo tempo di campionamento.

La Figura 13 riporta i valori medi delle concentrazioni di materia organica (OM) nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento. E' possibile evidenziare come i valori medi di materia organica totale sedimentaria subiscano un incremento nel secondo periodo di campionamento nelle stazioni prossime all'impianto (stazioni TR3, TR4 e TR5).

Le Figure 14-16 riportano, rispettivamente, i valori medi delle concentrazioni dei Lipidi dei Protidi e dei Glucidi nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento. Le proteine e i carboidrati presentano una tendenza all'aumento nel secondo periodo di campionamento, in tutta l'area di studio. Tale incremento è più evidente nelle stazioni poste in prossimità dell'impianto (stazioni TR3 e TR4). E' possibile, inoltre, evidenziare durante il secondo periodo un incremento delle tre variabili anche nei sedimenti delle stazioni poste a monte dell'impianto (stazioni TR1 e TR2).

La Figura 17 riporta i valori medi del rapporto PRT/CHO nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento. Tale indice subisce un incremento in corrispondenza del secondo periodo nelle stazioni poste a valle dell'impianto (stazioni TR5, TR6 e TR7).

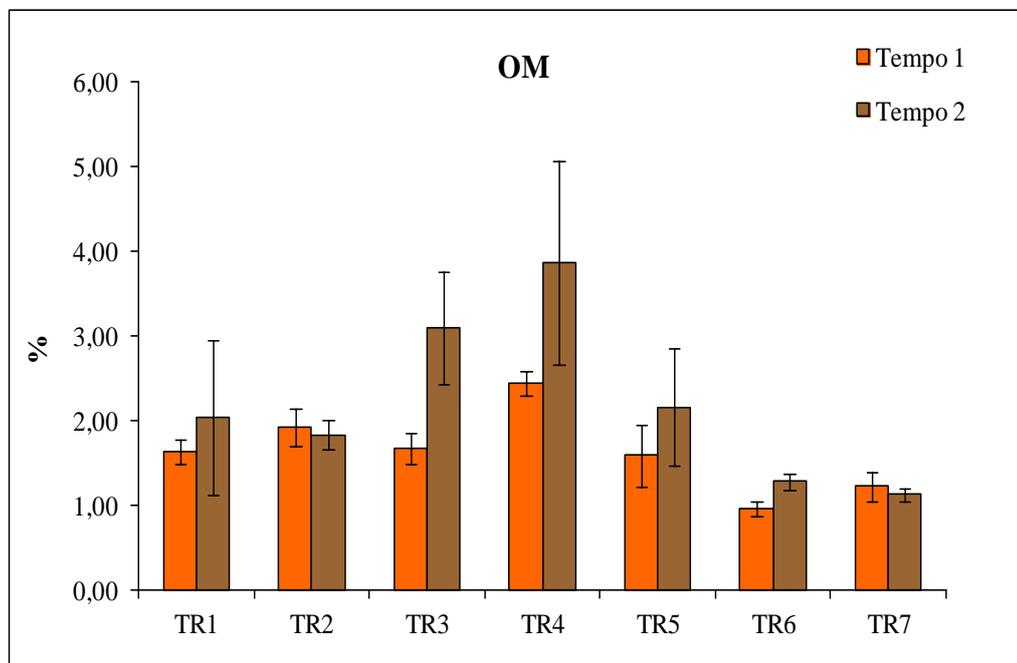


Fig. 13 Valori medi delle concentrazioni di OM (Materia Organica totale) (%±ds) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

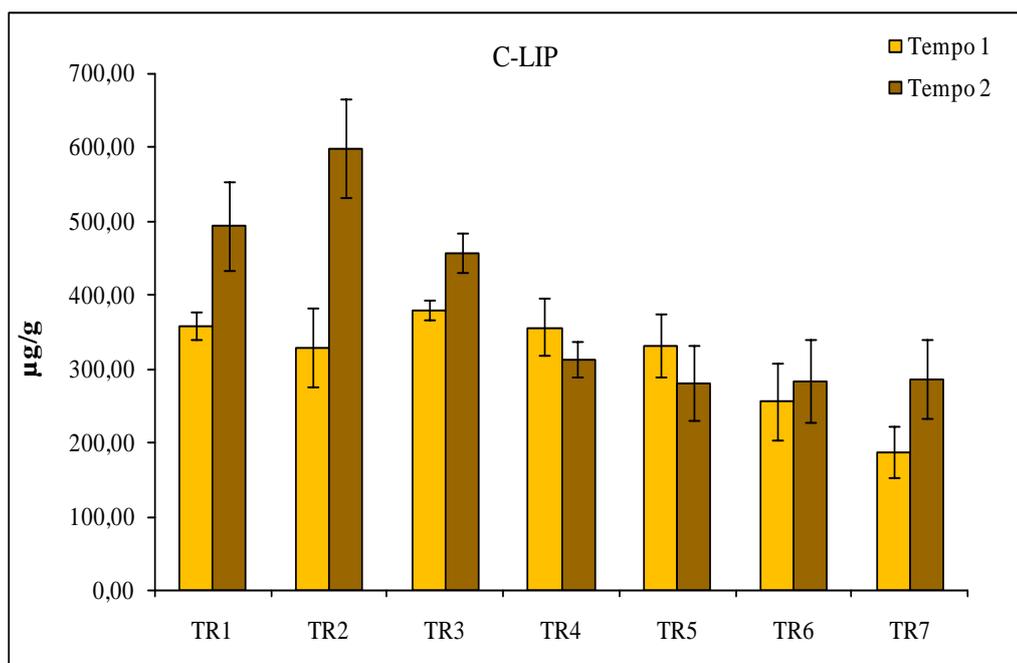


Fig. 14 Valori medi di C-LIP (carbonio da lipidi) ($\mu\text{g/g}\pm\text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

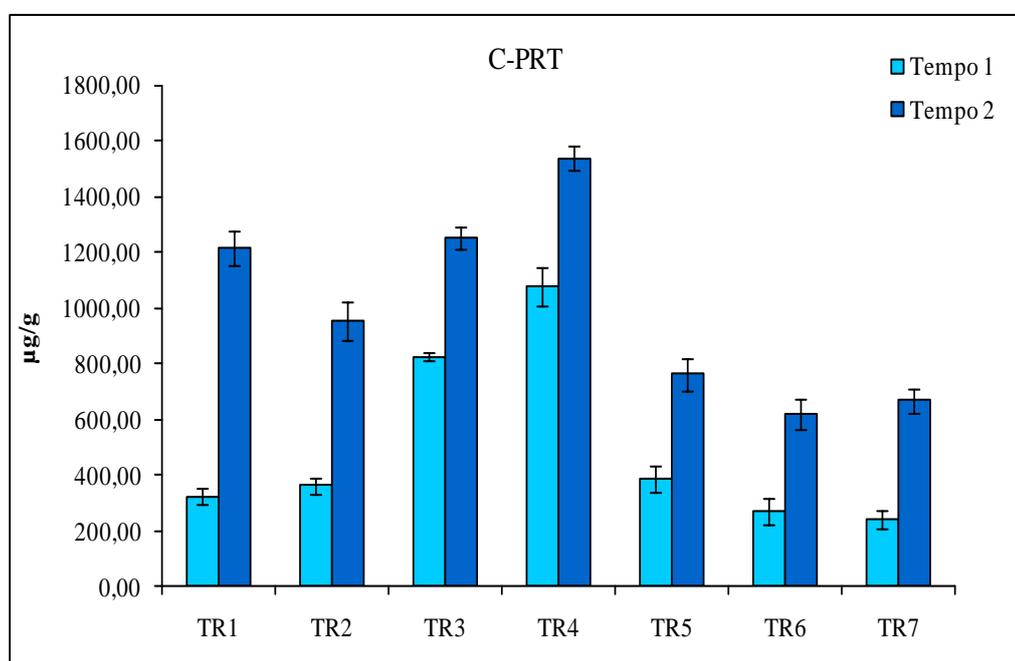


Fig. 15 Valori medi di C-PRT (carbonio da proteine) ($\mu\text{g/g}\pm\text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

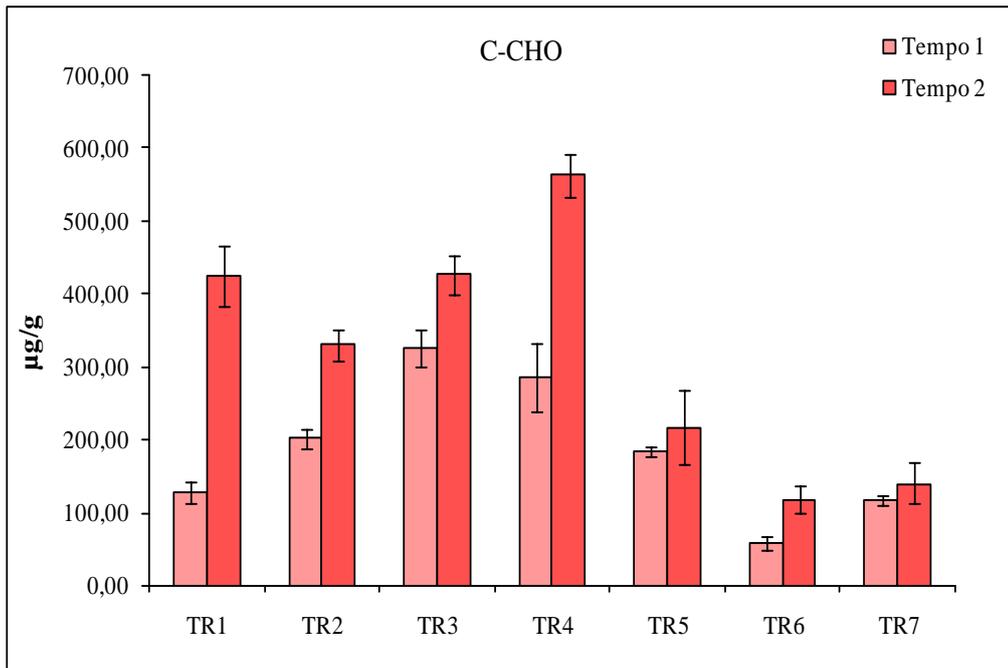


Fig. 16 Valori medi di C-CHO (carbonio da carboidrati) ($\mu\text{g/g} \pm \text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

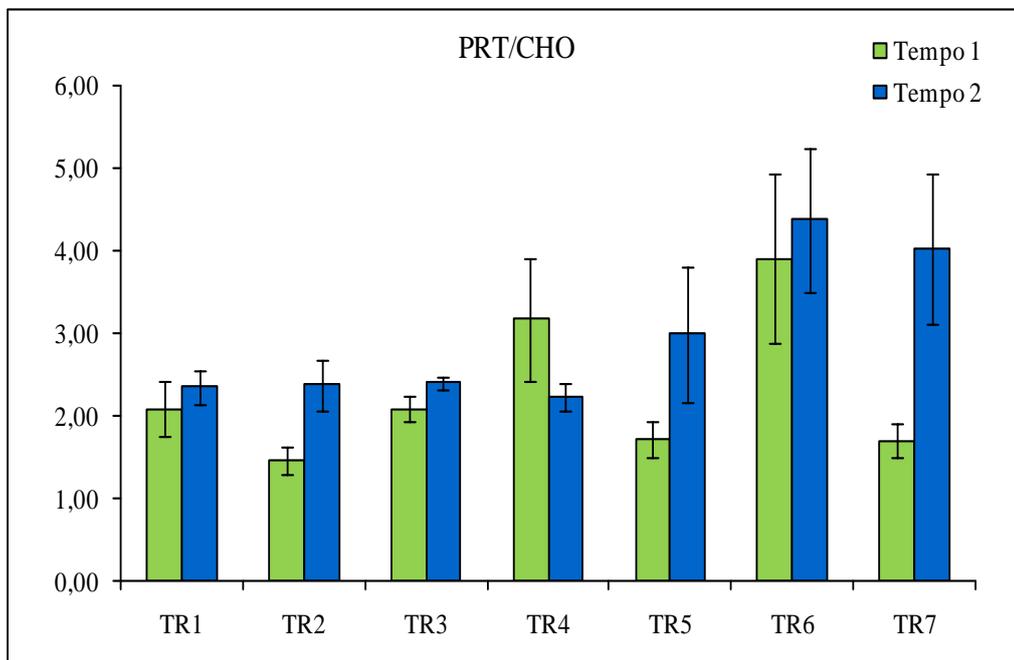


Fig. 17 Valori medi del rapporto PRT/CHO nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, per entrambi i tempi di campionamento.

Le Figure 18 e 19 riportano il contributo delle tre frazioni di carbonio (C-LIP, C-PRT e C-CHO) ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni, nel primo e nel secondo tempo di campionamento. E' evidente un incremento dei livelli di tale variabile, durante il secondo periodo di campionamento, nei sedimenti di tutte le 7 stazioni. Tale incremento è ascrivibile per lo più alla frazione proteica, che risulta in generale dominante in seno alla materia organica sedimentaria di tutta l'area, ma che subisce in tale periodo un incremento nelle stazioni prossime all'impianto ed in quelle situate a monte (stazioni TR1, TR2, TR3 e TR4).

La Figura 20 riporta i risultati dell'analisi multivariata (nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate) dei valori delle variabili misurate nei sedimenti delle sette stazioni, in entrambi i periodi di campionamento. Tale analisi ha sottolineato una differenziazione tra le stazioni TR1, TR2, TR3 e TR4 rispetto alle altre.

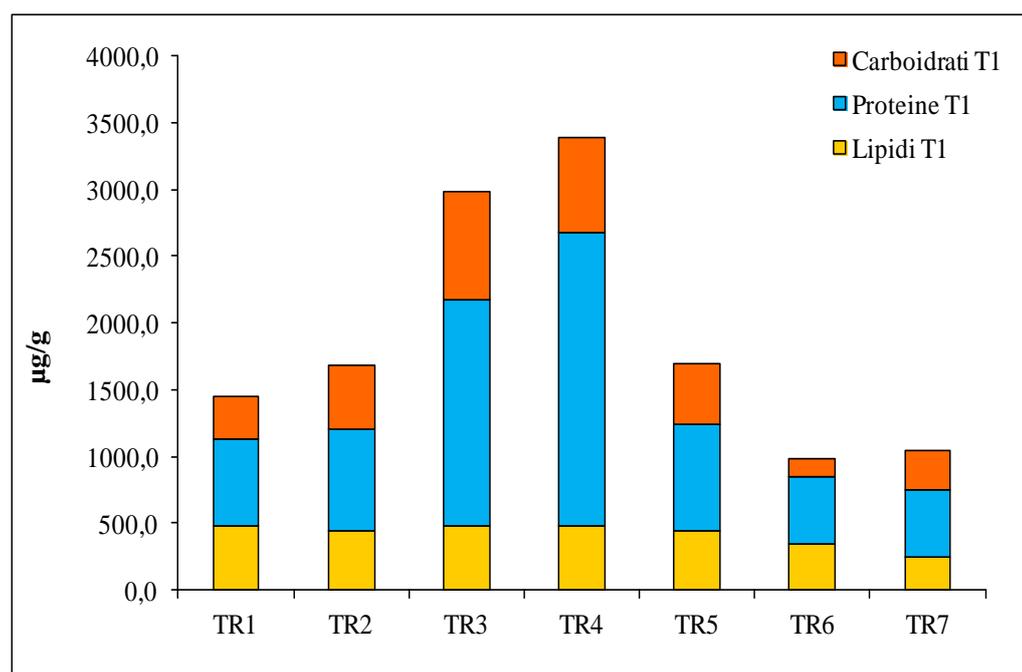


Fig. 18 Contributo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, nel primo tempo di campionamento.

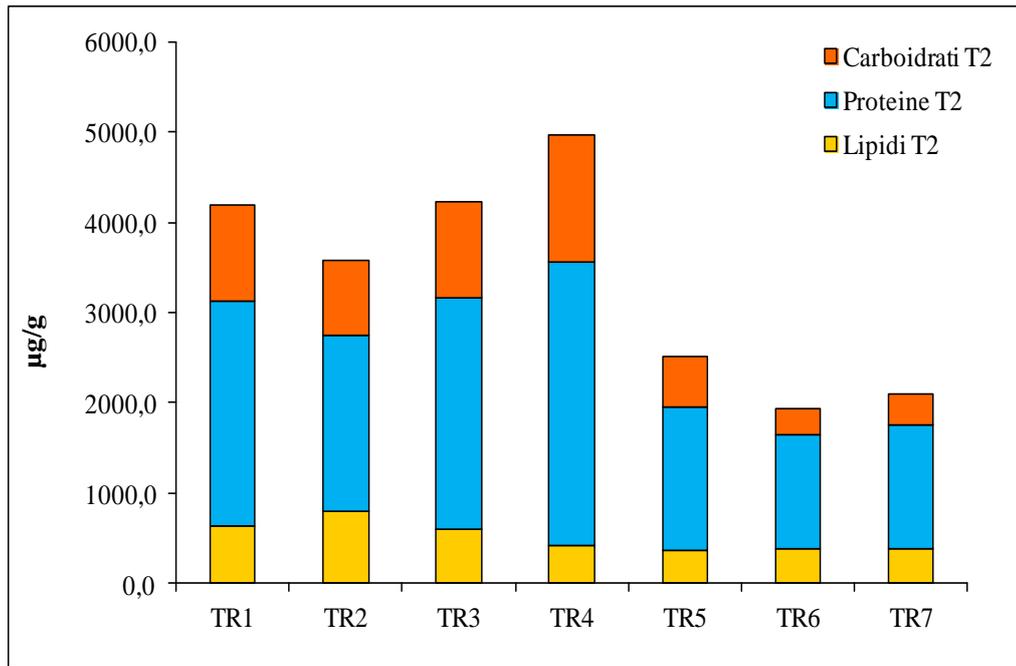


Fig. 19 Contributo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, nel secondo tempo di campionamento.

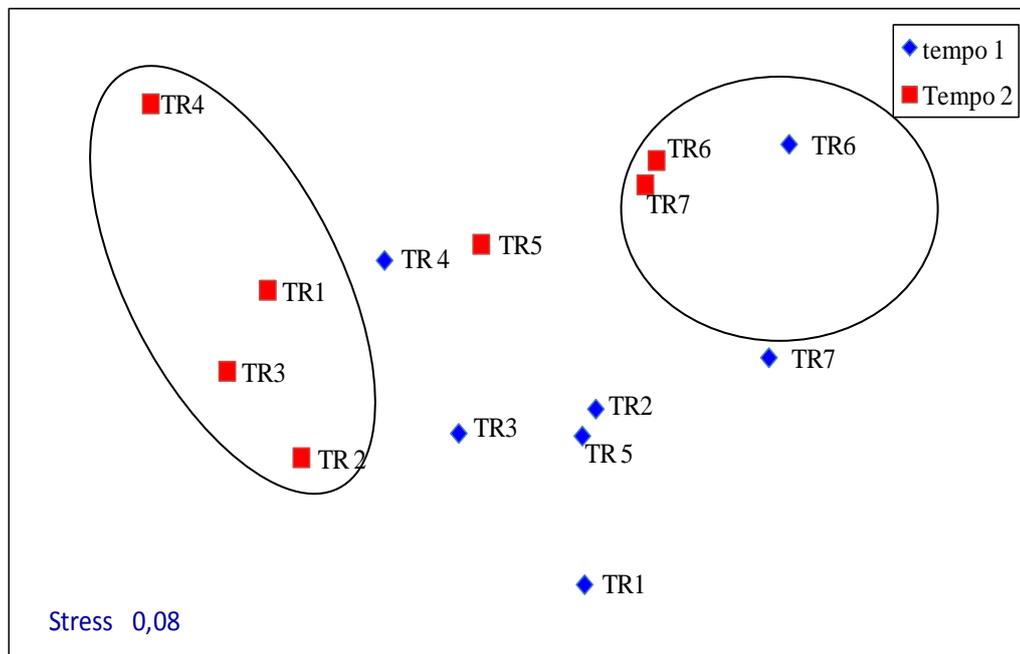


Fig. 20 nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate dei valori delle variabili biochimiche e trofiche misurate nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Trappeto, in entrambi i periodi di campionamento.

Per quanto riguarda la composizione isotopica dei sedimenti, nell'impianto di Trappeto il $\delta^{13}\text{C}$ ha presentato valori nel *range* piuttosto ristretto compreso tra -23,8‰ e -21,1‰, con un valore medio di $-23,0 \pm 0,5$ ‰ (Figura 21). Valori isotopici leggermente più impoveriti sono stati registrati nelle stazioni TR2, TR3 e TR4 (in media -23,4‰, in entrambi i periodi di campionamento) (v. ANOVA, Tabella 9). Anche le variazioni temporali sono risultate di modesta entità (min. $-23,1 \pm 0,4$ ‰, max. $-22,9 \pm 0,6$ ‰), seppure significative (Tabella 9).

Nel sito di Trappeto il $\delta^{15}\text{N}$ ha mostrato valori nel *range* 1,3-5,4‰, ed un valore medio di $4,1 \pm 0,9$ ‰ (Figura 22). In generale, i valori più elevati sono stati registrati nel primo periodo di campionamento (in media $4,5 \pm 0,5$ ‰) rispetto al secondo (in media $3,6 \pm 1,0$ ‰) (v. ANOVA, Tabelle 9). La variabilità tra le stazioni è stata maggiore nel secondo periodo. Mentre nel Tempo 1 è stata la stazione TR6 a risultare più impoverita delle altre, nel Tempo 2, valori significativamente più bassi sono stati osservati nelle stazioni TR3, TR4 e TR5 (Tabella 9).

Tabella 9 Risultati dell'ANOVA effettuata per valutare le variazioni spaziali e temporali della composizione isotopica della materia organica sedimentaria di Trappeto.

	Impianto Trappeto						
	df	$\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{15}\text{N}$		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	1.31	12.85	<0.001	2.15	8.68	<0.001
Tempo	1	0.48	4.72	<0.05	12.97	52.26	<0.001
Stazione x Tempo	6	0.47	4.62	<0.01	1.51	6.10	<0.001
Residui	42	0.10			0.25		
Cochran test				ns			ns

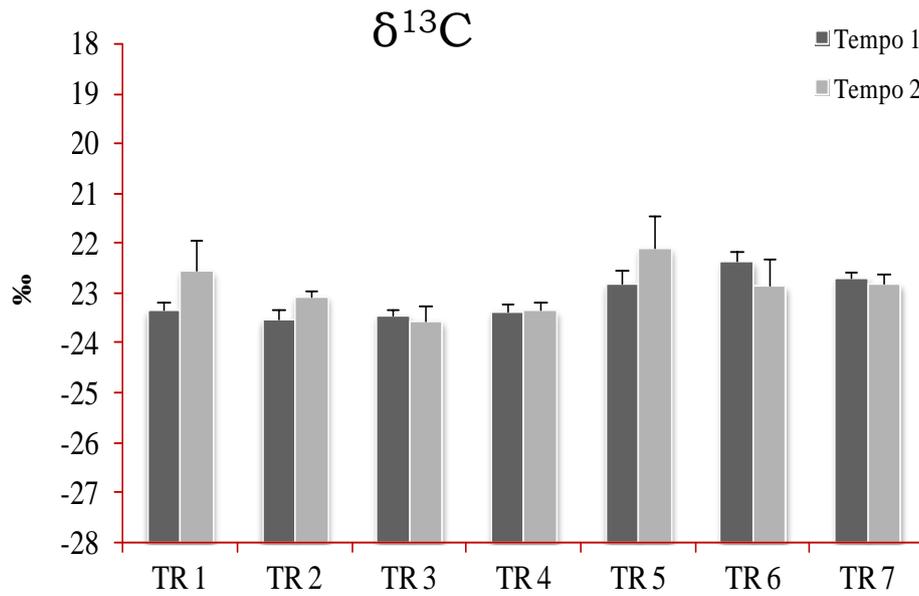


Fig. 21 Valori del $\delta^{13}\text{C}$ (‰ \pm ds) della materia organica sedimentaria nelle 7 stazioni di Trappeto, nei due periodi di campionamento.

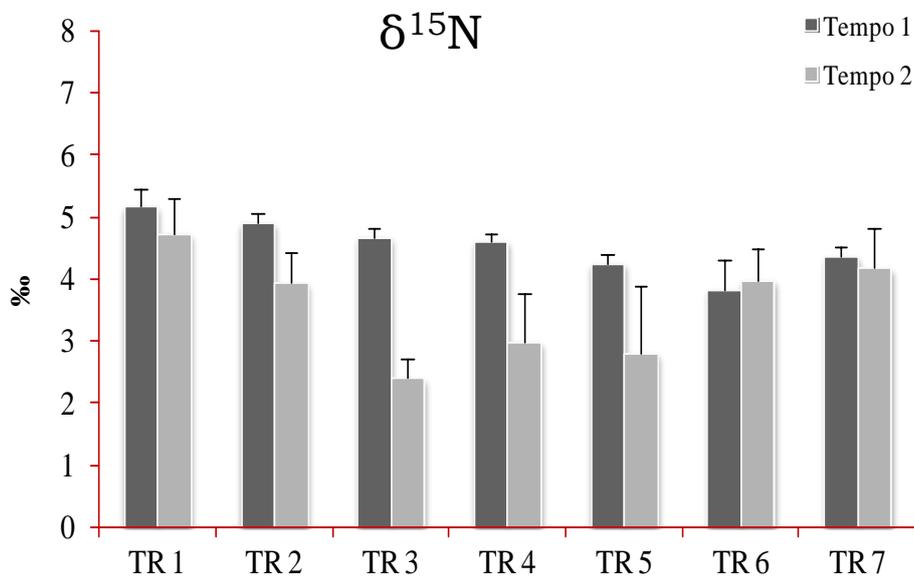


Fig. 22 Valori del $\delta^{15}\text{N}$ (‰ \pm ds) della materia organica sedimentaria nelle 7 stazioni di Trappeto, nei due periodi di campionamento.

Il sedimento utilizzato per le analisi dei metalli proviene da due stazioni nell'area di ubicazione dell'impianto di allevamento di Trappeto: la stazione NEAR in prossimità dell'impianto a mare e la stazione FAR scelta in una zona distanziata dalle gabbie, stazione che funge da controllo. Le medie e le deviazioni standard dei metalli pesanti (Hg, Cd, Pb, Zn, Cu, As, Ni, Cr e V) analizzati nei sedimenti di Trappeto sono riportate in Tabella 10.

Tabella 10 Valori medi dei metalli pesanti (mg/kg p.s.±ds) nei sedimenti di Trappeto.

METALLO mg/kg p.s.±ds	STAZIONI TRAPPETO	
	FAR	NEAR
Cd	0,135±0,005	0,114±0,000
Hg	0,138±0,016	0,097±0,022
Cu	3,091±0,083	1,474±0,123
Pb	6,971±0,183	5,598±0,178
As	9,168±0,004	6,288±0,346
Cr	12,516±1,674	7,624±0,031
Ni	30,652±3,339	27,376±3,085
Zn	19,841±1,289	11,204±0,612
V	31,791±5,748	20,019±0,924

A Trappeto, la concentrazione di Cd non varia molto tra le due stazioni Far e Near, assumendo valori , rispettivamente, di 0,135±0,005 mg/kg p.s. e 0,114±0 mg/kg p.s. (Figura 23). Lo stesso si può dire per il Hg e per il Pb. Il Hg è risultato pari a 0,138±0,016 mg/kg p.s. a Far e 0,097±0,022 mg/kg p.s. a Near (Figura 23), mentre il Pb è di 6,971±0,183 mg/kg p.s. a Far e 5,598±0,178 mg/kg p.s. a Near (Figura 24). Il Cu ha concentrazione di 3,091±1,474 mg/kg p.s. nella stazione Far e 1,474±0,123 mg/kg p.s. a Near (Figura 24). L'As ha valori medi di 9,168±0,004 mg/kg p.s. a Far e di 6,288±0,346 mg/kg p.s. a Near (Figura 24).

Per il Cr, Zn, Ni e V le concentrazioni risultano essere maggiormente differenziate tra le due stazioni.

Il Cr ha valori medi di $12,516 \pm 7,624$ mg/kg p.s. per Far e di $7,624 \pm 0,031$ mg/kg p.s. per Near (Figura 24).

Lo Zn, il Ni e il V sono mostrati nella Figura 25, con valori, in tutti i casi, maggiori nella stazione FAR rispetto alla stazione NEAR.

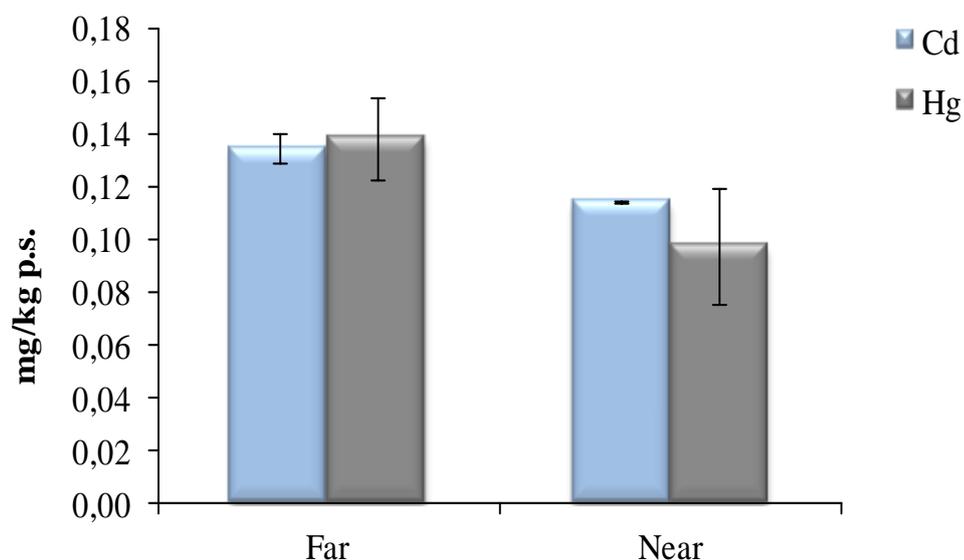


Fig. 23 Valori medi di Cd e Hg (mg/kg p.s. \pm ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near di Trappeto.

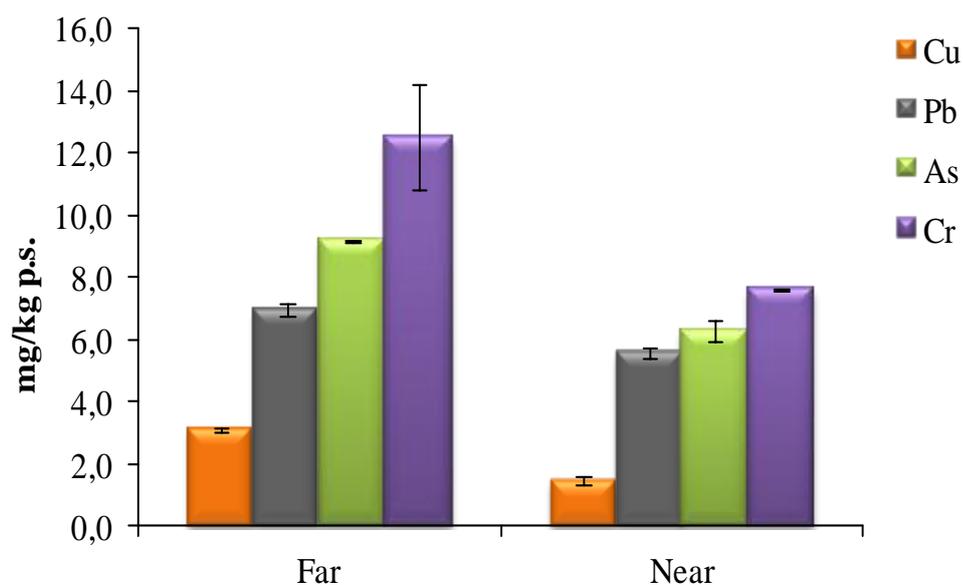


Fig. 24 Valori medi di Cu, Pb, As e Cr (mg/kg p.s. \pm ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near di Trappeto.

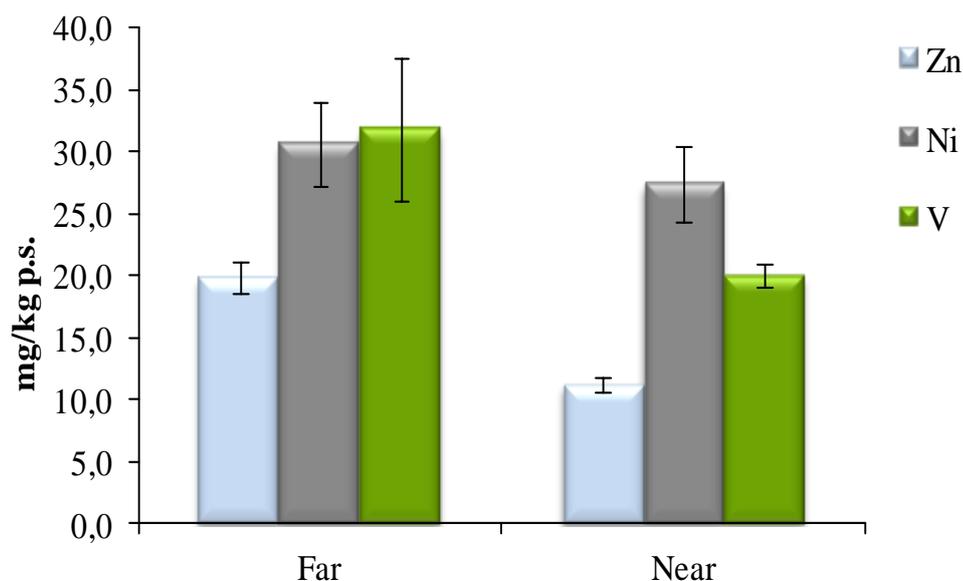


Fig. 25 Valori medi di Zn, Ni, e V (mg/kg p.s.±ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near di Trappeto.

Impianto “Ittica San Giorgio”

Le Tabelle 11 e 12 riportano i valori medi (\pm d.s.) delle variabili chimico-trofiche (Clorofilla-*a*, Feopigmenti, Materia Organica totale, C-BPF, Lipidi, Protidi e Glucidi) misurate nei sedimenti dell’area di Licata, per ciascuno dei due periodi di campionamento.

Le Tabelle 13 e 14 riportano i risultati dell’analisi della varianza (ANOVA), la quale ha evidenziato differenze significative tra i due periodi di campionamento per quasi tutte le variabili analizzate.

Anche tra le stazioni di prelievo di Licata si osservano differenze significative per la maggior parte delle variabili studiate.

Tab. 11 Variabili chimico-trofiche misurate nei sedimenti dell'area di Licata (OM = Materia Organica Totale; C-BPF = Carbonio della Frazione Biopolimerica).

Stazione	Tempo	Clorofilla-a µg/g		Feopigmenti µg/g		OM %		C-BPF µg/g	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
<i>LC1</i>	1	1.12	0.14	0.65	0.32	0.87	0.15	460.47	42.19
	2	0.50	0.29	1.95	0.49	1.15	0.12	679.65	62.28
<i>LC2</i>	1	2.72	1.66	7.21	0.94	4.07	0.49	4277.13	116.74
	2	0.52	0.06	9.97	1.50	5.05	0.92	2493.90	185.74
<i>LC3</i>	1	13.50	1.48	33.87	0.96	10.29	1.90	10243.60	242.67
	2	1.51	0.48	25.70	2.85	10.09	0.43	7554.27	215.47
<i>LC4</i>	1	0.60	0.43	1.37	0.24	1.14	0.22	718.80	77.00
	2	0.44	0.53	5.07	0.86	1.98	0.25	816.68	82.35
<i>LC5</i>	1	3.38	1.53	11.50	6.80	6.66	2.54	6366.99	129.33
	2	1.10	0.24	19.40	3.97	4.97	1.06	5986.53	307.93
<i>LC6</i>	1	0.42	0.19	0.26	0.02	6.47	0.81	2519.42	74.13
	2	0.84	0.53	2.57	0.69	4.22	1.18	1334.73	101.49
<i>LC7</i>	1	5.97	0.71	11.28	1.54	0.89	0.05	524.48	83.01
	2	1.19	0.37	7.77	2.21	7.56	0.51	6237.91	262.48

Tab. 12 Variabili chimico-trofiche misurate nei sedimenti dell'area di Licata.

Stazione	Tempo	Lipidi µg/g		Protidi µg/g		Glucidi µg/g	
		media	d.s.	media	d.s.	media	d.s.
<i>LC1</i>	1	287.78	26.02	325.59	56.04	212.73	65.02
	2	388.31	46.75	654.94	142.09	168.76	32.24
<i>LC2</i>	1	1112.92	82.24	5442.94	172.75	1938.50	112.20
	2	861.24	30.93	2723.82	424.21	1283.24	84.50
<i>LC3</i>	1	5859.23	239.83	9544.61	321.32	2930.79	493.54
	2	3513.87	74.12	8454.38	328.18	1940.55	139.90
<i>LC4</i>	1	282.94	78.96	894.38	71.77	170.86	64.87
	2	336.30	69.57	950.26	115.97	247.05	57.05
<i>LC5</i>	1	1584.89	105.61	9045.84	152.31	1864.66	97.33
	2	1550.11	138.12	8174.35	471.68	2046.29	38.74
<i>LC6</i>	1	1045.40	63.19	2363.66	83.93	1442.93	120.65
	2	859.68	99.46	1131.36	53.30	339.01	62.17
<i>LC7</i>	1	217.02	68.78	237.93	52.81	612.83	115.94
	2	1253.29	92.42	10222.29	677.09	722.54	9.90

Tab. 13 Analisi della varianza eseguita sulle variabili studiate nei sedimenti dell'area di Licata per verificare le differenze nel confronto tra i periodi (T1 = Tempo 1, T2 = Tempo 2), le stazioni (LC1, LC2, LC3, LC4, LC5, LC6, LC7) e le interazioni tra questi principali effetti. [Ns = differenza non significativa ($P > 0,05$)] [Ln(X) = dati trasformati al logaritmo naturale] [X^2 = dati trasformati al quadrato di X]. Sono stati omessi i risultati del test *a posteriori* SNK.

Sorgente di variazione	df	Chl-a			Feopigmenti		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	50.01	76.91	<0.001	858902.92	149.22	<0.001
Tempo	1	136.66	210.17	<0.001	16758.05	2.91	Ns
Stazione x Tempo	6	36.77	56.55	<0.001	93163.40	16.19	<0.001
Residui	42	0.65			5756.11		
Test Cochran				Ns			X^2
Sorgente di variazione	df	OM			C-CHO		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	74.00	69.40	<0.001	8.73	260.89	<0.001
Tempo	1	6.09	5.72	<0.05	0.94	27.96	<0.001
Stazione x Tempo	6	17.07	16.01	<0.001	0.75	22.26	<0.001
Residui	42	1.07			0.03		
Test Cochran				Ns			Ln(X)

Tab. 14 Analisi della varianza eseguita sulle variabili studiate nei sedimenti dell'area di Licata per verificare le differenze nel confronto tra i periodi (T1 = Tempo 1, T2 = Tempo 2), le stazioni (LC1, LC2, LC3, LC4, LC5, LC6, LC7) e le interazioni tra questi principali effetti. [Ns = differenza non significativa ($P > 0,05$)] [Ln(X) = dati trasformati al logaritmo naturale] [$X^{0.2}$ = dati trasformati ad X elevato a costante]. Sono stati omessi i risultati del test a posteriori SNK.

		C-PRT			C-LIP		
Sorgente di variazione	df	MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	10.12	749.25	<0.001	4.86	597.48	<0.001
Tempo	1	2.35	173.87	<0.001	0.11	13.63	<0.001
Stazione x Tempo	6	4.88	361.24	<0.001	0.64	78.69	<0.001
Residui	42	0.01			0.01		
Test Cochran				Ln(X)			$X^{0.2}$

		PRT/CHO			C-BPF		
Sorgente di variazione	df	MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	0.79	27.96	<0.001	73082634.48	2728.83	<0.001
Tempo	1	6.26	222.03	<0.001	14.91	0.00	Ns
Stazione x Tempo	6	3.84	136.05	<0.001	14887136.67	555.87	<0.001
Residui	42	0.03			26781.69		
Test Cochran				Ln(X)			Ns

Le Figure 26 e 27 riportano, rispettivamente, i valori medi delle concentrazioni della Clorofilla-*a* e dei Feopigmenti nei sedimenti delle 7 stazioni di Licata, per entrambi i tempi di campionamento. I valori medi di queste due variabili sono più elevati nei sedimenti delle stazioni in prossimità delle gabbie di allevamento (LC3 ed LC5) e della stazione vicine alla foce del fiume Salso (LC7). Durante il primo periodo di campionamento i valori sono superiori in quasi tutte le stazioni di prelievo.

Le Figure 28 e 29 riportano il contributo delle clorofilla-*a* e dei feopigmenti ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici equivalenti) nei sedimenti delle 7 stazioni, rispettivamente nel primo e nel secondo tempo di campionamento. In

generale, si osservano, nella totalità dell'area di studio, livelli superiori di feopigmenti rispetto alla clorofilla-*a*, indicando la presenza di componenti autotrofe in decomposizione ed un incremento della torbidità in funzione della presenza dell'impianto (LC3 e LC5) e degli apporti terrigeni del fiume (LC7).

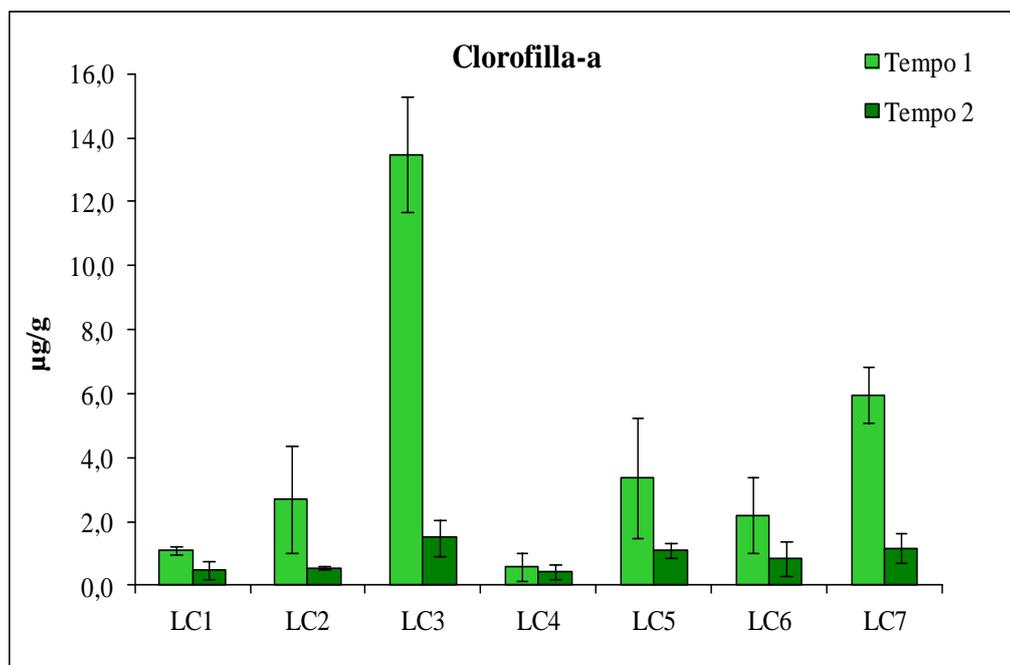


Fig. 26 Valori medi di Clorofilla-*a* ($\mu\text{g/g}\pm\text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

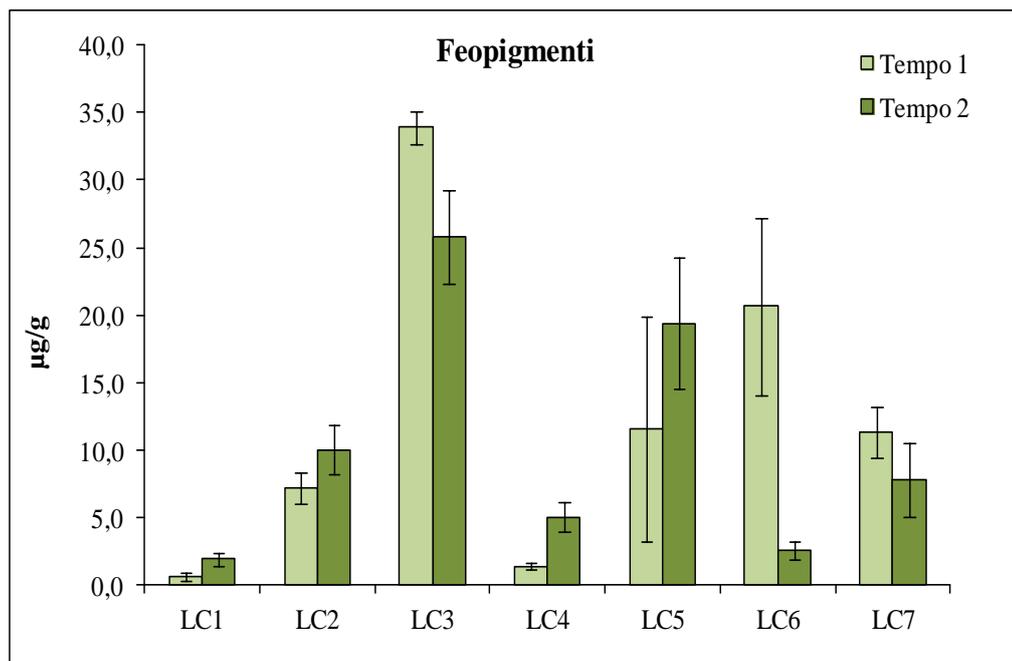


Fig. 27 Valori medi dei Feopigmenti ($\mu\text{g/g} \pm \text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

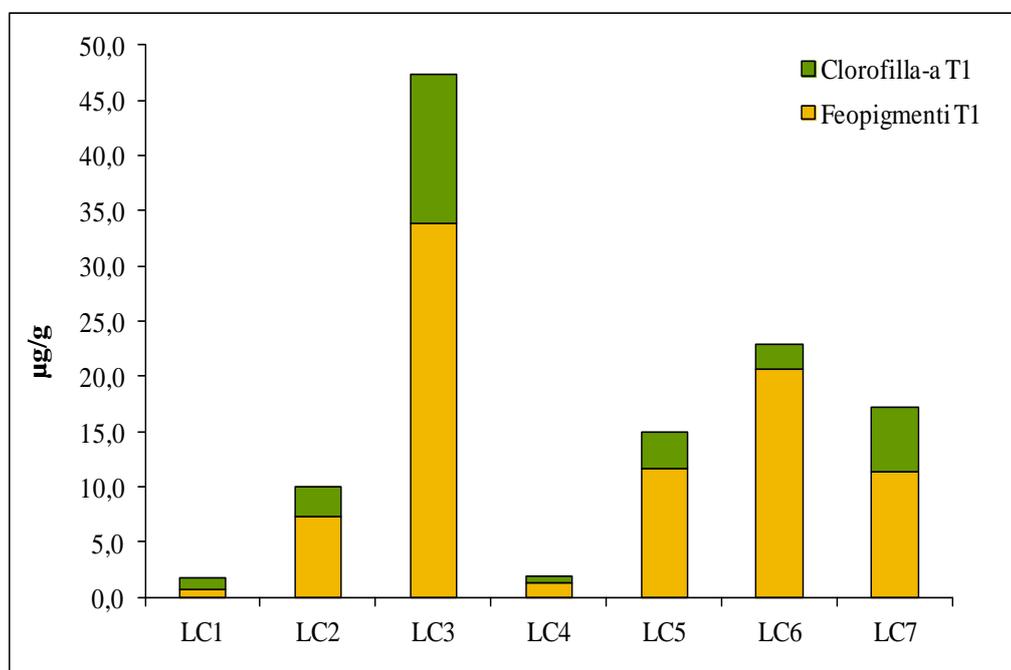


Fig. 28 Contributo della clorofilla-a e dei feopigmenti ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici equivalenti) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata nel primo tempo di campionamento.

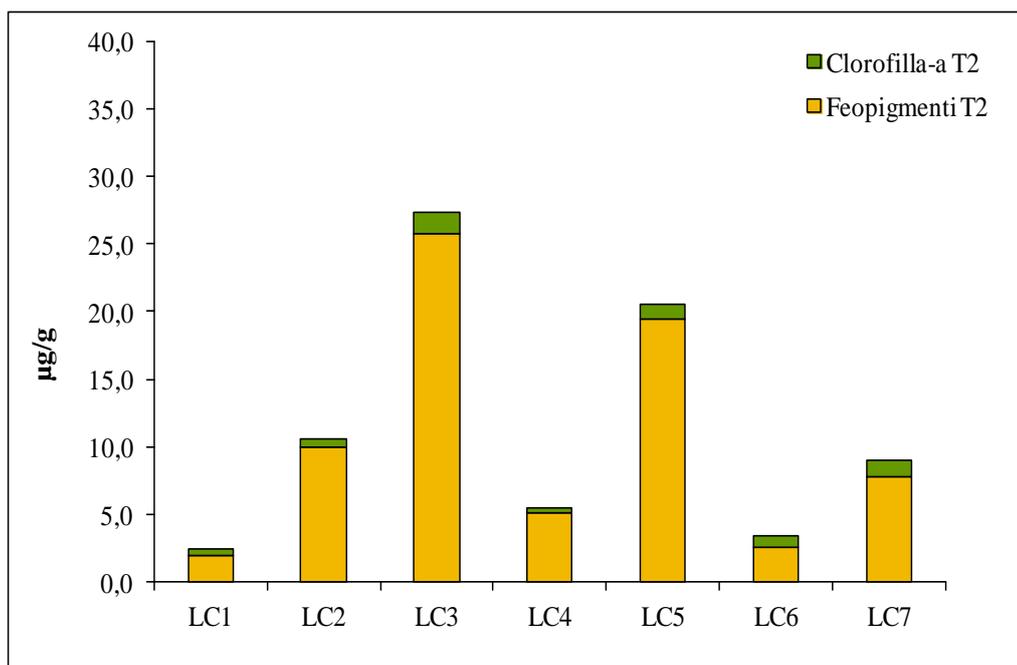


Fig. 29 Contributo della clorofilla-a e dei feopigmenti ai livelli totali di CPE (Pigmenti Cloroplastici equivalenti) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata nel secondo tempo di campionamento.

La Figura 30 riporta i valori medi delle concentrazioni di materia organica (OM) nei sedimenti delle 7 stazioni di Licata, per entrambi i tempi di campionamento. I valori medi di materia organica totale sedimentaria subiscono un incremento nei sedimenti al di sotto delle gabbie (LC3 e LC5) e nelle stazioni antistanti la foce del fiume Salso (LC6 ed LC7), con livelli superiori nel primo periodo di campionamento relativamente alle stazioni poste al di sotto dell'impianto (LC3 ed LC5).

Le Figure 31-33 riportano rispettivamente i valori medi delle concentrazioni dei Lipidi, dei Protidi e dei Glucidi nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento. Anche per queste variabili è possibile evidenziare un incremento nei sedimenti campionati in prossimità delle gabbie dell'impianto (LC3 ed LC5). Si osservano, inoltre, differenze significative tra i due periodi di campionamento, con livelli superiori in corrispondenza del primo periodo di campionamento.

La Figura 34, che mostra i valori medi del rapporto PRT/CHO nei sedimenti delle 7 stazioni, per entrambi i tempi di campionamento, evidenzia un incremento in corrispondenza del secondo periodo di campionamento nei sedimenti delle stazioni LC1, LC3, LC6 ed LC7.

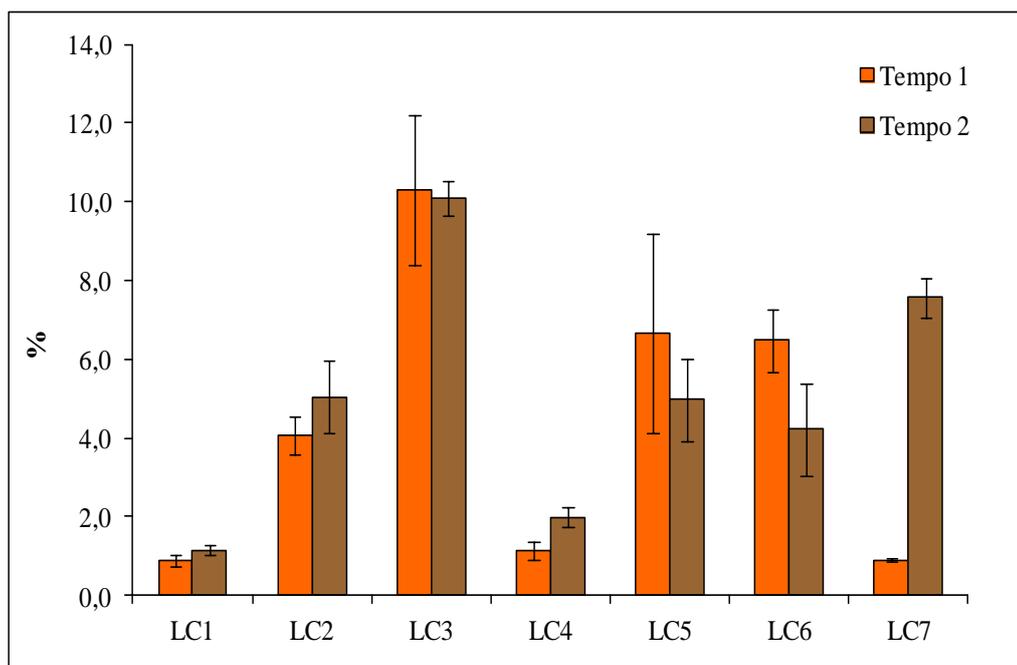


Fig. 30 Valori medi di OM (materia organica totale)(%±ds) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

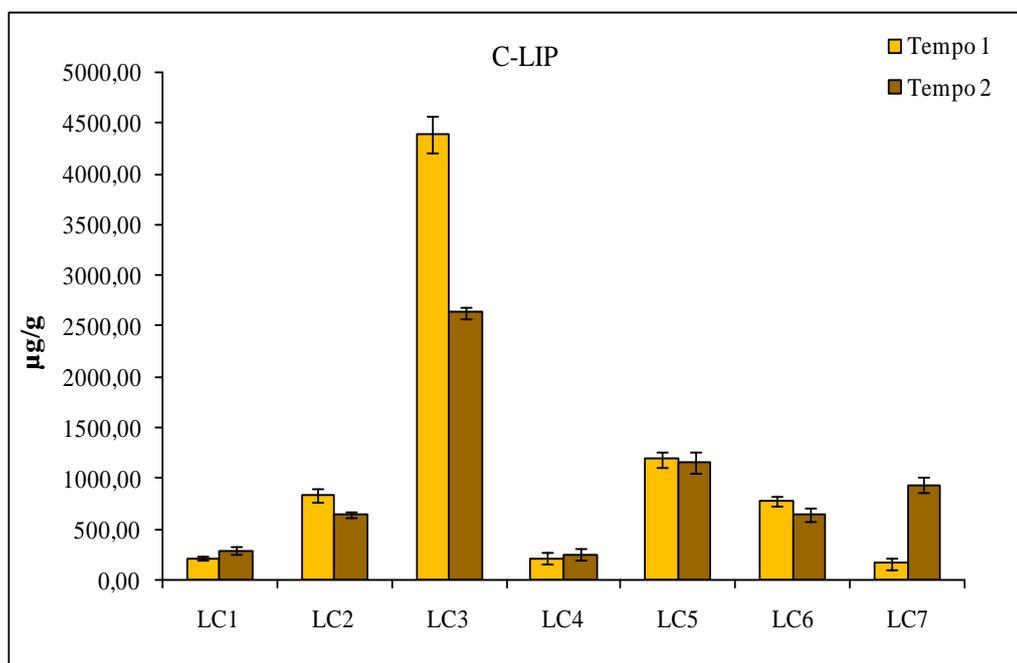


Fig. 31 Valori medi di C-LIP (carbonio da lipidi) (µg/g±ds) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento

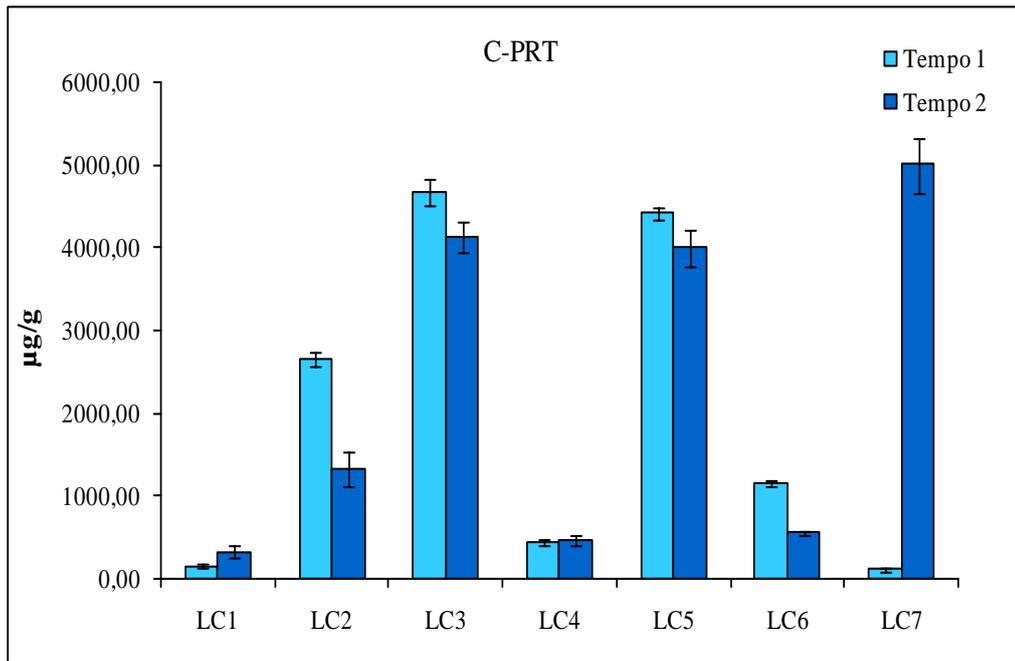


Fig. 32 Valori medi di C-PRT (carbonio da proteine) ($\mu\text{g/g}\pm\text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

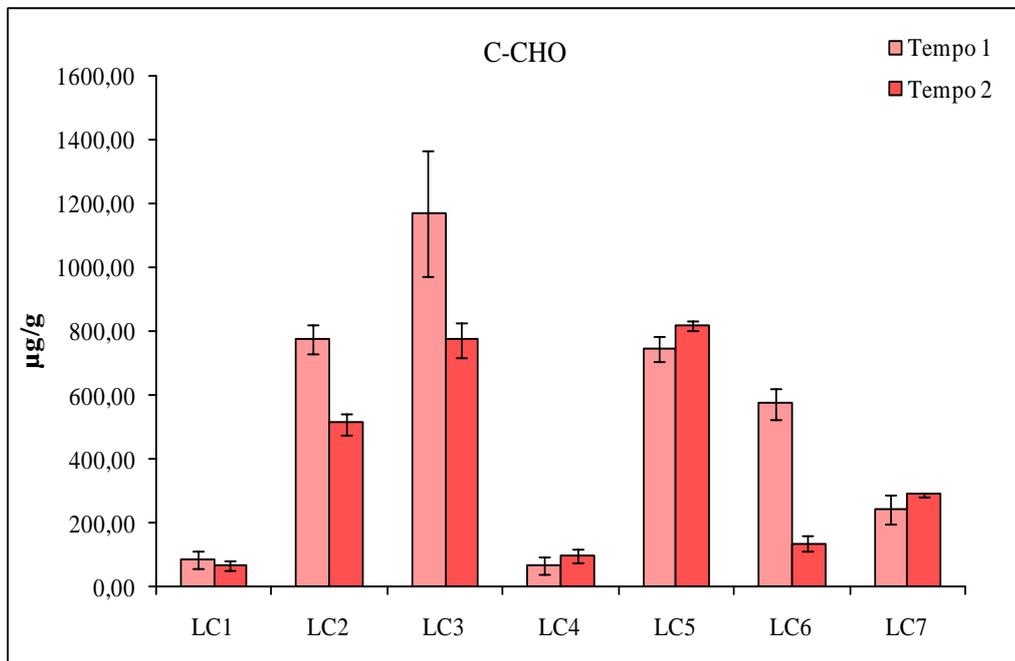


Fig. 33 Valori medi delle concentrazioni dei C-CHO (carbonio da carboidrati) ($\mu\text{g/g}\pm\text{ds}$) nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

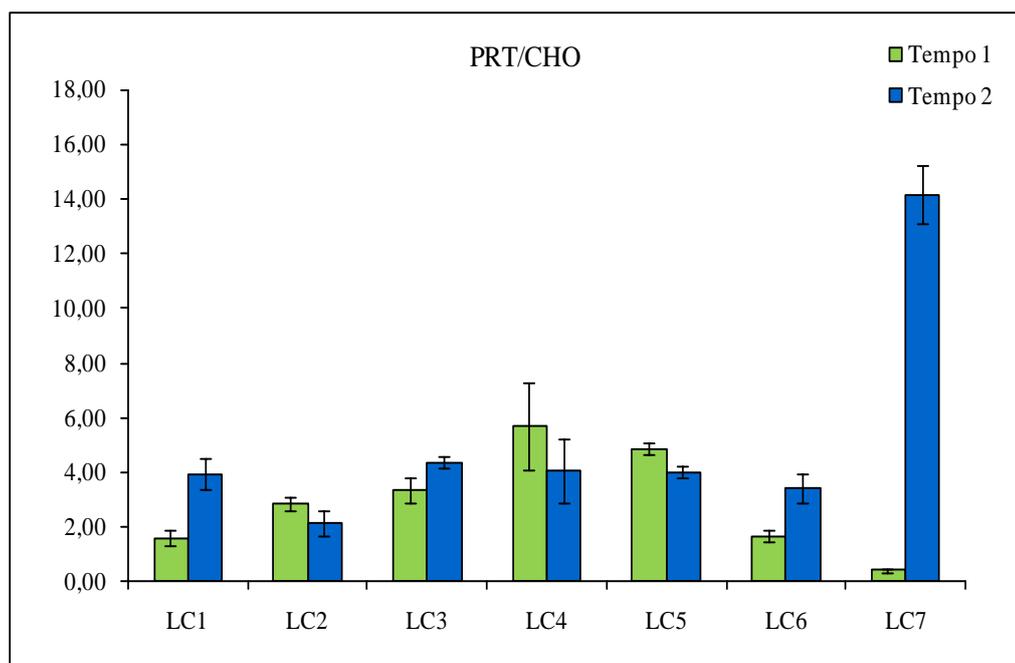


Fig. 34 Valori medi del rapporto PRT/CHO nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, per entrambi i tempi di campionamento.

Le Figure 35 e 36 riportano il contributo delle tre frazioni di carbonio (C-LIP, C-PRT e C-CHO) ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni, rispettivamente nel primo e nel secondo tempo di campionamento. E' possibile evidenziare un incremento dei livelli di tale variabile, durante il primo periodo di campionamento, nei sedimenti delle stazioni LC2, LC3, LC5, LC6.

La Figura 37 riporta i risultati dell'analisi multivariata (nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate) dei valori delle variabili misurate nei sedimenti delle 7 stazioni di Licata, in entrambi i periodi di campionamento. Tale analisi ha confermato i risultati ottenuti; è possibile, infatti, evidenziare differenze tra i due tempi di campionamento soltanto nei sedimenti delle stazioni poste al di sotto dell'impianto (LC3 ed LC5) e della stazione posta in prossimità della foce del fiume Salso (LC7). Per le altre stazioni, invece, non si evidenziano differenze spaziali e temporali ed è possibile definire, all'interno della rappresentazione bidimensionale nMDS, un *cluster* formato dai punti relativi alle stazioni LC1, LC2, LC4 ed LC6.

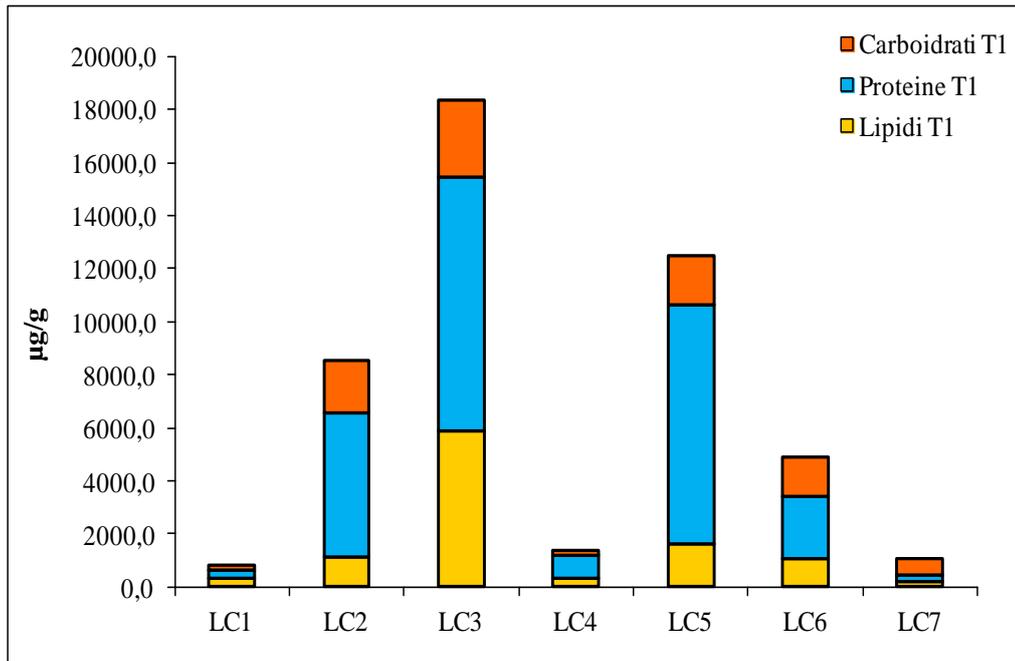


Fig. 35 Contributo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, nel primo tempo di campionamento.

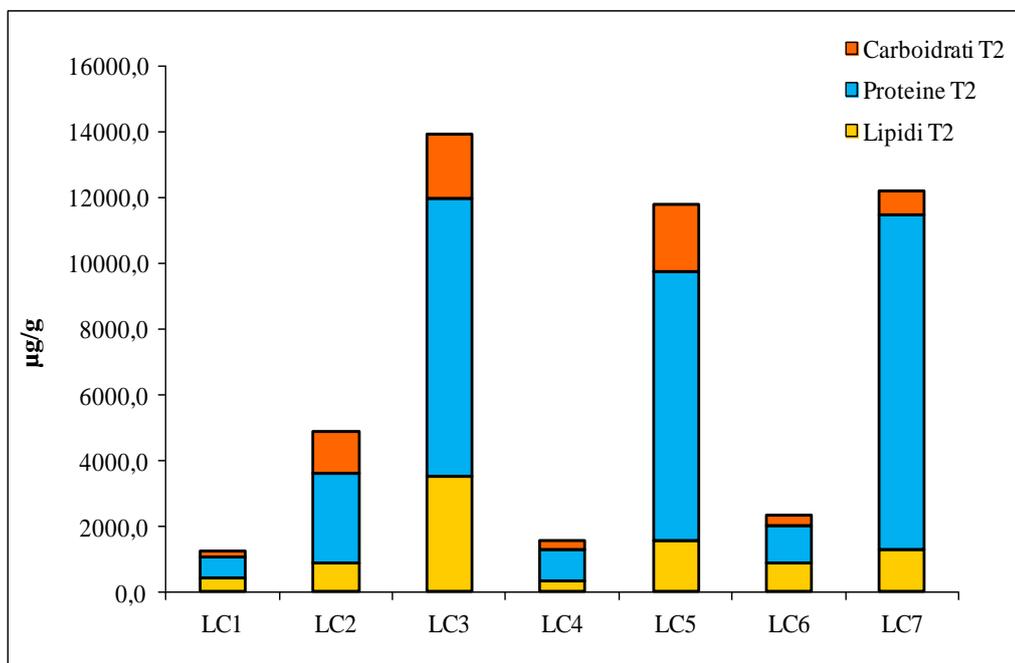


Fig. 36 Contributo dei carboidrati, delle proteine e dei lipidi ai livelli totali di C-BPF (Carbonio della frazione biopolimerica) ($\mu\text{g/g}$) misurati nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, nel secondo tempo di campionamento.

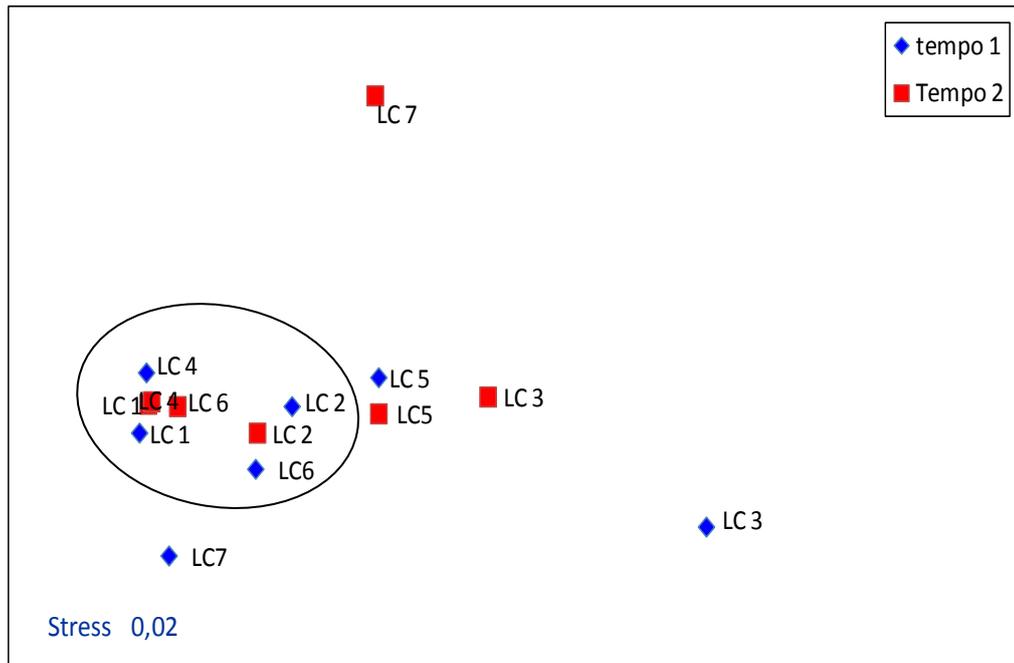


Fig. 37 nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate dei valori delle variabili misurate nei sedimenti delle 7 stazioni dell'area di Licata, in entrambi i periodi di campionamento.

In tutte le stazioni di Trappeto e Licata, è stato, anche, analizzato il rapporto RNA/DNA (Figura 38). Questo a Trappeto non mostra differenze significative tra le stazioni TR1, TR2, TR3, TR4, TR5, mentre differenze significative sono state riscontrate tra queste stazioni e le stazioni TR6 (1,252) e TR7 (0,929), senza differenze significative tra i due tempi di campionamento; pertanto, i risultati sono riportati come media (\pm s.d.) dei valori registrati nei due periodi di campionamento.

A Licata, il rapporto RNA/DNA non mostra differenze significative tra le stazioni LC1, LC3, LC4, LC5, LC6 e LC7, mentre differenze significative sono state riscontrate tra i valori riscontrati in queste stazioni e quelli della stazione LC2.

Nell'impianto "Ittica San Giorgio", i risultati mostrano, in tutte le stazioni, valori di gran lunga inferiori all'unità (da 0,068 a 0,127), indicando la presenza di comunità microbiche impattate in ogni stazione, sia all'interno del porto, sia all'esterno, che alla foce del fiume Salso. Inoltre, un maggiore impatto si verifica nella stazione all'uscita del porto, probabilmente per l'accumulo di sostanza organica derivante dagli impianti est ed ovest.

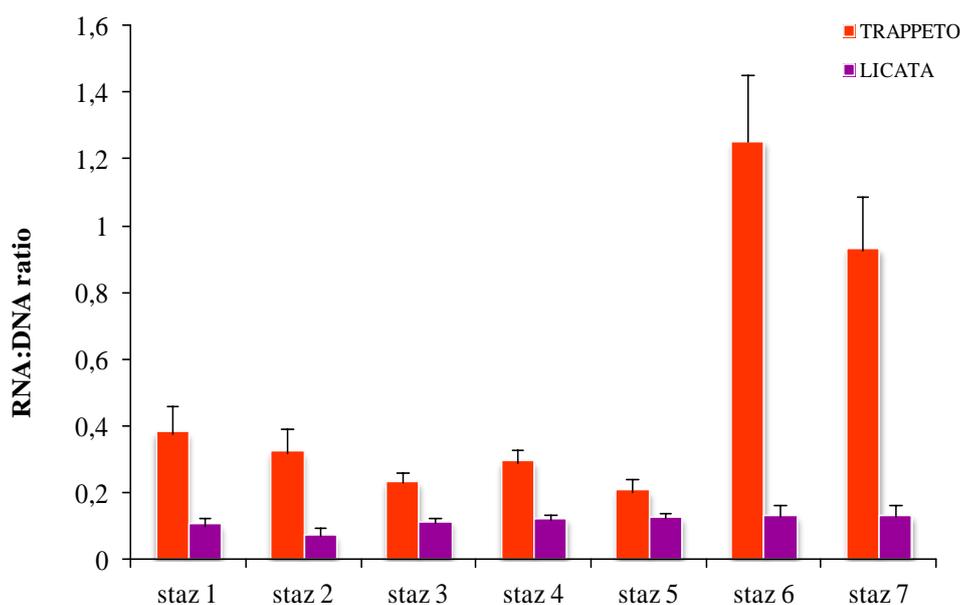


Fig. 38 Rapporto RNA/DNA nei sedimenti delle 7 stazioni dell'impianto "Ittica Trappeto" e dell'impianto "Ittica S. Giorgio".

In Figura 39 sono mostrati i livelli di $\delta^{13}\text{C}$ rilevati nel sedimento delle stazioni di Licata, dove si evidenzia una maggiore variabilità sia su scala spaziale che temporale rispetto a Trappeto, presentando valori compresi nel *range* di $-25,4\text{‰}$ e $-20,5\text{‰}$ ed un valore medio di $-22,5 \pm 1,3\text{‰}$. Le variazioni tra i due periodi di campionamento, significative in molte stazioni (Tabella 15), sono state maggiori rispetto a Trappeto anche se sempre piuttosto ridotte (min. $-22,1 \pm 1,0\text{‰}$, max. $-22,9 \pm 1,4\text{‰}$).

A Licata l'intervallo di valori assunti dal $\delta^{15}\text{N}$ è stato di $2,1\text{‰} - 6,4\text{‰}$, con un valore medio di $4,6 \pm 0,9\text{‰}$ (Figura 40). La variabilità temporale si è ridotta ($0,1 - 0,5\text{‰}$) in alcune stazioni (LC2, LC3, LC4), mentre in altre (LC1, LC5, LC6) è stata dell'ordine di $1,3 - 1,7\text{‰}$. La variabilità tra le stazioni è stata di circa 3‰ in entrambi i periodi di campionamento. In tutti e due tempi di campionamento la stazioni più arricchita in ^{15}N è stata LC7 ($4,9 \pm 0,2\text{‰}$ e $6,0 \pm 0,4\text{‰}$ rispettivamente nel Tempo 1 e 2).

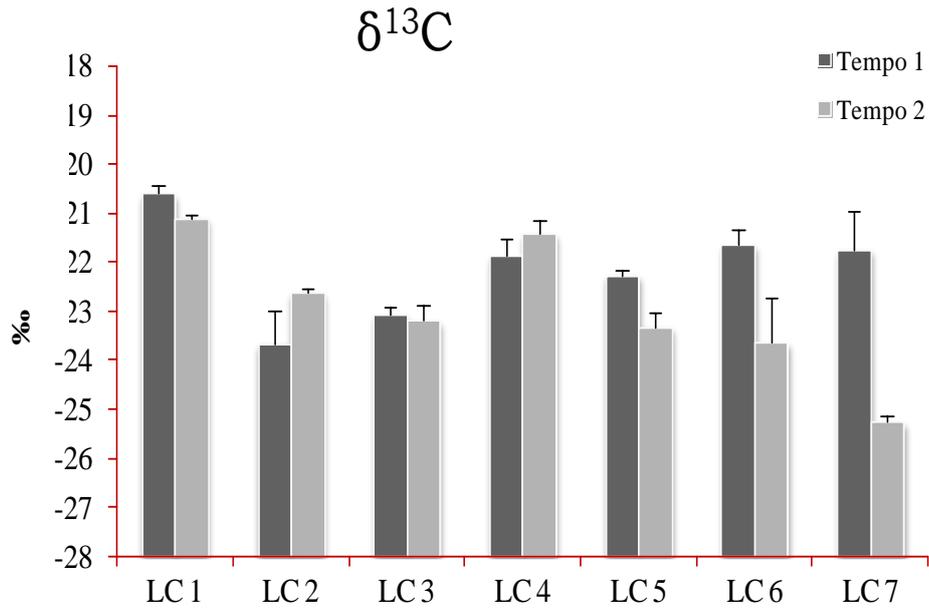


Fig. -39 Valori del $\delta^{13}\text{C}$ (‰ \pm ds) della materia organica sedimentaria nelle sette stazioni e nei due periodi di campionamento a Licata.

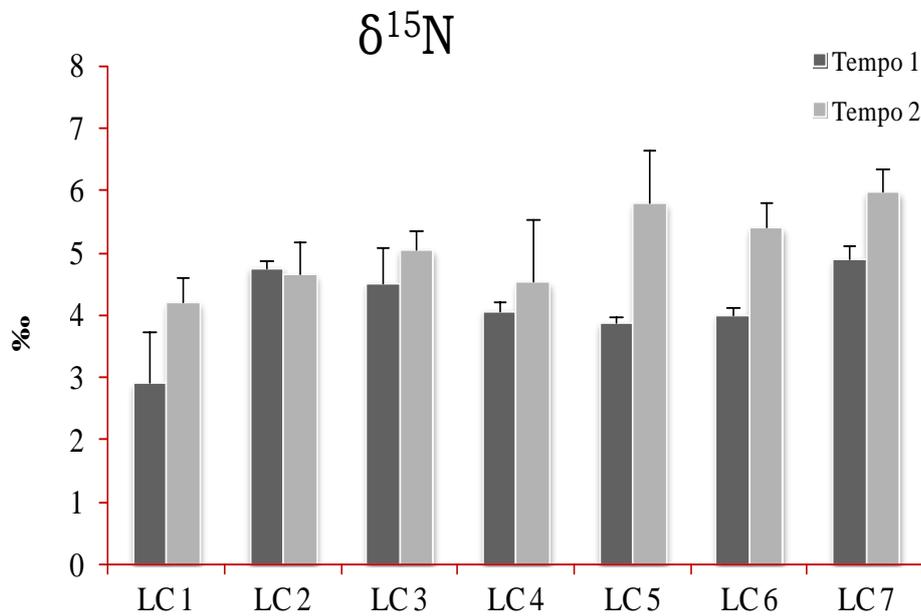


Fig. 40 Valori del $\delta^{15}\text{N}$ (‰ \pm ds) della materia organica sedimentaria nelle 7 stazioni di Licata, nei due periodi di campionamento.

Tabella 15 Risultati dell'ANOVA effettuata per valutare le variazioni spaziali e temporali della composizione isotopica della materia organica sedimentaria di Licata.

	Impianto Licata						
	df	$\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{15}\text{N}$		
		MS	F	P	MS	F	P
Stazione	6	7.15	41.10	<0.001	2.66	10.35	<0.001
Tempo	1	9.20	52.92	<0.001	13.11	51.08	<0.001
Stazione x Tempo	6	4.83	27.77	<0.001	0.92	3.59	<0.01
Residui	42	0.17			0.26		
Cochran test				ns			ns

Il sedimento utilizzato per i metalli analizzati a Licata, come già visto per Trappeto, proviene da due stazioni, una in prossimità dell'impianto (NEAR) e uno in una zona distanziata (FAR).

Le medie e le deviazioni standard dei metalli pesanti (Hg, Cd, Pb, Zn, Cu, As, Ni, Cr e V) riscontrati nei sedimenti di Licata sono riportati in Tabella 16.

Tabella 16 – Valori medi delle concentrazioni di metalli pesanti nei sedimenti Far e Near campionati a Licata

METALLO mg/kg .p.s.±ds	STAZIONI LICATA	
	FAR	NEAR
Cd	0,122±0,004	0,194±0,026
Hg	0,087±0,017	0,157±0,046
Cu	1,634±0,019	9,223±0,417
Pb	6,060±0,283	14,520±0,380
As	14,531±0,467	20,408±0,480
Cr	7,192±0,558	37,264±2,211
Ni	23,446±2,092	25,265±0,017
Zn	15,540±2,197	50,577±0,706
V	32,725±1,009	98,917±4,897

A Licata, le concentrazioni maggiori di metalli pesanti si riscontrano nella stazione Near, con poca differenza tra le stazioni Far e Near per il Cd, il Hg, e il Ni (Figure 41 e 42).

Il Cd e il Hg sono, rispettivamente, compresi tra 0,12 mg/kg p.s. e 0,20 mg/kg p.s., e tra 0,09 mg/kg ps.s e 0,16 mg/kg p.s. (Figura 41).

Il Cu, il Pb e il Cr hanno mostrato una maggiore concentrazione nella stazione Near, rispetto a quella FAR (Figura 42). Il Cu, nella stazione NEAR ha mostrato livello di circa 8 volte , il Pb di circa 2 volte e il Cr di 5 volte maggiori rispetto a quelli ritrovati nei sedimenti FAR. L'As ha evidenziato livelli omogenei fra i due siti campionati (Figura 42).

Lo Zn ha mostrato valori di $15,540 \pm 2,197$ mg/kg p.s. Far e di $50,577 \pm 0,706$ mg/kg p.s. a Near (Figura 43). Il Ni ha valori pressoché costanti tra i due siti, con valori di circa 23-25 mg/kg p.s. e il V è maggiormente concentrato nel sito Near (Figura 43).

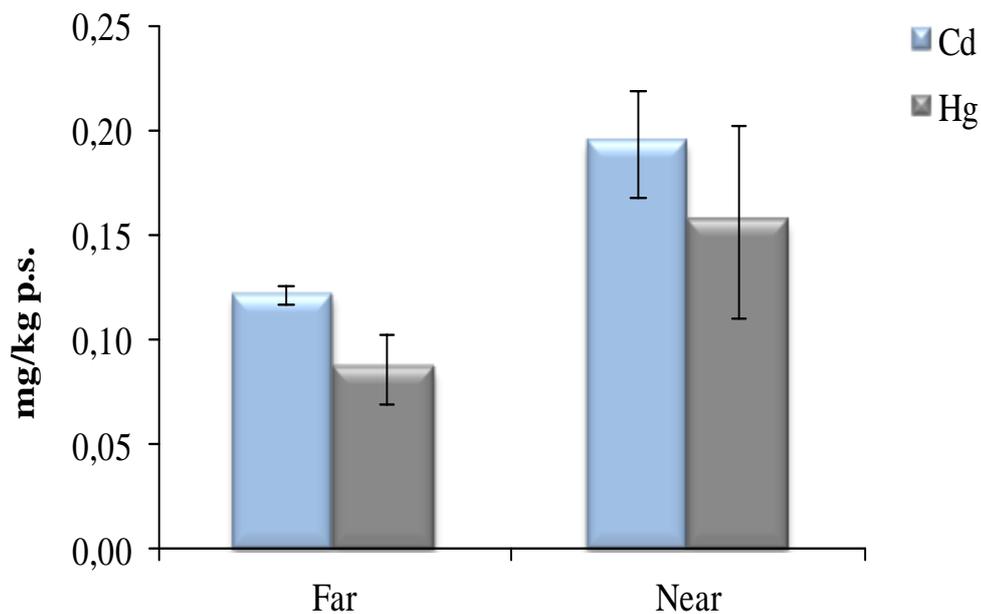


Fig. 41 Valori medi di Cd e Hg (mg/kg p.s. \pm ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near di Licata.

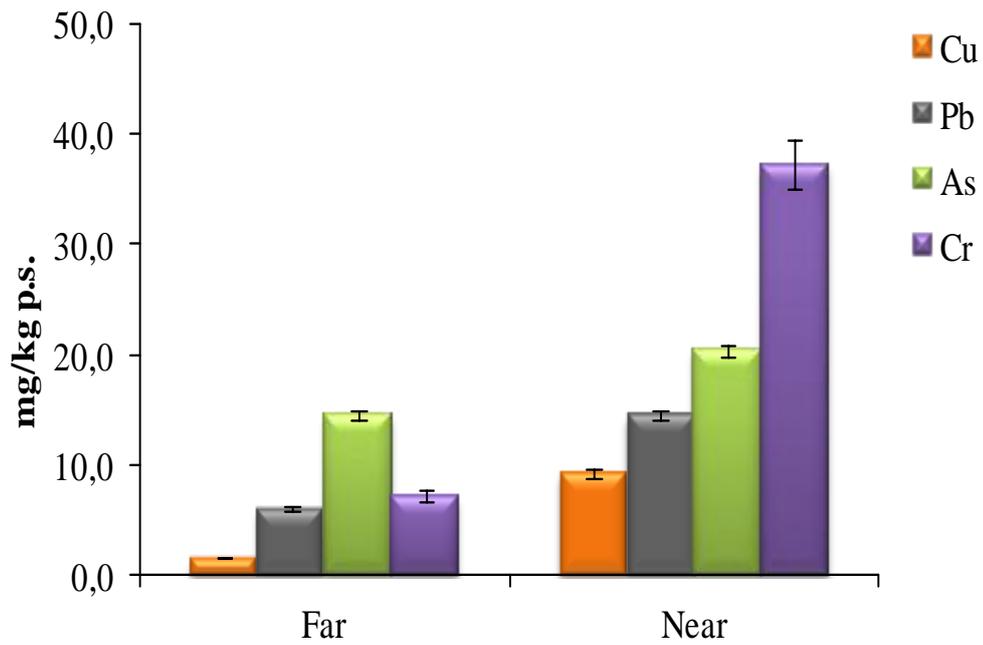


Fig. 42 Valori medi di Cu, Pb, As e Cr (mg/kg p.s.±ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near Licata.

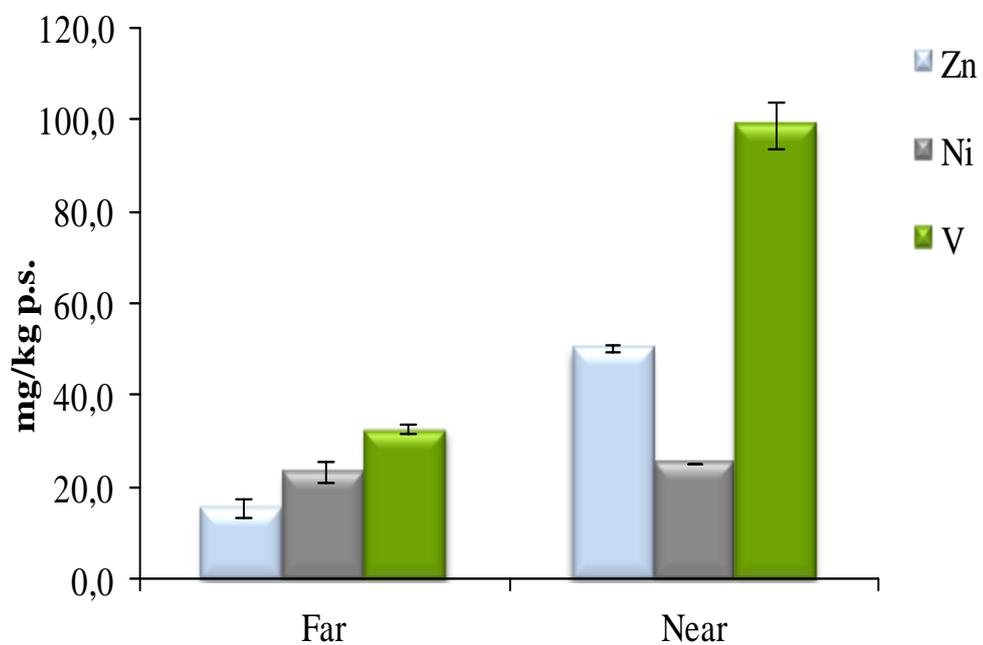


Fig. 43 Valori medi delle concentrazioni di Zn, Ni e V (mg/kg p.s.±ds) nel sedimento delle stazioni Far e Near di Licata.

5.2 Caratteristiche dell'alimento somministrato

Negli impianti ittici di Trappeto e di Licata è stato campionato, anche, l'alimento che fa parte del trattamento nutrizionale del *Dicentrarchus labrax* e dello *Sparus aurata*, mangime composto da 3 diverse pezzature a secondo della taglia dei pesci a cui viene somministrato.

Le analisi della composizione biochimica dei mangimi, provenienti dai due impianti di allevamento ittico (Trappeto e Licata), hanno evidenziato differenze tra le tre pezzature (P1, P2 e P3), soprattutto tra P1 e P3 (Tabella 16).

La differenza sostanziale nella composizione biochimica tra i mangimi provenienti dai due impianti è risultata dovuta al contenuto in glucidi: infatti, questi nel mangime di Licata hanno mostrato una concentrazione maggiore (circa 20%) rispetto ai mangimi utilizzati a Trappeto (circa 7-8%)(Figg. 44 e 45)

Tabella 16 Concentrazioni medie di Protidi, Lipidi e Glucidi (PRT, LPD, GLD) (% \pm ds) nelle 3 pezzature di mangimi (P1, P2 e P3) somministrati negli impianti di Trappeto e Licata.

TRAPPETO						
Sigla	% PRT	dev.st	% LPD	dev.st	% GLD	dev.st
P 1	60,52	1,25	18,22	0,54	8,22	0,32
P 2	59,39	1,67	20,45	1,52	6,82	1,02
P 3	38,90	2,24	14,63	0,63	7,31	0,21

LICATA						
Sigla	% PRT	dev.st	% LPD	dev.st	% GLD	dev.st
P 1	63,01	1,88	19,19	0,63	20,80	0,73
P 2	79,39	1,02	20,49	1,13	20,31	1,55
P 3	41,80	2,56	14,16	0,41	15,38	0,33

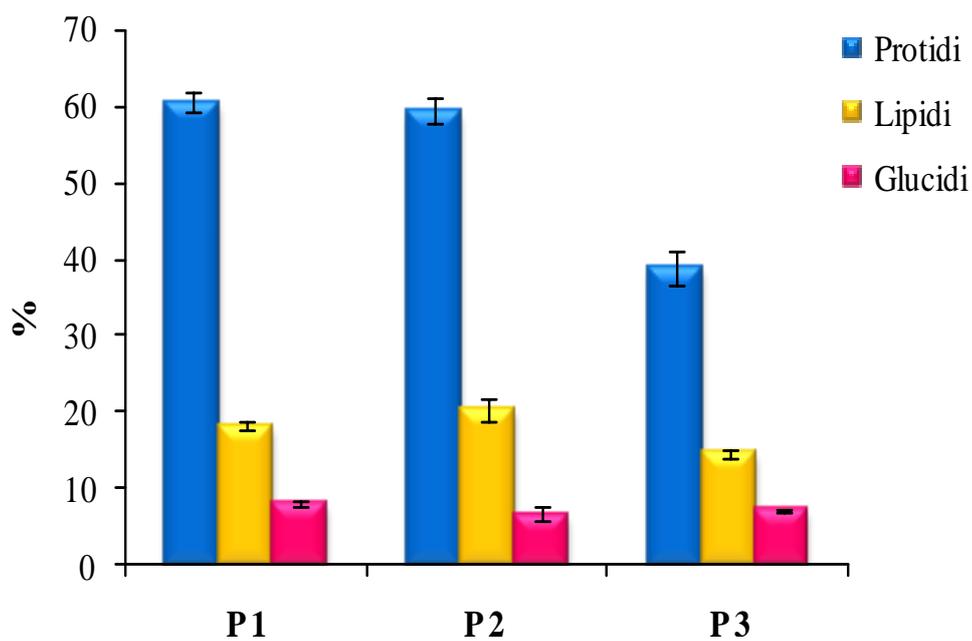


Fig. 44 Valori medi delle concentrazioni di Lipidi, Protidi e Glucidi (% \pm ds) nelle 3 pezzature di mangimi utilizzati nell'impianto di Trappeto.

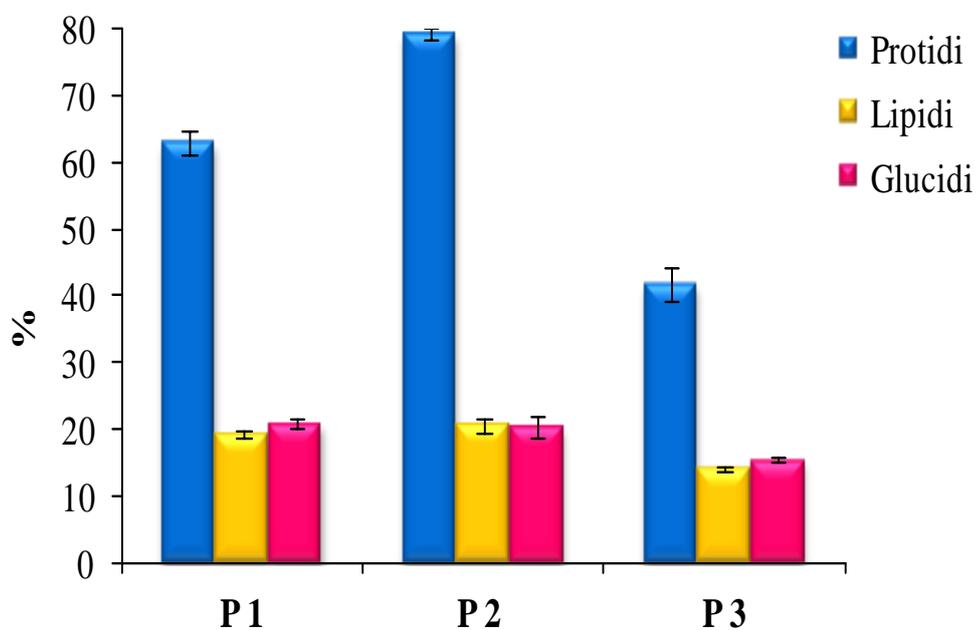


Fig. 45 Valori medi delle concentrazioni di Lipidi, Protidi e Glucidi (% \pm ds) nelle 3 pezzature di mangimi utilizzati nell'impianto di Licata.

Per quanto riguarda la composizione isotopica, i mangimi utilizzati nell'impianto di Trappeto hanno mostrato un $\delta^{13}\text{C}$ che varia nelle diverse pezzature utilizzate, presentando dei valori in un *range* compreso tra $-22,5\text{‰}$ e $-21,6\text{‰}$ ed un valore medio di $-22,2\pm 0,5\text{‰}$ (Figura 46). Il $\delta^{15}\text{N}$, nel mangime di Trappeto, ha assunto dei valori compresi tra $9,2$ e $10,1\text{‰}$ all'interno delle tre pezzature con un valore medio di $9,6\pm 0,47\text{‰}$ (Figura 47); la variabilità tra le pezzature è stata di circa 1‰ con P2 più arricchita con un valore di $10,1\pm 0,62\text{‰}$.

A Licata, i mangimi hanno mostrato un $\delta^{13}\text{C}$ variabile tra le tre pezzature, con valori tra $-21,4\text{‰}$ e $-20,9\text{‰}$ ed un valore medio di $-21,1\pm 0,2\text{‰}$ (Figura 46).

Il $\delta^{15}\text{N}$ dei mangimi di Licata ha mostrato meno variabilità rispetto quello dei mangimi di Trappeto, assumendo dei valori quasi costanti tra le tre pezzature, con un valore medio di $9,4\pm 0,5\text{‰}$ a Trappeto, e un valore di $9,6\pm 0,3\text{‰}$ a Licata. Dal confronto dei dati, il mangime di Trappeto è risultato, quindi, leggermente più impoverito rispetto a Licata (Figura 47).

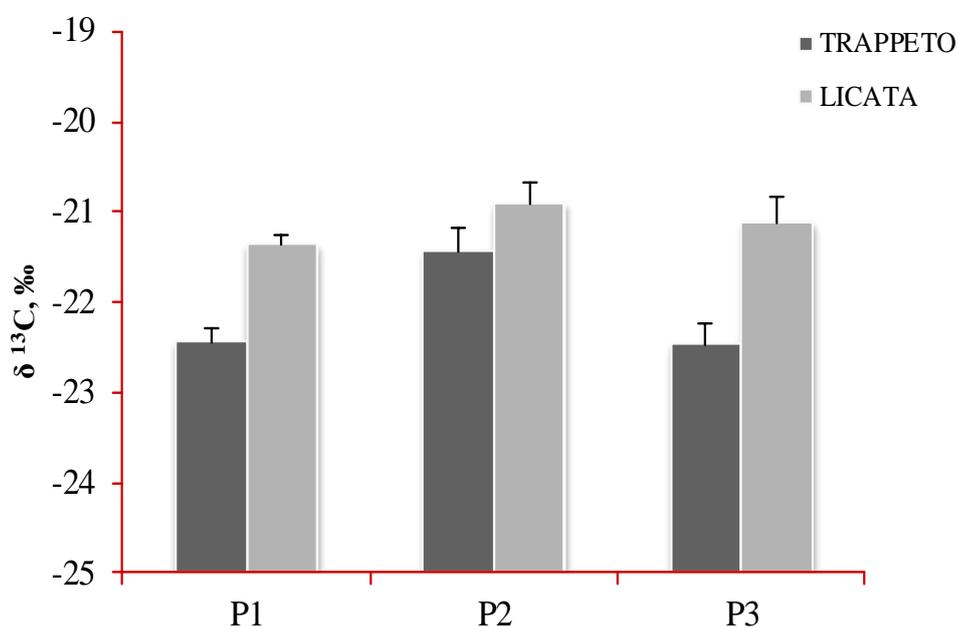


Fig. 46 Valori medi delle di $\delta^{13}\text{C}$ ($\text{‰}\pm\text{ds}$) nelle 3 pezzature dei mangimi somministrati a Trappeto e a Licata

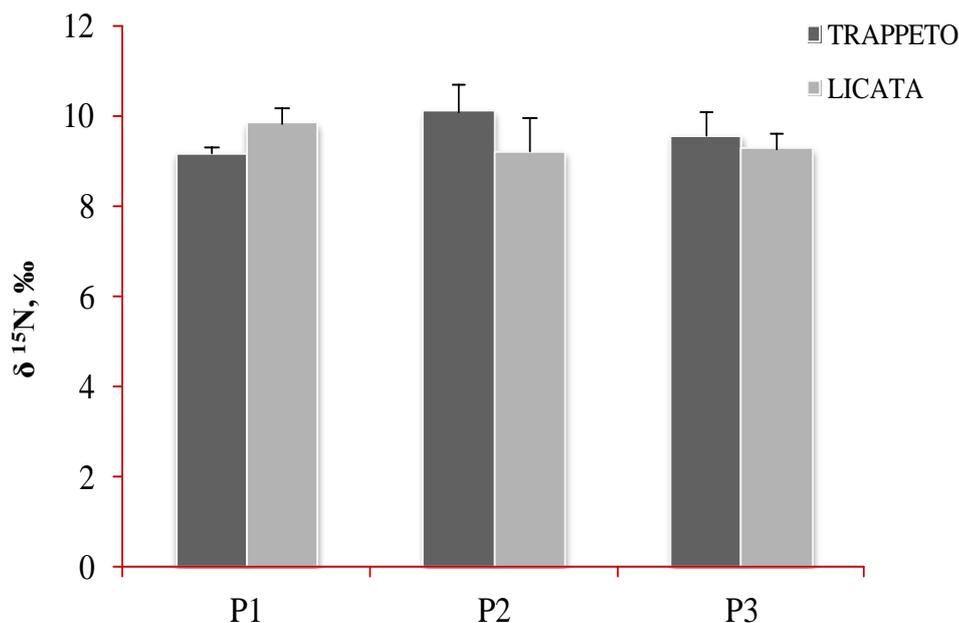


Fig. 47 Valori medi delle di $\delta^{15}\text{N}$ (‰±ds) nelle 3 pezzature dei mangimi somministrati a Trappeto e a Licata

I risultati delle analisi dei metalli (Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, Pb, Hg, As, e V) effettuate sulle tre pezzature di mangimi provenienti dagli impianti di Trappeto e di Licata sono mostrati in Tabella 17.

A Trappeto, la concentrazione di Cd varia tra i tre mangimi, raggiungendo un valore massimo di $0,389 \pm 0,008$ mg/kg p.s. in P2 ed un valore minimo di $0,233 \pm 0,001$ mg/kg p.s. in P3. Il Pb presenta valori molto bassi in tutte le tipologie di mangime, con un valore medio di $0,115 \pm 0,046$ mg/kg p.s.

Il Hg ha un valore massimo di $0,371 \pm 0,038$ mg/kg p.s. nel mangime P1 ed un valore minimo di $0,159 \pm 0,013$ mg/kg p.s. in P3. Il Cu assume dei valori pressoché costanti con una media di $15,027 \pm 1,19$ mg/kg p.s. Il Ni assume un valore medio di $2,751 \pm 0,062$ mg/kg p.s. ed il V di $1,558 \pm 0,49$ mg/kg p.s.

Il Cr ha dei valori ben diversificati all'interno dei tre mangimi utilizzati nell'impianto di Trappeto, con un valore massimo di $4,010 \pm 0,066$ mg/kg p.s. nella pezzatura P1, ed un valore minimo di $0,834 \pm 0,086$ mg/kg p.s. in P2. L'As ha presentato un valore medio pari a $0,500 \pm 0,129$ mg/kg p.s., mentre lo Zn pari a $158,922 \pm 10,700$ mg/kg p.s.

A Licata, le concentrazioni dei metalli possono essere così descritte: il Cd ha un valore medio di $0,121 \pm 0,023$ mg/kg p.s., il Pb di $0,123 \pm 0,042$ mg/kg p.s., il Cr

di $0,712\pm 0,161$ mg/kg p.s., l'As di $0,491\pm 0,150$ mg/kg p.s., mentre il Hg di $0,054\pm 0,001$ mg/kg p.s. I valori di Cu variano tra un massimo di $9,058\pm 0,190$ mg/kg p.s. in P3 ed un minimo di $6,890\pm 0,124$ mg/kg p.s. in P1. Il Ni ha dei valori molto simili nelle tre pezzature di mangime, con un valore medio di $6,681\pm 0,294$ mg/kg p.s. Il V ha mostrato il suo massimo nel mangime P2 ($2,996\pm 0,184$ mg/kg p.s.) e il minimo in P1 ($1,433\pm 0,100$ mg/kg p.s.), così come lo Zn.

Tabella 17 Valori medi dei metalli pesanti (mg/kg di p.s.±ds) nei mangimi (3 pezzature: P1, P2 e P3) utilizzati negli impianti di Trappeto e Licata.

TRAPPETO										
Sigla	Cd	ds	Cr	ds	Cu	ds	Ni	ds	Pb	ds
P1	0,283	0,003	4,010	0,066	17,066	0,308	3,423	0,234	0,111	0,021
P2	0,389	0,008	0,834	0,086	17,097	0,064	2,635	0,232	0,070	0,023
P3	0,233	0,014	3,511	0,214	15,027	0,491	2,195	0,413	0,163	0,021
Sigla	Zn	ds	Hg	ds	As	ds	V	ds		
P1	166,608	10,833	0,371	0,038	0,418	0,029	1,460	0,394		
P2	163,476	9,896	0,207	0,057	0,434	0,045	1,122	0,167		
P3	146,682	11,226	0,159	0,013	0,649	0,035	2,091	0,179		

LICATA										
Sigla	Cd	ds	Cr	ds	Cu	ds	Ni	ds	Pb	ds
P1	0,140	0,023	0,578	0,105	6,890	0,124	6,341	0,481	0,172	0,022
P2	0,129	0,013	0,891	0,113	8,873	0,026	6,847	0,066	0,096	0,003
P3	0,095	0,006	0,668	0,084	9,058	0,190	6,855	0,925	0,102	0,006
Sigla	Zn	ds	Hg	ds	As	ds	V	ds		
P1	129,323	1,629	0,054	0,004	0,397	0,015	1,433	0,100		
P2	148,571	4,417	0,055	0,007	0,413	0,012	2,996	0,184		
P3	130,063	2,128	0,053	0,004	0,663	0,061	2,835	0,112		

Nelle Figure 48-51 sono mostrate le concentrazioni dei metalli analizzati, mettendo a confronto i diversi mangimi di Licata e di Trappeto. E' possibile notare una maggiore concentrazione di Cd, Cu, Cr e Hg nei mangimi utilizzati a Trappeto, mentre il Pb, il Ni, e il V sono di poco superiore a Licata; lo Zn assume dei valori simili tra i mangimi utilizzati nei due impianti.

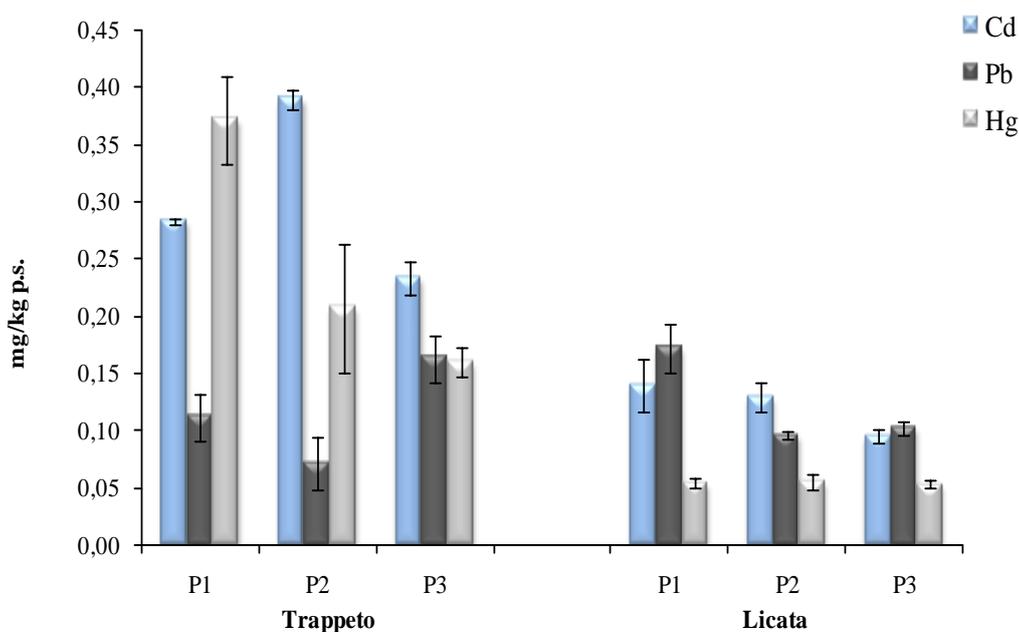


Fig. 48 Valori medi di Cd, Pb e Hg (mg/kg p.s.±ds) nelle tre pezzature di mangime di Trappeto e Licata.

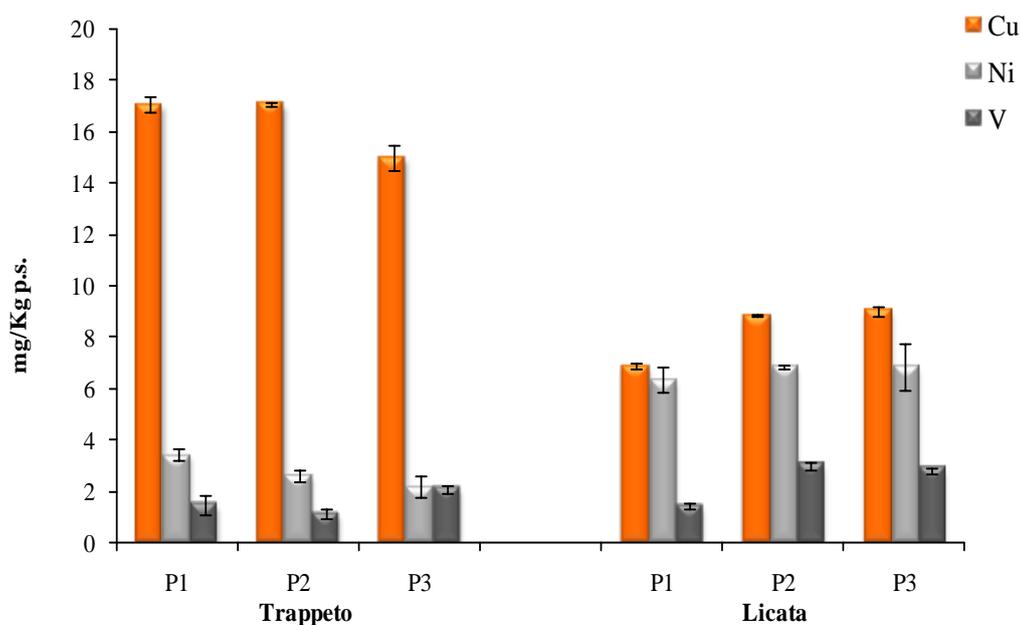


Fig. 49 Valori medi di Cu, Ni e V (mg/kg p.s.±ds) nelle tre pezzature di mangime di Trappeto e Licata.

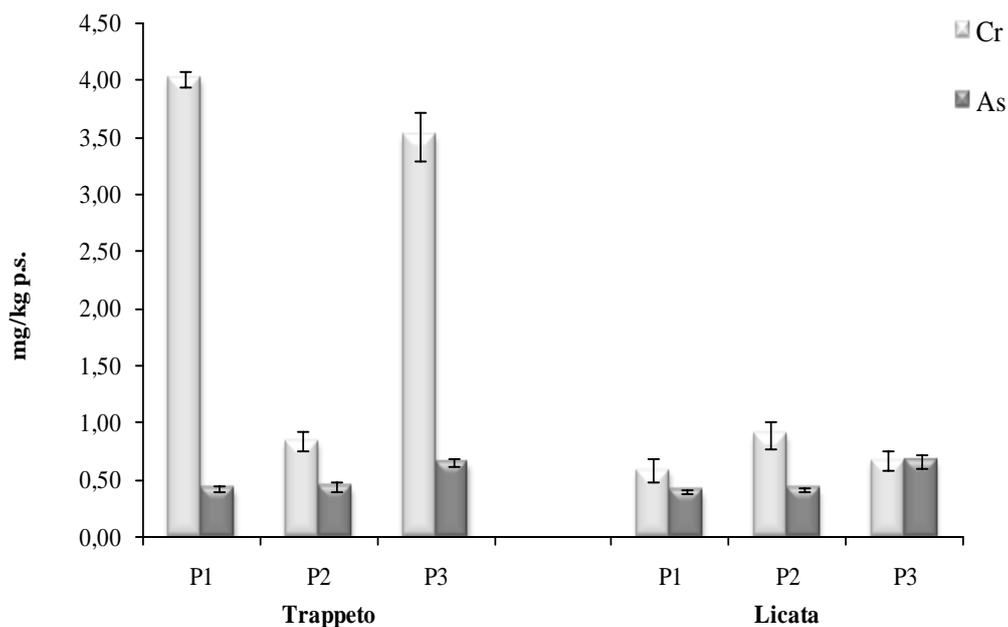


Fig. 50 Valori medi di Cr e As (mg/kg p.s.±ds) nelle tre pezzature di mangime di Trappeto e Licata.

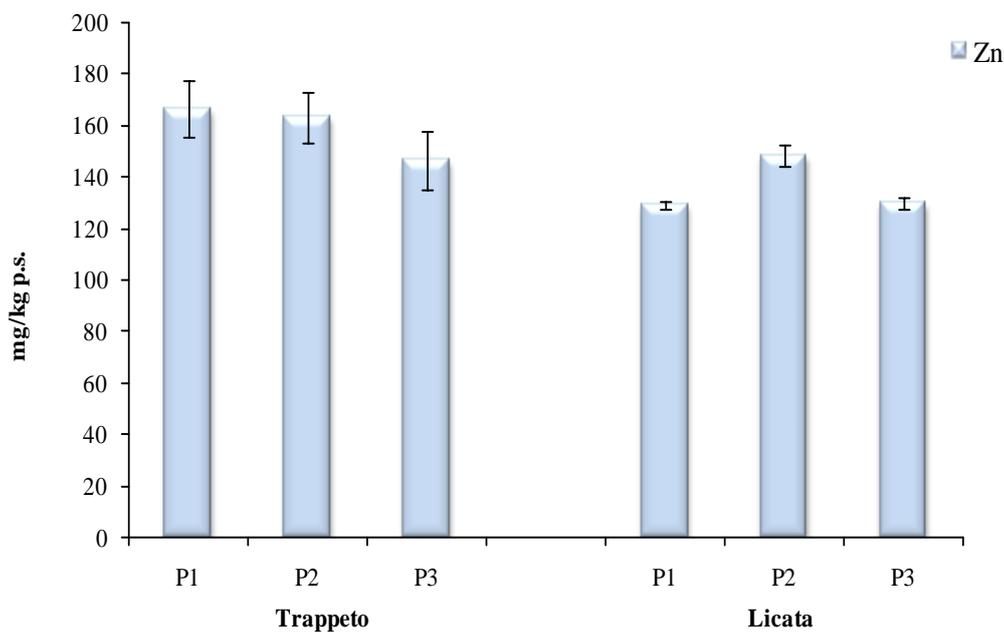


Fig. 51 Valori medi di Zn (mg/kg p.s.±ds) nelle tre pezzature di mangime di Trappeto e Licata.

La Tabella 18 riporta i risultati dell'analisi della varianza (ANOVA), che ha evidenziato come i dati relativi a Proteine (PRT) e Glucidi (GLU) siano significativamente differenti in relazione ai fattori Sito, Dimensione e all'interazione dei due fattori. Al contrario, i dati relativi ai Lipidi (LPD) hanno

mostrato variazioni significative solo in relazione al fattore dimensionale e non al fattore Sito o Sito x Dimensione.

La Tabella 19 riporta, invece, i risultati dell'analisi della varianza (ANOVA) per i metalli pesanti all'interno delle tre pezzature di mangimi. Tale analisi ha mostrato differenze significative per i fattori Sito, Dimensione e Sito per Dimensione per i seguenti metalli: Cd, Cr, Cu, Hg e V. Per L'As solo il fattore dimensione ha mostrato differenze significative, per il Ni e lo Zn solo il fattore sito, mentre per il Pb sono risultati significativamente differenti i fattori sito e sito per dimensione.

La Figura 52 riporta i risultati dell'analisi multivariata (nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate) dei valori delle variabili misurate nei mangimi (Lipidi, Protidi, Glucidi e metalli pesanti) provenienti dagli impianti di Trappeto e Licata. Tale analisi ha evidenziato differenze tra le tre pezzature di mangimi. E' possibile notare, all'interno della rappresentazione bidimensionale nMDS, quattro *cluster* formati dai punti relativi: TR-P1 con TR-P2, ben distanziati i punti TR-P3, e LC-P1 con LC-P2 distanziati dai punti LC-P3.

Tabella 18 – Risultati dell’ANOVA effettuata sulla composizione biochimica dei mangimi per valutare le differenze tra i siti (Licata e Trappeto) e le classi dimensionali. (PRT=Protidi; LIP=Lipidi; GLU=Glucidi) [Ns = differenza non significativa (P> 0,05)].

Sorgente di variazione	df	PRT			LIP			GLU		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Sito	1	215,173	63,289	0,000	0,009	0,013	0,912	389,854	535,475	0,000
Dimensione	2	905,161	266,235	0,000	41,026	58,870	0,000	10,508	14,433	0,005
Sito x Dimensione	2	101,178	29,760	0,001	0,265	0,380	0,699	8,549	11,743	0,008
Redisui	6	3,400			0,697			0,728		
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05

Tabella 19 – Risultati dell’ANOVA effettuata sul contenuto in elementi in traccia dei mangimi per valutare le differenze tra i siti (Licata e Trappeto) e le classi dimensionali. (As=Arsenico; Cd=Cadmio; Cr=Cromo; Cu=Rame; Hg=Mercurio; Ni=Nichel; Pb=Piombo; V=Vanadio; Zn=Zinco) [Ns = differenza non significativa (P> 0,05)].

Sorgente di variazione	df	As			Cd			Cr			Cu			Hg		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Sito	1	0,000	0,181	0,685	0,098	587,410	0,000	12,887	872,553	0,000	197,964	3032,749	0,000	0,111	136,201	0,000
Dimensione	2	0,077	56,350	0,000	0,009	53,968	0,000	2,397	162,328	0,000	1,271	19,469	0,002	0,012	15,232	0,004
Sito x Dimensione	2	0,000	0,298	0,752	0,005	28,727	0,001	3,487	236,094	0,000	4,432	67,900	0,000	0,012	15,217	0,004
Redisui	6	0,001			0,000			0,015			0,065			0,001		
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05			>0.05			>0.05

continua

Sorgente di variazione	df	Ni			Pb			V			Zn		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Sito	1	46,327	202,791	0,000	0,000	0,673	0,443	2,237	49,415	0,000	1578,200	25,732	0,002
Dimensione	2	0,129	0,566	0,595	0,004	12,393	0,007	1,047	23,129	0,002	312,360	5,093	0,051
Sito x Dimensione	2	0,819	3,584	0,095	0,004	12,105	0,008	0,914	20,177	0,002	155,152	2,530	0,160
Redisui	6	0,228			0,000			0,045			61,332		
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05			>0.05

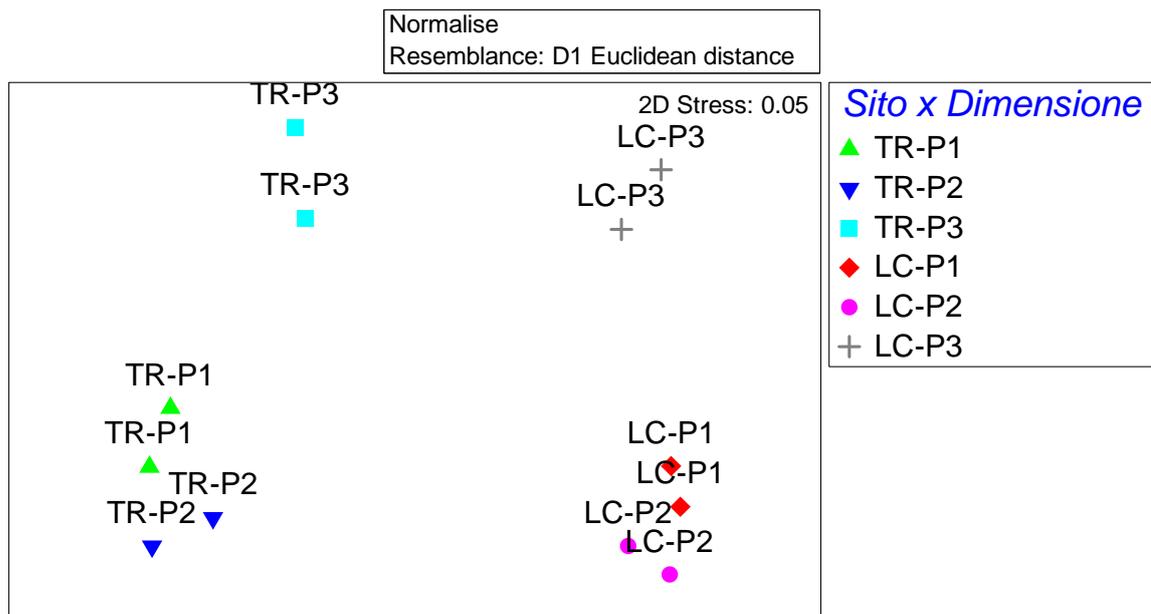


Fig. 52 nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate dei valori delle variabili biochimiche trofiche e chimiche misurate nelle tre pezzature dei mangimi.

5.3 Analisi del prodotto di allevamento

Esemplari di *Dicentrarchus labrax* e di *Sparus aurata* sono stati campionati nei due impianti di allevamento, a Trappeto e a Licata. Le analisi della composizione biochimica della parte edibile di esemplari di orate e spigole suddivisi in diverse classi di taglia, hanno mostrato lievi differenze tra le due specie allevate (Tabella 20). Per esempio, nell'impianto di Trappeto si nota un concentrazione maggiore di proteine di ~10% nel muscolo della spigola rispetto all'orata .

La media del contenuto protidico delle orate di Trappeto è di $10,55 \pm 2,99\%$, con un valore massimo di $12,83 \pm 0,81\%$ nella taglia 2° ed un valore minimo di $6,26 \pm 0,88\%$ nella taglia 3°. I lipidi assumono una concentrazione pressoché costante con una media di $2,79 \pm 0,15\%$, mentre i glucidi, anch' essi costanti, hanno un valore medio di $0,39 \pm 0,04\%$.

Per quanto riguarda le spigole di Trappeto, la percentuale media di protidi è stata di $20,84 \pm 5,26\%$, con un valore massimo di $24,11 \pm 1,86\%$ nella taglia 3° ed un valore minimo di $13,03 \pm 1,29\%$ negli avannotti. I lipidi hanno un valore quasi costante con una media di $3,86 \pm 0,22\%$, mentre la percentuale media dei glucidi è di $0,52 \pm 0,23\%$, con il valore più alto registrato nella spigola di taglia 2° e il valore più basso negli avannotti.

Nell'impianto di Licata non si notano grosse differenze nelle concentrazioni delle componenti biochimiche tra orate e spigole. Nelle orate, i protidi hanno concentrazione comprese tra ~11% negli avannotti e ~23% nella taglia 3°. I lipidi sono pressoché costanti, con un valore medio di 2,61±0,46%. Anche le concentrazioni dei glucidi non hanno notevoli differenze all'interno delle classi di taglia assumendo un valore medio di 2,11±0,33%.

Nelle spigole, invece, il valore medio delle concentrazione dei protidi è di 18,45±2,89%, con un valore massimo di 21,85±2,28% che si riscontra negli avannotti. I glucidi nelle spigole, come per le orate, hanno raggiunti livelli maggiori nell'impianto di Licata rispetto a Trappeto, con un valore medio di 2,04±0,17%.

Tab. 20 Valori di Lipidi, Protidi e Glucidi (%±ds) nel muscolo di orate e spigole allevate negli impianti di Trappeto e di Licata.

TRAPPETO													
	Sigla	Lipidi				Protidi				Glucidi			
		Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max
Orata avannotti	OT-a	2,59	0,25	2,39	2,96	10,75	2,06	8,12	12,54	0,33	0,05	0,29	0,39
Orata taglia 1°	OT-1	2,83	0,43	2,33	3,36	12,36	2,01	10,77	15,13	0,39	0,06	0,37	0,46
Orata taglia 2°	OT-2	2,97	0,68	2,15	3,79	12,83	0,81	11,78	13,74	0,42	0,07	0,33	0,48
Orata taglia 3°	OT-3	2,76	0,47	2,10	3,17	6,26	0,88	5,42	7,35	0,42	0,09	0,34	0,50
Spigola avannotti	ST-a	3,74	0,89	3,08	4,99	13,03	1,29	11,99	14,76	0,20	0,02	0,17	0,22
Spigola taglia 1°	ST-1	3,60	0,80	2,71	4,31	22,41	1,99	20,24	24,87	0,59	0,21	0,35	0,84
Spigola taglia 2°	ST-2	4,02	0,30	3,74	4,24	23,82	0,78	23,02	24,87	0,74	0,14	0,58	0,89
Spigola taglia 3°	ST-3	4,06	2,32	3,14	5,86	24,11	1,86	22,26	26,67	0,54	0,12	0,45	0,72

LICATA													
	Sigla	Lipidi				Protidi				Glucidi			
		Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max
Orata avannotti	OL-a	2,26	0,66	1,57	2,90	10,67	1,64	8,94	12,77	2,62	0,33	2,27	3,05
Orata taglia 1°	OL-1	1,96	0,75	1,66	2,49	21,68	1,76	19,46	23,35	1,73	0,99	1,41	2,17
Orata taglia 2°	OL-2	2,17	0,79	1,91	3,29	16,88	1,17	15,88	18,46	1,82	0,69	1,21	2,80
Orata taglia 3°	OL-3	2,65	0,71	2,90	3,36	22,47	1,72	20,40	23,89	2,54	0,27	2,17	2,80
Spigola avannotti	SL-a	2,55	0,61	2,98	3,55	21,85	2,28	19,86	24,36	1,82	0,33	1,34	2,08
Spigola taglia 1°	SL-1	3,15	0,32	3,57	5,10	19,61	2,22	17,47	22,15	2,14	0,37	1,75	2,53
Spigola taglia 2°	SL-2	3,22	0,64	2,74	3,86	15,24	1,32	13,90	16,70	2,20	0,47	1,57	2,71
Spigola taglia 3°	SL-3	2,91	0,54	2,55	3,72	17,08	1,46	15,38	18,90	1,99	0,41	1,37	2,24

Da un confronto delle variabili biochimiche tra i pesci allevati nei due impianti (Figura 53), si nota come le orate di Licata differiscano da quelle di Trappeto per

un maggior contenuto in protidi, con una media di $17,92 \pm 5,43\%$, un valore massimo di $22,47 \pm 1,72\%$ nella taglia 3° ed un valore minimo di $10,67 \pm 1,64\%$ negli avannotti; inoltre, differiscono molto per i valori dei glucidi che a Licata sono di gran lunga più elevati con una media di $2,18 \pm 0,46\%$. I lipidi nelle orate hanno dei valori pressoché costanti in entrambi gli impianti.

Per le spigole la situazione cambia; si nota che le concentrazioni dei protidi sono più elevate nella spigola di Trappeto, così come anche i lipidi, mentre le concentrazioni dei glucidi rimangono sempre più elevate a Licata.

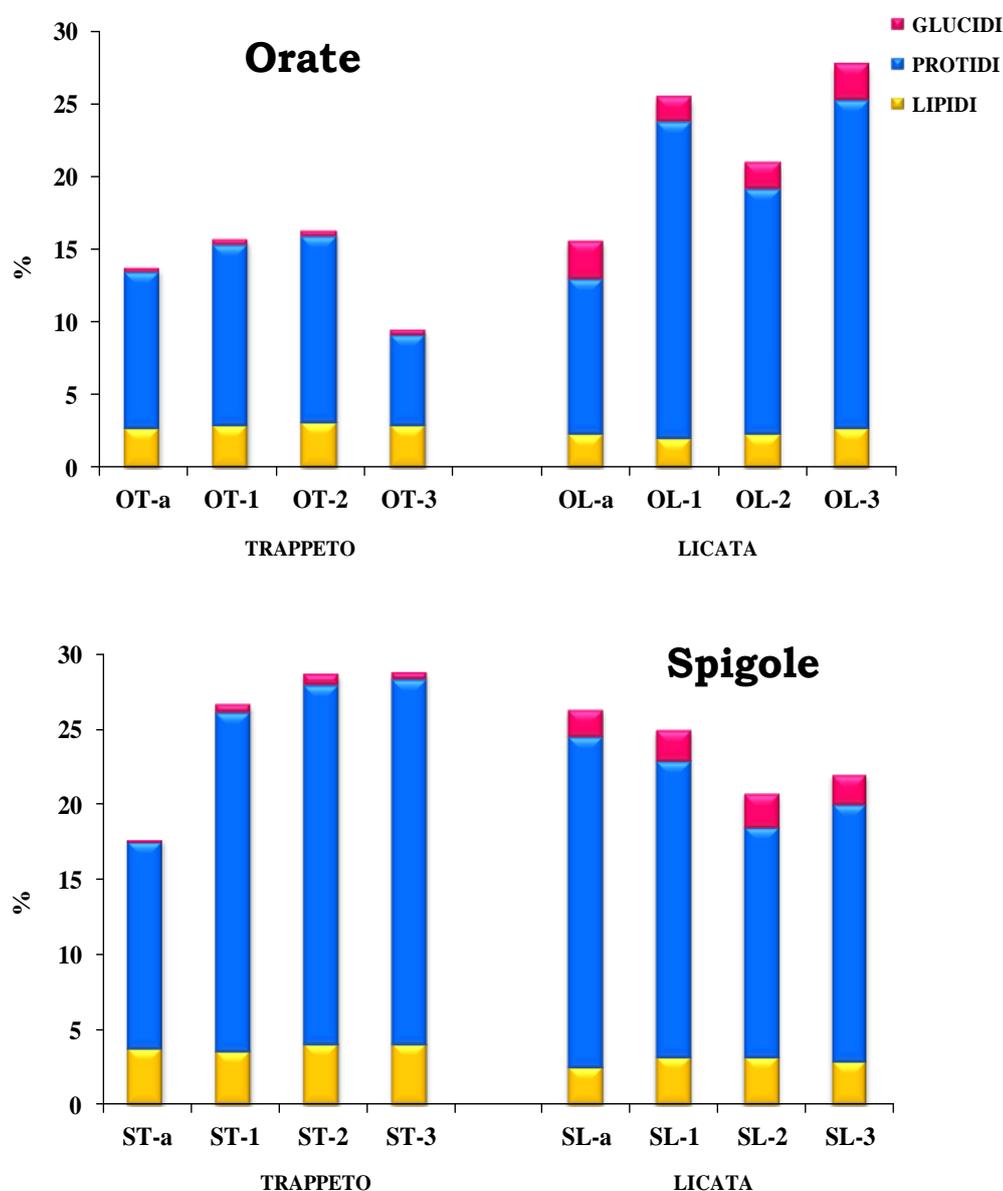


Fig. 53 Valori medi di Lipidi, Protidi e Glucidi (%) nelle orate e nelle spigole allevate negli impianti di Trappeto e di Licata.

Dalle analisi effettuate sul muscolo del pesce allevato relativamente alla composizione isotopica, si è potuto evidenziare, nell'impianto di Trappeto, dei valori costanti di $\delta^{13}\text{C}$ all'interno delle classi di taglia con un valore medio di $-20,54 \pm 0,52\text{‰}$ nel muscolo di orata, e di $-19,72 \pm 0,59\text{‰}$ nel muscolo di spigola (Tabella 21)

Il $\delta^{15}\text{N}$ nelle orate di Trappeto ha un valore medio di $12,41 \pm 1,1\text{‰}$; il valore massimo di $13,65 \pm 0,66\text{‰}$ si ha nel muscolo degli avannotti, mentre il valore minimo di $11,07 \pm 0,50\text{‰}$ si trova nel muscolo delle orate di taglia 3°.

Nelle spigole il $\delta^{15}\text{N}$ assume dei valori più costanti con un valore medio di $12,65 \pm 0,80\text{‰}$ (Tabella 21).

Nell'impianto di Licata, i valori del $\delta^{13}\text{C}$ per le orate risultano essere meno negativi rispetto quelli di Trappeto, con un $\delta^{13}\text{C}$ di $-19,42 \pm 0,59\text{‰}$ e di $-18,91 \pm 0,57\text{‰}$ per le spigole (Tabella 21).

Il $\delta^{15}\text{N}$ nelle orate ha un valore medio di $13,23 \pm 1,2\text{‰}$, con un valore massimo nel muscolo di avannotti ed un valore minimo nelle orate di taglia 3°. Per quanto riguarda il $\delta^{15}\text{N}$ nel muscolo delle spigole di Licata, si è registrato un valore medio massimo di $15,40 \pm 0,21\text{‰}$ negli avannotti, quello più basso di $12,40 \pm 0,20\text{‰}$ nelle spigole di taglia 2° (Tabella 21).

Tabella 21 – Valori del $\delta^{15}\text{N}$ e del $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nel muscolo di pesce allevati negli impianti di Trappeto e Licata.

TRAPPETO									
		$\delta^{15}\text{N}$				$\delta^{13}\text{C}$			
	Sigla	Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max
Orata avannotti	OT-a	13,65	0,66	12,71	14,53	-19,75	0,10	-19,92	-19,62
Orata taglia 1°	OT-1	13,02	0,39	12,63	13,22	-20,96	0,24	-21,08	-20,67
Orata taglia 2°	OT-2	11,91	0,57	11,50	11,91	-20,85	0,23	-21,13	-20,56
Orata taglia 3°	OT-3	11,07	0,50	10,55	11,19	-20,58	0,24	-20,85	-20,28
Spigola avannotti	ST-a	13,40	0,57	12,47	14,08	-19,51	0,26	-19,80	-19,03
Spigola taglia 1°	ST-1	12,75	0,71	12,10	12,84	-19,27	0,19	-19,66	-19,06
Spigola taglia 3°	ST-3	11,81	0,37	11,42	11,97	-20,39	0,14	-20,63	-20,20

LICATA									
		$\delta^{15}\text{N}$				$\delta^{13}\text{C}$			
	Sigla	Media	DS	Min	Max	Media	DS	Min	Max
Orata avannotti	OL-a	15,02	0,19	15,35	14,87	-19,39	0,32	-19,76	-19,03
Orata taglia 1°	OL-1	12,95	0,15	13,16	12,80	-19,64	0,24	-19,94	-19,29
Orata taglia 2°	OL-2	12,84	0,21	12,54	13,15	-20,02	0,13	-20,17	-19,84
Orata taglia 3°	OL-3	12,11	0,20	12,42	11,89	-18,62	0,38	-20,20	0,14
Spigola avannotti	SL-a	15,40	0,21	15,55	15,07	-19,31	0,25	-19,66	-19,06
Spigola taglia 2°	SL-2	12,02	0,20	12,30	11,78	-18,50	0,39	-19,01	-18,03

I valori medi delle concentrazioni dei metalli pesanti (Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, Pb, Hg, As e V) nel muscolo di orate e spigole provenienti dai due impianti di allevamento (Trappeto e Licata) sono elencati nelle Tabelle 22 e 23.

Nelle orate di Trappeto (Tabella 22), il Cd ha un valore medio di $0,022 \pm 0,020$ mg/kg p.s., con un valore massimo di $0,049 \pm 0,011$ mg/kg p.s. negli avannotti e un valore minimo di $0,004 \pm 0,001$ mg/kg p.s. nelle orate di taglia 2°. Il Cr ha un valore medio di $0,204 \pm 0,065$ mg/kg p.s., il valore massimo di $0,300 \pm 0,074$ mg/kg p.s. si riscontra negli avannotti.

Il Cu ha una concentrazione media di $1,339 \pm 0,065$ mg/kg p.s., con un valore massimo di $1,779 \pm 0,048$ mg/kg p.s. nelle orate di taglia 2° e un valore minimo di $0,799 \pm 0,165$ mg/kg p.s. nella taglia 3°.

Il Ni assume dei valori pressoché costanti nelle 4 taglie, con una media di $3,563 \pm 0,203$ mg/kg p.s. Il Pb ha un valore medio di $0,147 \pm 0,051$ mg/kg p.s.; lo Zn ha dei valori elevati, il suo valore medio di concentrazione è di $22,486 \pm 6,463$ mg/kg p.s., il valore massimo è negli avannotti ed è di $31,600 \pm 3,347$ mg/kg

p.s., mentre il valore minimo si ha nelle orate di taglia 3° (17,043±2,681 mg/kg p.s.). Il Hg ha un valore medio di 0,193±0,150 mg/kg p.s., con il valore più alto negli avannotti. Il V ha un valore medio di 0,165±0,024 mg/kg p.s., mentre l'As ha un valore medio di 0,475±0,197 mg/kg p.s. Per il Cd, Cr, Ni, Zn e Hg i valori più elevati si registrano negli avannotti.

Nelle spigole di Trappeto (Tabella 22), i valori dei metalli rimangono simili a quelli delle orate; il Cd ha una media di 0,024±0,010 mg/kg p.s., il Cr ha un valore medio di 0,305±0,140 mg/kg p.s., il Cu di 1,576±0,605 mg/kg p.s.

I valori del Ni hanno una media di 3,732±0,826 mg/kg p.s.; il Pb ha un valore medio di 0,137±0,034 mg/kg p.s. Lo Zn, con una concentrazione maggiore rispetto agli altri metalli, ha un valore medio di 25,554±5,000 mg/kg p.s. Il Hg ha una concentrazione media di 0,168±0,079 mg/kg p.s., l'As di 0,338±0,114 mg/kg p.s., mentre il V, con dei valori quasi costanti, ha una media di 0,177±0,034 mg/kg p.s. Nelle spigole i valori più elevati di Cd, Cr, Ni, Hg, As e V si registrano negli avannotti, mentre i valori più bassi si hanno nella taglia 3°.

Nelle orate di Licata, il Cd ha un valore medio di 0,040±0,006 mg/kg p.s. e il Cr di 0,509±0,163 mg/kg p.s. Il Cu ha una concentrazione media di 1,510±0,136 mg/kg p.s., con un valore massimo di 1,592±0,092 mg/kg p.s. negli avannotti ed uno minimo di 1,306±0,058 mg/kg p.s. nelle orate di taglia 2°. Il Ni ha un valore medio di 3,222±0,825 mg/kg p.s. Il Pb ha un valore medio di 0,036±0,007 mg/kg p.s., lo Zn di 24,876±4,409 mg/kg p.s., con il valore massimo negli avannotti (30,150±4,824 mg/kg p.s. e il minimo nelle orate di taglia 1° (19,848±4,641 mg/kg p.s.). Il Hg ha un valore medio di 0,116±0,034 mg/kg p.s., l'As di 0,406±0,260 mg/kg p.s., mentre il V di 0,230±0,062 mg/kg p.s. Il Cr, il Cu, lo Zn e il Hg hanno registrato dei valori di maggiore concentrazione negli avannotti (Tabella 23).

Nelle spigole di Licata, i valori rimangono simili a quelli delle orate; solo il Ni e lo Zn hanno dei valori più elevati. Il Ni ha un valore medio pari a 5,649±1,562 mg/kg p.s., mentre lo Zn di 34,844±11,028 mg/kg p.s. (Tabella 23).

Dal confronto tra i due impianti si nota come le orate di Trappeto mostrino maggiori concentrazioni di Pb, As e Hg, mentre le orate di Licata sono più ricche in V, Cr, e Cd (Figure 54-57). Per quanto riguarda le spigole, a Trappeto i metalli più concentrati sono il Pb e di poco il Hg, mentre a Licata sono il V, il Cd, il Cr, il Ni e lo Zn (Figure 58-61).

Tabella 22 – Valori medi dei metalli pesanti (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, As e V) espressi in mg/kg di p.s. nel muscolo dei pesci allevati negli impianti di Trappeto.

TRAPPETO											
		Cd		Cr		Cu		Ni		Pb	
	Sigla	Media	DS								
Orata avannotti	OT-a	0,049	0,011	0,300	0,074	1,603	0,259	3,736	0,505	0,085	0,034
Orata taglia 1°	OT-1	0,027	0,015	0,187	0,022	1,779	0,482	3,596	1,307	0,178	0,040
Orata taglia 2°	OT-2	0,004	0,001	0,166	0,044	1,175	0,167	3,651	0,964	0,198	0,089
Orata taglia 3°	OT-3	0,009	0,006	0,164	0,054	0,799	0,165	3,270	0,860	0,126	0,055
Spigola avannotti	ST-a	0,032	0,005	0,460	0,136	1,670	0,201	4,650	1,022	0,138	0,024
Spigola taglia 1°	ST-1	0,027	0,008	0,270	0,078	2,128	0,252	3,498	0,585	0,172	0,059
Spigola taglia 3°	ST-3	0,013	0,004	0,186	0,061	0,929	0,298	3,047	0,842	0,103	0,029

		Zn		Hg		As		V	
	Sigla	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Orata avannotti	OT-a	31,600	3,347	0,414	0,049	0,282	0,118	0,137	0,043
Orata taglia 1°	OT-1	22,362	2,006	0,157	0,064	0,331	0,121	0,175	0,031
Orata taglia 2°	OT-2	18,939	2,039	0,106	0,058	0,674	0,302	0,192	0,053
Orata taglia 3°	OT-3	17,043	2,681	0,094	0,044	0,614	0,240	0,156	0,029
Spigola avannotti	ST-a	27,470	2,324	0,258	0,092	0,423	0,170	0,208	0,067
Spigola taglia 1°	ST-1	29,313	2,179	0,136	0,046	0,384	0,117	0,183	0,048
Spigola taglia 3°	ST-3	19,879	2,930	0,110	0,065	0,207	0,095	0,140	0,060

Tabella 23 – Valori medi dei metalli pesanti (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, As e V), espressi in mg/kg di p.s., nel muscolo dei pesci allevati negli impianti di Licata.

LICATA											
		Cd		Cr		Cu		Ni		Pb	
	Sigla	Media	DS								
Orata avannotti	OL-a	0,041	0,016	0,807	0,381	1,592	0,092	2,565	1,338	0,039	0,018
Orata taglia 1°	OL-1	0,033	0,013	0,477	0,113	1,558	0,154	2,477	1,218	0,044	0,015
Orata taglia 2°	OL-2	0,037	0,020	0,621	0,163	1,306	0,058	3,725	0,736	0,030	0,008
Orata taglia 3°	OL-3	0,048	0,010	0,453	0,251	1,583	0,180	4,120	1,396	0,032	0,015
Spigola avannotti	SL-a	0,046	0,015	0,589	0,279	1,971	0,163	6,754	0,955	0,041	0,028
Spigola taglia 1°	SL-2	0,028	0,014	0,445	0,176	1,582	0,239	4,545	1,479	0,038	0,013

		Zn		Hg		As		V	
	Sigla	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Orata avannotti	OL-a	30,150	4,824	0,148	0,031	0,516	0,184	0,185	0,091
Orata taglia 1°	OL-1	19,848	4,641	0,080	0,022	0,722	0,381	0,186	0,014
Orata taglia 2°	OL-2	26,366	3,072	0,095	0,024	0,202	0,084	0,317	0,106
Orata taglia 3°	OL-3	23,142	2,846	0,141	0,019	0,184	0,077	0,231	0,106
Spigola avannotti	SL-a	42,643	4,874	0,131	0,023	0,493	0,179	0,261	0,106
Spigola taglia 2°	SL-2	27,046	6,414	0,160	0,038	0,268	0,099	0,168	0,097

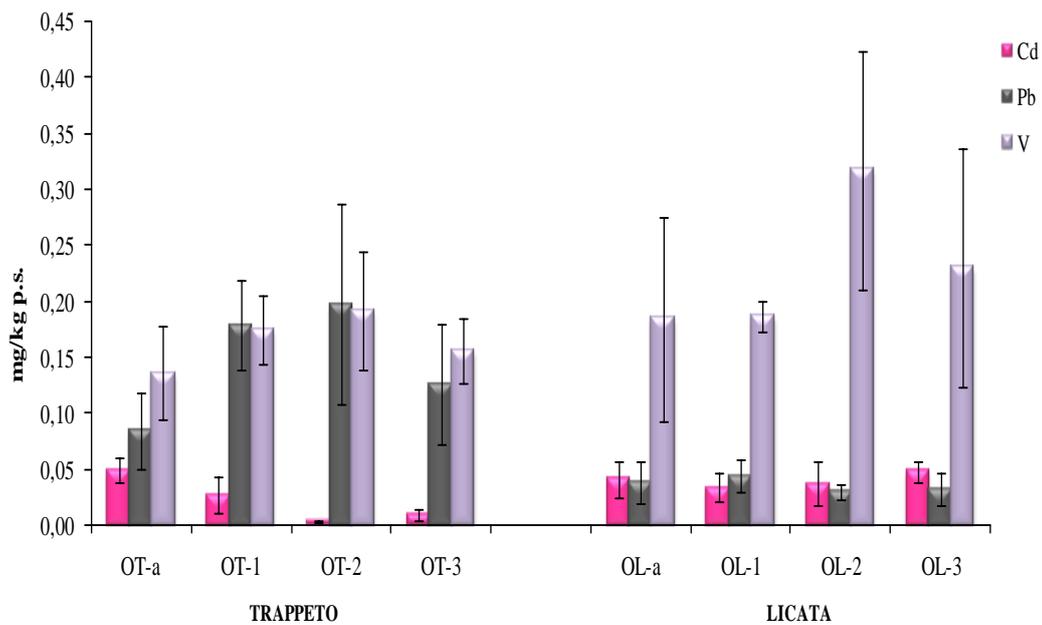


Fig. 54 Valori medi di Cd, Pb e V (mg/kg p.s.±ds) nelle orate degli impianti di Trappeto e di Licata.

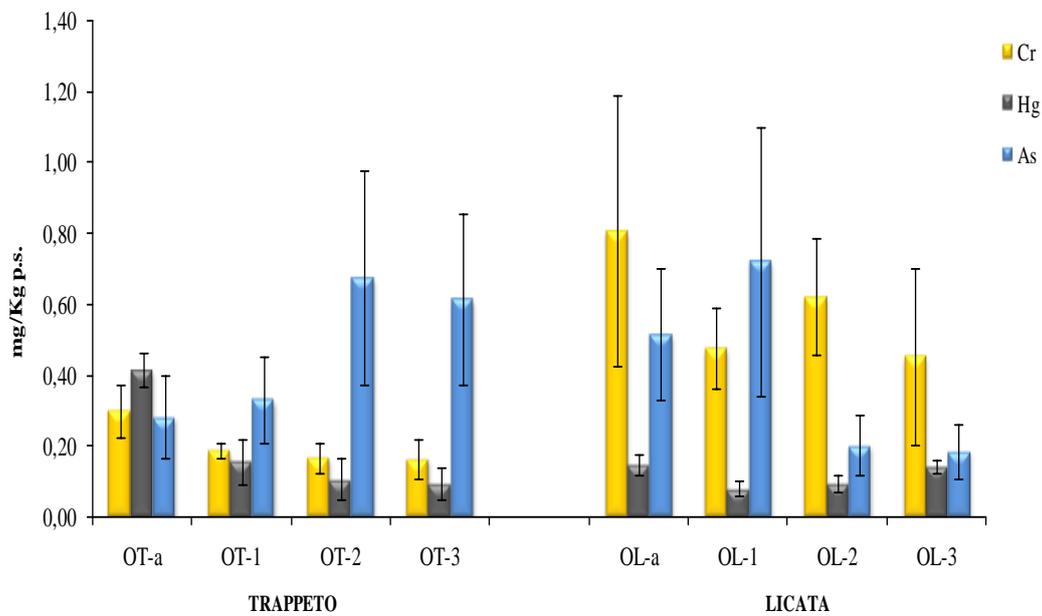


Fig. 55 Valori medi di Cr, Hg e As (mg/kg p.s.±ds) nelle orate degli impianti di Trappeto e di Licata.

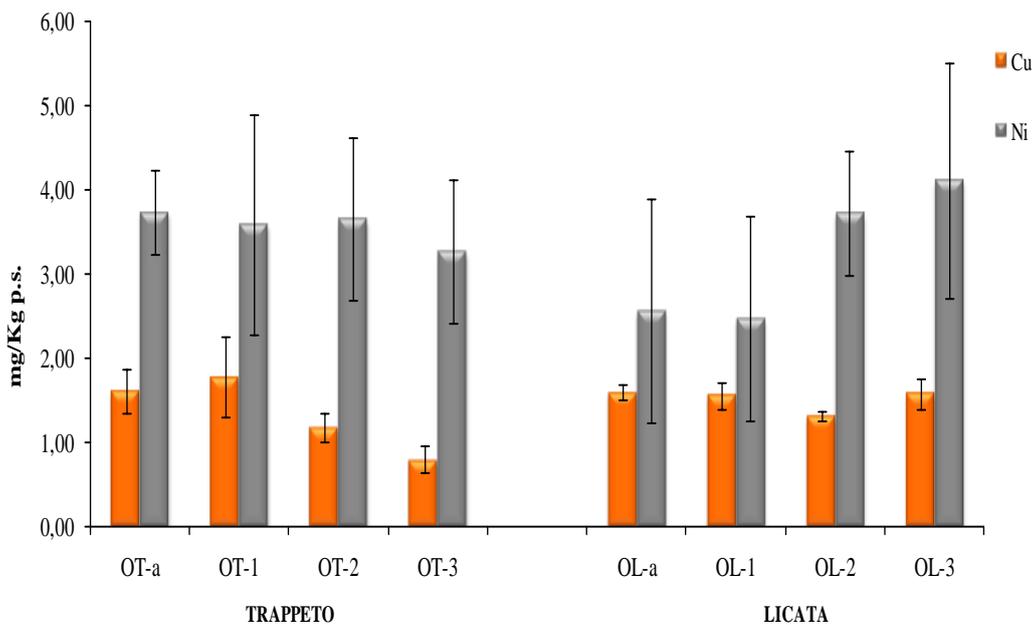


Fig. 56 Valori medi di Cu e Ni (mg/kg p.s.±ds) nelle orate degli impianti di Trappeto e di Licata.

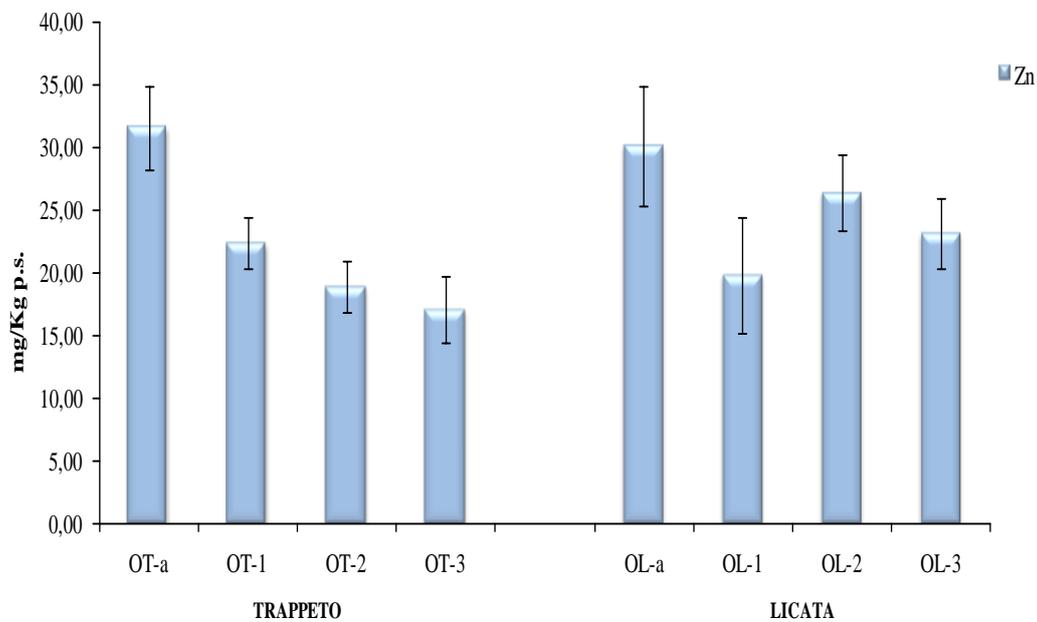


Fig. 57 Valori medi delle concentrazioni di Zn (mg/kg p.s.±ds) nelle orate degli impianti di Trappeto e di Licata.

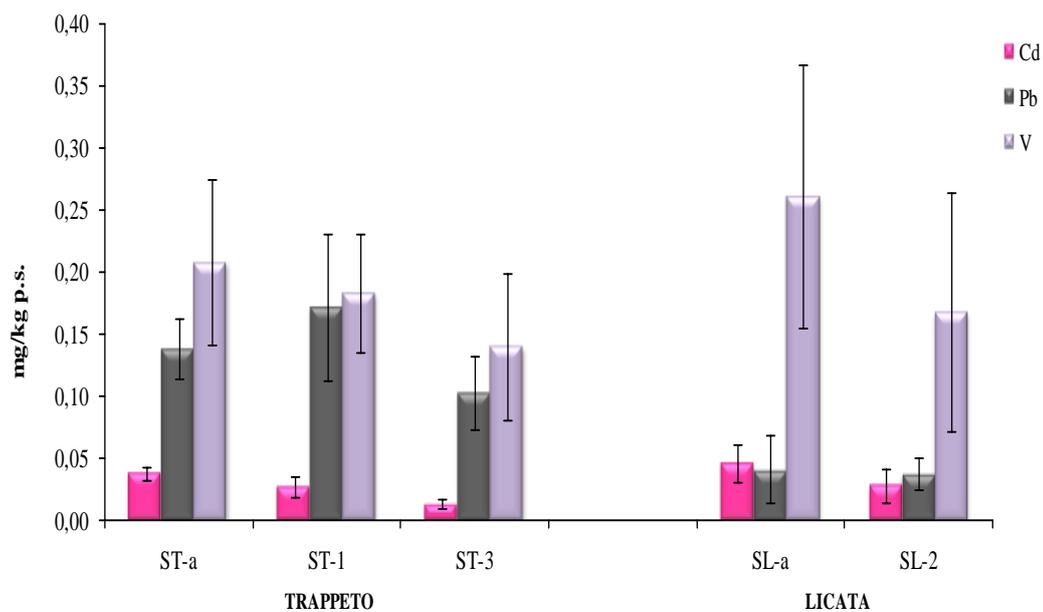


Fig. 58 Valori medi di Cd, Pb e V (mg/kg p.s.±ds) nelle spigole degli impianti di Trappeto e di Licata.

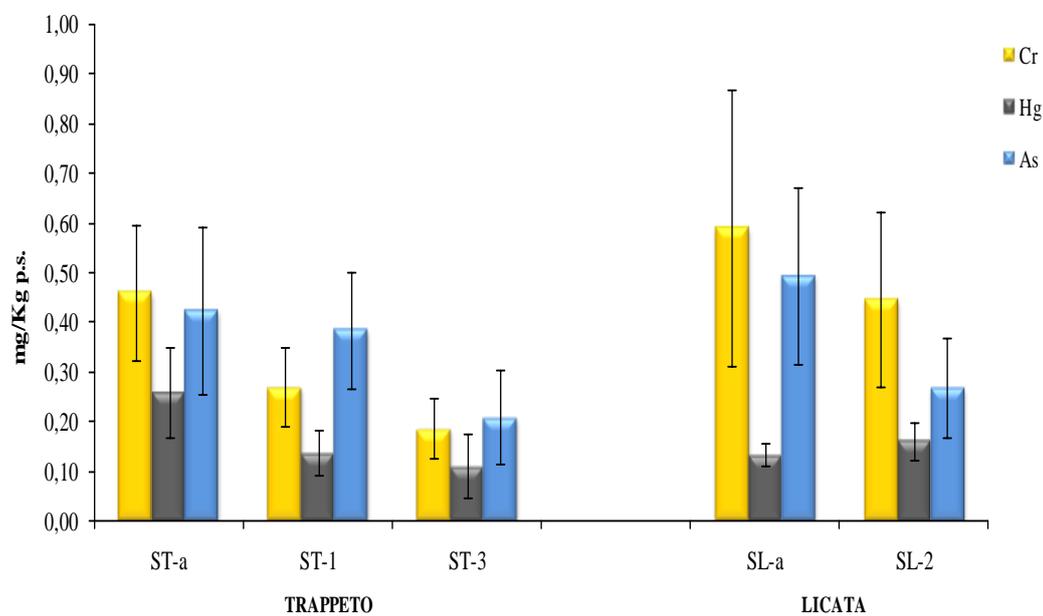


Fig. 59 Valori medi di Cr, Hg e As (mg/kg p.s. ± ds) nelle spigole degli impianti di Trappeto e di Licata.

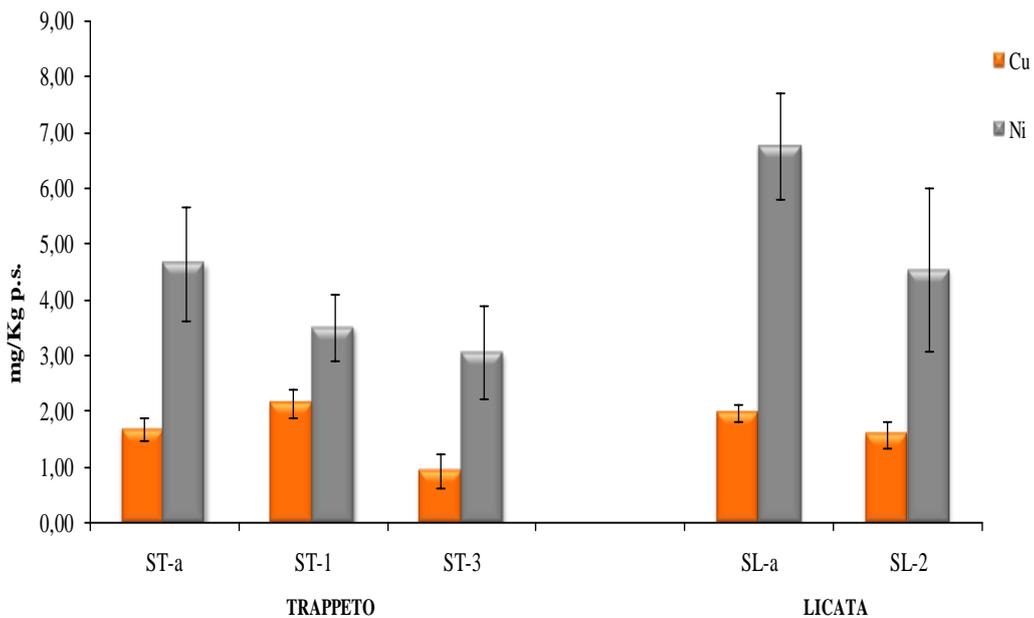


Fig. 60 Valori medi di Cu e Ni (mg/kg p.s. \pm ds) nelle spigole degli impianti di Trappeto e di Licata.

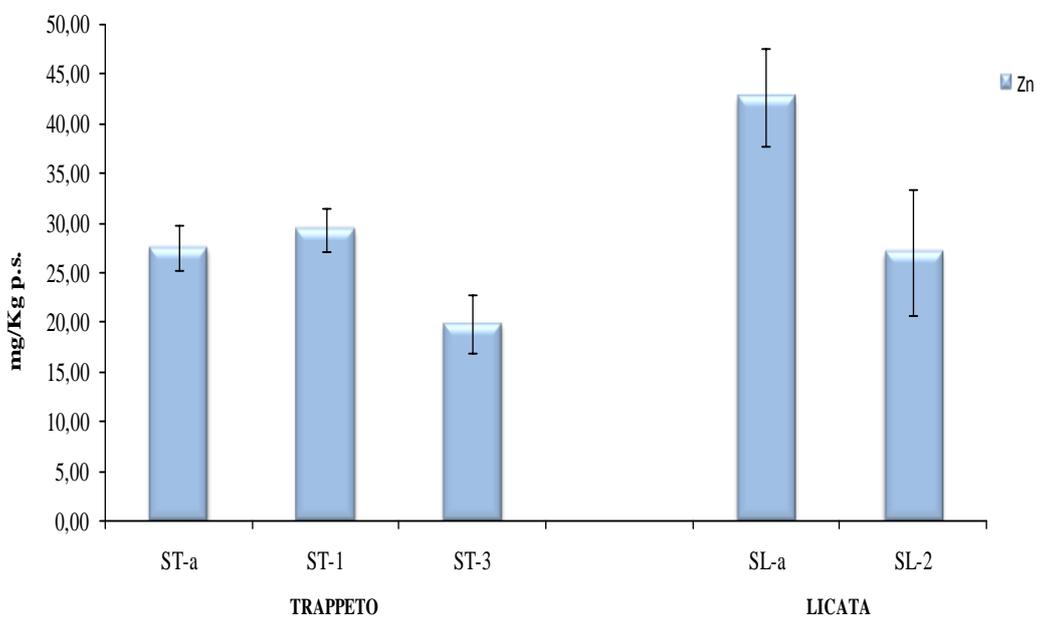


Fig. 61 Valori medi di Zn (mg/kg p.s. \pm ds) nelle spigole degli impianti di Trappeto e di Licata.

L'analisi della varianza (ANOVA) effettuata sulle componenti biochimiche del muscolo dell'orata allevata nei due impianti ha mostrato differenze significative nei Protidi (PRT) per i fattori Sito, Taglia e Sito x Taglia, e nei Glucidi (GLU) solo per il fattore Sito (Tabella 24).

La Tabella 25 riporta invece i risultati dell'analisi della varianza (ANOVA) per i metalli pesanti nel muscolo dell'orata. Tale analisi ha mostrato differenze significative per i fattori Sito, Taglia e Sito x Taglia per il Cd, il Cu e il Hg. L'As ha mostrato differenze significative solo per il fattore Sito x Taglia; il Pb e il Cr solo per il fattore Sito, mentre per lo Zn sono risultati significativamente differenti i fattori Taglia e Sito x Taglia.

Le Figure 62, 63 e 64 riportano i risultati dell'analisi multivariata (nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate) dei valori delle variabili biochimiche misurate nei pesci (Lipidi, Protidi, Glucidi) provenienti dagli impianti di Trappeto e Licata. E' possibile notare, all'interno della rappresentazione bidimensionale nMDS, come vi sia una netta differenza tra il fattore Sito, una lieve sovrapposizione dei punti all'interno del fattore Specie; mentre per quanto riguarda il fattore Taglia, i campioni risultano essere uniformemente distribuiti nell'area del grafico, senza lasciare emergere distinzioni tra le diverse taglie.

Le Figure 65, 66 e 67 riportano i risultati dell'analisi multivariata (nMDS basata sulle distanze euclidee normalizzate) dei dati relativi alla presenza di metalli pesanti (Arsenico, Cadmio, Cromo, Rame, Mercurio, Nichel, Piombo, Vanadio, Zinco) nei muscoli dei pesci allevati negli impianti di Trappeto e Licata. Anche per i metalli pesanti si nota una netta distinzione all'interno della rappresentazione bidimensionale per il fattore Sito, una lieve sovrapposizione all'interno del fattore Specie, mentre per il fattore Taglia i punti all'interno dell'area del grafico sono ampiamente sovrapposti.

Tabella 24 – Risultati dell'ANOVA effettuata sulla composizione biochimica del muscolo di orata; per valutare le differenze tra i siti (Licata e Trappeto) e le classi dimensionali. (PRT=Protidi; LIP=Lipidi; GLU=Glucidi) [Ns = differenza non significativa (P> 0,05)].

<i>Sparus aurata</i>											
Sorgenti di variazione	df	MS	PRT			LIP			GLU		
			F	p	MS	F	p	MS	F	p	
Sito	1	434,912	175,685	0,000	0,879	3,635	0,069	4,330	587,948	0,000	
Taglia	3	54,972	22,206	0,000	0,529	2,186	0,116	0,017	2,285	0,104	
Sito x Taglia	3	99,009	39,995	0,000	0,492	2,034	0,136	0,033	4,448	0,013	
Residui	24	2,476			0,242			0,007			
Trasformazione				-			-			log	
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05	

Tabella 25 – Risultati dell'ANOVA effettuata sul contenuto in elementi in traccia nel muscolo di orata; per valutare le differenze tra i siti (Licata e Trappeto) e le classi dimensionali. (As=Arsenico; Cd=Cadmio; Cr=Cromo; Cu=Rame; Hg=Mercurio; Ni=Nichel; Pb=Piombo; V=Vanadio; Zn=Zinco) [Ns =differenza non significativa (P>0,05)].

<i>Sparus aurata</i>																	
Sorgenti di variazione	df	MS	As			Cd			Cr			Cu			Hg		
			F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	
Sito	1	0,029	0,798	0,381	1,267	41,451	0,000	1,629	47,502	0,000	0,071	13,194	0,001	0,065	62,037	0,000	
Taglia	3	0,042	1,163	0,345	0,459	15,019	0,000	0,048	1,399	0,267	0,045	8,311	0,001	0,059	56,204	0,000	
Sito x Taglia	3	0,340	9,426	0,000	0,512	16,761	0,000	0,041	1,199	0,331	0,047	8,809	0,000	0,041	39,346	0,000	
Residui	24	0,036			0,031			0,034			0,005			0,001			
Trasformazione				-			log			log			log			-	
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05			>0.05			>0.05	

continua

Sorgenti di variazione	df	MS	Ni			Pb			V			Zn		
			F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	
Sito	1	2,923	3,378	0,078	2,431	80,198	0,000	0,047	1,693	0,206	27,008	4,563	0,043	
Taglia	3	0,844	0,975	0,421	0,069	2,283	0,105	0,084	3,030	0,049	276,201	46,665	0,000	
Sito x Taglia	3	2,117	2,447	0,088	0,090	2,982	0,051	0,018	0,637	0,598	39,205	6,624	0,002	
Residui	24	0,865			0,030			0,028			5,919			
Trasformazione				-			log			log			-	
Test Cochran C				>0.05			>0.05			>0.05			>0.05	

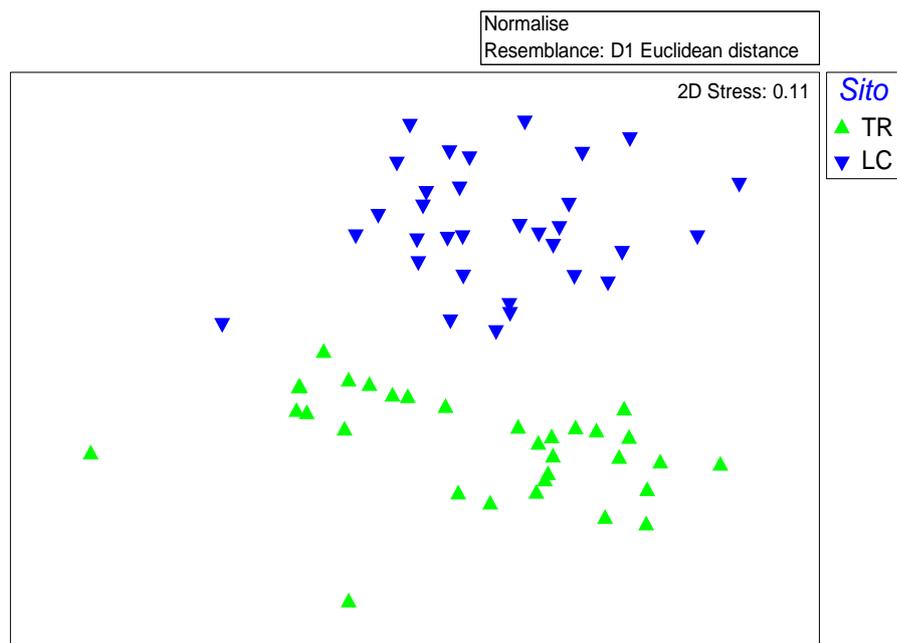


Fig. 62 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi alla composizione biochimica dei pesci in allevamento sulla base del fattore Sito. (TR = Trappeto; LC = Licata)

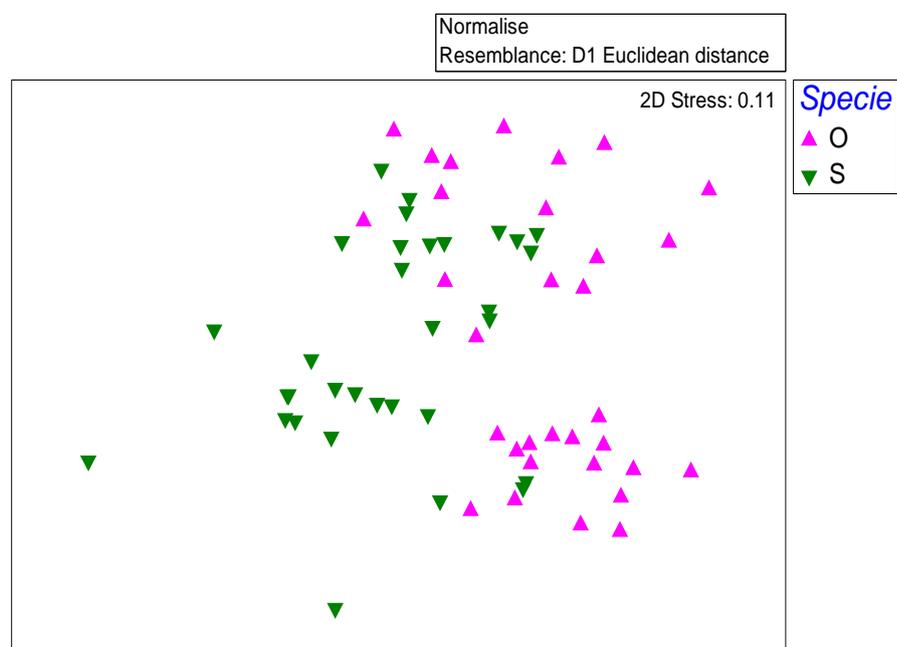


Fig. 63 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi alla composizione biochimica dei pesci in allevamento sulla base del fattore Specie. (O = orata; S = spigola)

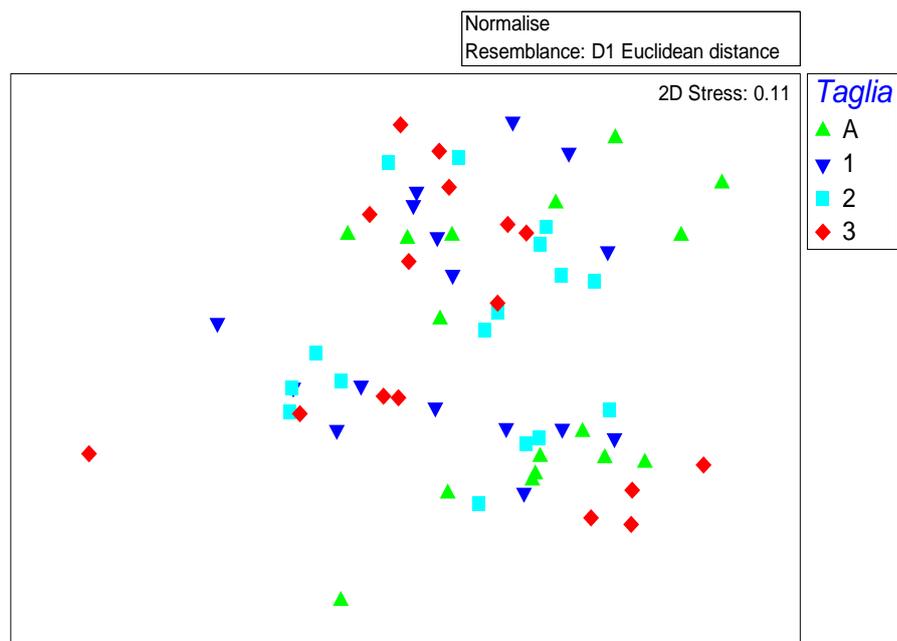


Fig. 64 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi alla composizione biochimica dei pesci in allevamento sulla base del fattore Taglia. (A = avannotti; 1 = taglia 1°; 2 = taglia 2°; 3 = taglia 3°).

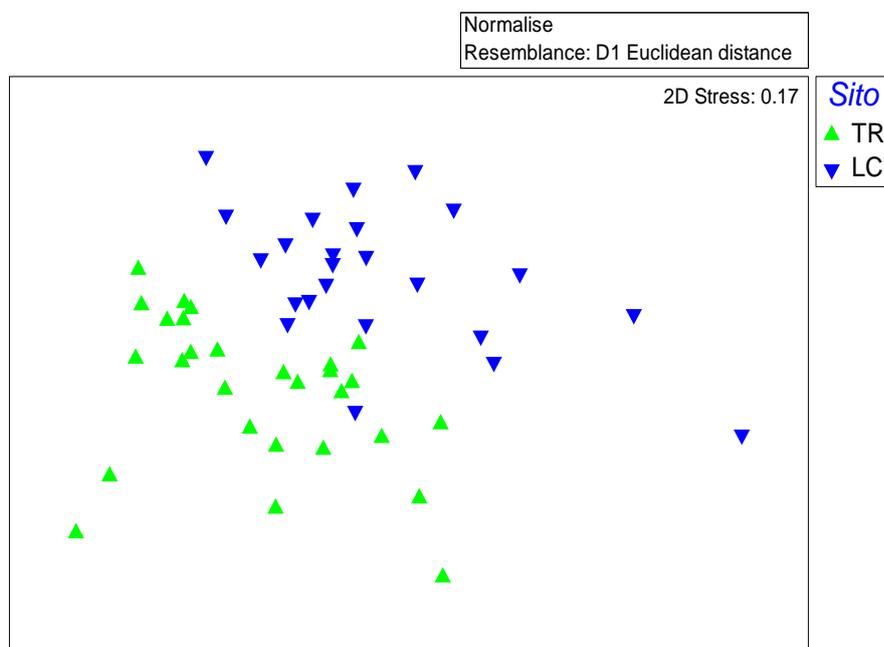


Fig. 65 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi al contenuto di metalli pesanti nei pesci allevati sulla base del fattore Sito. (TR = Trappeto; LC = Licata)

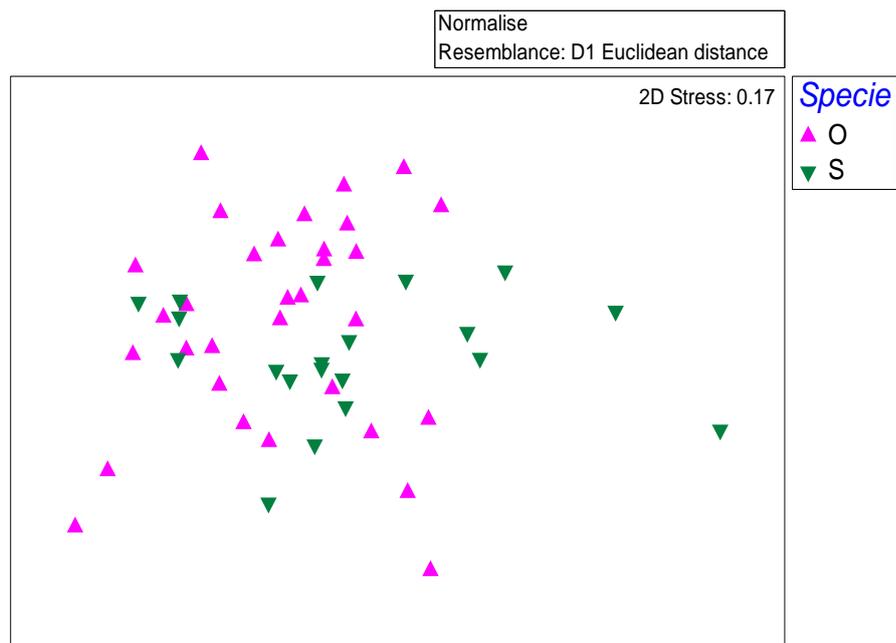


Fig. 66 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi al contenuto dei metalli pesanti nei pesci allevati sulla base del fattore Specie. (O = orata; S = spigola)

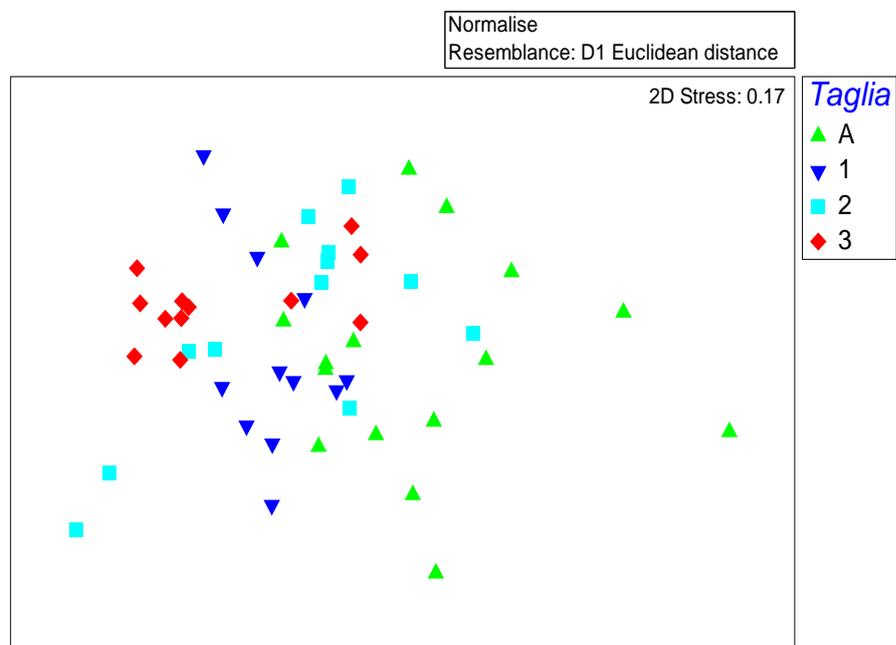


Fig. 67 Ordinamento nMDS basato sulle distanze euclidee normalizzate dei dati relativi al contenuto dei metalli pesanti sulla base del fattore Taglia. (A = avannotti; 1 = taglia 1°; 2 = taglia 2°; 3 = taglia 3°).

6 DISCUSSIONE

L'acquacoltura è uno dei settori potenzialmente più vitali del settore primario nazionale. Molteplici fattori hanno contribuito alla crescita di questo comparto, non ultimo lo sfruttamento di tecniche già collaudate nella zootecnia tradizionale, arricchita da una sperimentazione sempre più avanzata.

Lo sviluppo dell'attività di acquacoltura è stato accompagnato da una rapida evoluzione delle tecniche produttive, in special modo nei settori della riproduzione artificiale, della ittiopatologia, della mangimistica e della tecnologia di allevamento.

L'acquacoltura di acqua salata, associata a più di 300 imprese di allevamento, rappresenta circa il 90% della produzione nazionale di pesce di allevamento ed è una potenziale causa di impatto per l'ambiente circostante. Ne sono coinvolti comparti differenti degli ecosistemi quali la colonna d'acqua, i sedimenti, le comunità bentoniche ed ittiche, con manifestazioni di degrado che sono funzione dell'intensità delle attività di allevamento (Iwama, 1991; Black, 2001). In generale, l'impatto di un impianto dipende dalla sua dimensione produttiva, dalle tecniche di allevamento adottate e dalle caratteristiche funzionali degli ecosistemi interessati.

Le sostanze inquinanti sono rappresentate dal mangime non utilizzato, dai cataboliti e dalle feci degli organismi, dalle eventuali sostanze adoperate per le terapie, le profilassi e per combattere il *fouling*. I principali composti rilasciati contengono azoto e fosforo, nutrienti eutrofizzanti che possono provocare *bloom* algali, modificare il pH, ridurre l'ossigeno disciolto. Non è infrequente anche l'immissione di sostanze chimiche, tossiche e chemioterapiche che possono indurre alterazioni ed anomalie negli organismi marini.

Il comparto sedimentario è quello che più risente degli impatti perché l'accumulo della sostanza organica sui sedimenti superficiali provoca una riduzione del potenziale redox, un aumento dell'azoto organico ed inorganico con crescita incontrollata di alghe bentoniche, produzione di ceppi batterici resistenti agli antibiotici e, nei casi più gravi, produzione di gas come l'idrogeno solforato ed il metano.

Tra i descrittori da utilizzare per misurare le alterazioni ambientali sicuramente si propongono alcune variabili trofiche della matrice sedimentaria (concentrazione e composizione della materia organica del sedimento) che sono

ampiamente considerate indicatori importanti dello stato trofico (Fabiano e Danovaro, 1994), ed insieme costituiscono i fattori che maggiormente influenzano la struttura delle comunità bentoniche ed il loro metabolismo.

Inoltre, un sistema produttivo complesso, quale quello della maricoltura, deve anche assicurare un prodotto di qualità, in buona salute e sicuro da un punto di vista sanitario per il consumatore. Lo stato di salute, il benessere e l'efficienza di un qualunque organismo dipende dalla sua omeostasi ed implica una conversione ottimale dell'alimento, maggiori tassi di sopravvivenza ed una potenziata capacità immunitaria, con vantaggi sia ambientali, che in termini di qualità dei prodotti.

Il presente studio ha messo in evidenza l'influenza che un impianto di maricoltura può generare nel sito marino costiero in cui è collocato ed anche come la qualità ambientale dello stesso sito può influire a sua volta sul pesce allevato, sulla sua qualità in termini di caratteristiche nutrizionali, biochimiche e igienico sanitarie.

6.1 Caratterizzazione Ambientale

Utilizzando il sedimento, quale matrice recettrice, in entrambe le zone costiere interessate dalla presenza degli impianti di allevamento ittico, sono stati considerati diverse stazioni di campionamento, alcuni in prossimità degli impianti, altri un pò più distanziati da essi, avente funzione di controllo.

Per il sedimento sono stati considerati due diversi periodi di campionamento (tranne per i metalli) con l'obiettivo di evidenziare nel tempo eventuali variazioni dello stato trofico e quindi della distribuzione e della qualità della materia organica sedimentaria nell'area al di sotto delle gabbie ed in aree di controllo.

Lo studio dello stato trofico delle due aree è stato condotto attraverso l'uso di descrittori canonici in uso nella ricerca scientifica ecologica di base. Gli ambienti marini costieri sono caratterizzati dalla presenza di una grande variabilità del loro stato trofico, in particolare delle concentrazioni delle principali componenti organiche che fungono da nutrimento per quegli organismi che si ritrovano ai più bassi livelli della catena trofica. Negli ultimi anni grande importanza è stata data al valore nutrizionale della materia organica dei sedimenti valutando la sua composizione biochimica (Fabiano *et al.*, 1995). Per stabilire la qualità della materia organica sono stati usati nel

tempo vari strumenti analitici, come ad esempio l'analisi di alcuni *marker* biochimici quali lipidi, proteine e carboidrati totali (Pusceddu *et al.*, 1997), ma anche fitopigmenti (Parson *et al.*, 1985).

La materia organica prodotta tramite la fotosintesi (CPE) negli ambienti acquatici può rappresentare la principale fonte di cibo per le comunità bentoniche (McIntyre *et al.*, 1996). Come suggerito da Plante-Cuny (1974), la clorofilla-*a* è da considerarsi rappresentativa della frazione funzionale e, quindi, vivente nel microfitobenthos, mentre i feopigmenti rappresentano la frazione di pigmenti clorofilliani in decomposizione. Le misure di clorofilla-*a* e feopigmenti sono state ampiamente usate come traccianti della sedimentazione del fitodetrito (Tselepides *et al.*, 2000). Esse nei sedimenti forniscono importanti indicazioni sulla quantità di biomassa prodotta in seguito ai processi autotrofi e sul *pelagic-benthic coupling* dell'area. Clorofilla-*a* e feopigmenti, però, non permettono di quantificare la reale disponibilità di materia organica per i consumatori bentonici, né permettono di discriminare tra componente labile e refrattaria del detrito.

Le concentrazioni di clorofilla-*a* riscontrate nei sedimenti delle aree di studio (Trappeto e Licata) sono tipiche di aree meso-oligotrofiche (Dell'Anno *et al.*, 2002). Il contenuto di feopigmenti è, anch'esso, un buon descrittore della qualità ambientale, dal momento che i livelli di questa variabile rispondono alle diverse sorgenti di impatto antropogenico. Il rapporto tra clorofilla-*a* e feopigmenti in seno ai fitopigmenti totali può essere utilizzato come indicatore della frazione metabolicamente attiva della componente autotrofa (Plante-Cuny e Bodoy, 1987).

Le concentrazioni dei feopigmenti risultano maggiori di quelle della clorofilla-*a* in entrambe le aree di studio, indicando un accumulo di biomassa autotrofa microbentonica inattiva. Inoltre, valori bassi del rapporto clorofilla-*a*/feopigmenti possono essere il risultato di un incremento di torbidità, contaminazione chimica o qualsiasi altro fattore che abbia effetti potenziali sui processi fotosintetici (Bhadoria *et al.*, 1992; Porter *et al.*, 1999).

La composizione biochimica della materia organica sedimentaria è stata utilizzata per avere ulteriori informazioni sull'origine, qualità e utilizzo della materia in deposizione (Danovaro *et al.*, 1993; Fabiano *et al.*, 1995; Danovaro, 1996). La concentrazione delle proteine sedimentarie rappresenta la chiave per definire le caratteristiche trofiche di un sistema (Danovaro *et al.*, 1999). L'azoto

organico, infatti, è ampiamente considerato essere il maggior fattore limitante per i depositivori.

La composizione biochimica del detrito organico sedimentario, in entrambe le aree di studio, mostra un predominio della componente proteica rispetto alla componente glucidica e lipidica, caratteristica questa di aree produttive o interessate da attività antropiche (Fabiano *et al.*, 1995; Danovaro *et al.*, 1999).

Dal confronto temporale è possibile evidenziare a Trappeto, in corrispondenza del secondo periodo di campionamento, un aumento delle concentrazioni di lipidi, carboidrati e proteine sia nei sedimenti delle stazioni in prossimità delle gabbie, sia nei sedimenti delle stazioni controllo poste a monte ed a valle dell'impianto, suggerendo la presenza di correnti di direzione variabile. A Licata, al contrario, un incremento di queste variabili si osserva nei sedimenti delle stazioni al di sotto delle gabbie durante il primo periodo di campionamento. Questo coincide con il periodo estivo in cui il ridotto idrodinamismo presente all'interno dell'area portuale porterebbe ad un accumulo nello strato superficiale dei sedimenti di materiale rilasciato dall'impianto di allevamento.

I livelli del rapporto PRT/CHO indicano in entrambe le aree di studio accumulo di materiale proteico e, quindi, presenza di materia organica viva o detrito giovane (Danovaro *et al.*, 1993). A Trappeto, i valori di tale rapporto aumentano in corrispondenza del secondo tempo di campionamento e lungo il gradiente che va dalle stazioni in prossimità delle gabbie a quelle poste a valle, indicando un arricchimento organico legato alla presenza dell'impianto. A Licata, invece, l'incremento di tale indice si osserva per lo più in corrispondenza del primo periodo di campionamento e raggiunge un valore massimo nella stazione LC7 a Tempo 2, cioè in vicinanza dell'area costiera interessata dalla presenza della foce del fiume Salso, che nel periodo invernale determina una scarico a mare di detrito maggiore rispetto al periodo primaverile/estivo.

Questo rapporto varia tra valori che vanno dai più bassi di 0,1 in sedimenti oligotrofici di mare profondo (500-2400 m di profondità nella parte est del Mediterraneo (Danovaro *et al.*, 1993)) a valori più alti di 10 in sedimenti costieri antartici (Pusceddu *et al.*, 1997); quindi, è evidenziabile come i sedimenti di entrambi le aree costiere indagate si posizionano, nel loro valore PRT/CHO, in un livello intermedio rispetto agli esempi citati.

L'analisi della quantità e della qualità della materia organica sedimentaria ha messo in evidenza che entrambe le aree di studio sono interessate da alterazione, soprattutto il sito di Licata, riconducibile alla presenza degli

impianti di maricoltura. Nonostante la concentrazione della materia organica primaria sia molto bassa in entrambe le aree di studio (in termini di concentrazione di clorofilla-*a* sedimentaria), i livelli totali della frazione biopolimerica (C-BPF) subiscono un incremento legato alla permanenza dei pesci nelle gabbie (Pearson e Black, 2000).

Confrontando le due aree di studio, è possibile osservare nei sedimenti di Licata livelli totali maggiori delle variabili trofiche e biochimiche studiate. Tale fenomeno può essere giustificato dalla peculiarità dell'area in cui insiste l'impianto di Licata; l'area portuale, infatti, risentirebbe sia del suo confinamento spaziale, sia della limitata profondità dei suoi fondali (in media 10 m), favorendo, quindi, i processi di accumulo di materiale proveniente dall'impianto di allevamento; ciò è più evidente durante la stagione estiva, caratterizzata da un minore dinamismo delle acque. Consistenti accumuli di materia organica sono anche presenti nelle stazioni antistanti la foce del Salso.

Per entrambe le aree, infine, tali processi di accumulo sono interamente ascrivibili alla frazione proteica, di per sé dominante in seno alla materia organica sedimentaria di entrambe le aree, ma che subisce un incremento verosimilmente legato alla presenza dei reflui provenienti dagli impianti, per lo più costituiti da alimento non utilizzato e da rifiuti del metabolismo. Tale effetto, nell'area di Trappeto, continua ad evidenziarsi anche nei sedimenti delle stazioni poste, sia a monte che a valle, ad una distanza di 1000 m dall'area in cui si trovano le gabbie di stabulazione, indicando che le condizioni idrodinamiche dell'area si dimostrano, quindi, ottimali per il trasporto e la diluizione dei reflui.

Il rapporto RNA/DNA è un indice molto utilizzato in ecologia marina, proposto per la prima volta negli anni '60, come indicatore biochimico dello stato fisiologico-nutrizionale degli organismi acquatici nell'ambiente naturale (Holm-Hansen *et al.*, 1968) e da allora applicato con successo (Bulow, 1970; Berdalet *et al.*, 2005). Il rapporto RNA/DNA è stato usato in un ampio *range* di organismi marini: comunità microbiche (Dortch *et al.*, 1983), fitoplancton (Dortch *et al.*, 1983), zooplancton (Wagner *et al.*, 1998), larve, giovanili ed adulti di specie ittiche (Bulow, 1970, 1987; Thorpe *et al.*, 1982), bivalvi (Chícharo *et al.*, 2001), cefalopodi (Clarke *et al.*, 1989) e crostacei (Chícharo *et al.*, 2007).

La relazione tra il rapporto RNA/DNA e l'attività di una popolazione o di una comunità è stata discussa per diversi ambienti, come suoli (Hurt *et al.*, 2001; Schwarz *et al.*, 2006), sedimenti marini (Dell'Anno *et al.*, 1998) ed organismi, come batteri marini (Kerckhof *et al.*, 1993), nematodi (Ibiam e Grant, 2005) e

pesci (Tanaka *et al.*, 2007; Vinagre *et al.*, 2008). In tutti i casi, tale rapporto è stato utilizzato come indice del fattore di crescita o di una determinata funzione fisiologica.

Per le comunità di microrganismi del suolo esso indica l'intensità della sua attività metabolica, che può essere dipendente dai fattori ambientali più diversi (Eriksson *et al.*, 2001).

Nei sedimenti marini, il contenuto di DNA è correlato alla concentrazione di proteine e di fitopigmenti, mentre il contenuto di RNA è correlato alla sintesi proteica. Tale indice negli ultimi anni è stato utilizzato da vari autori anche come indicatore dell'impatto antropogenico di impianti di maricoltura. Un decremento del rapporto RNA/DNA nei sedimenti limitrofi agli impianti indica una situazione di alterazione ambientale e, quindi, un indice del livello di impatto di questa attività umana sull'ecosistema marino.

In altri casi, invece, la presenza di sedimenti non particolarmente ricchi di sostanza organica, ma caratterizzati da una maggiore attività di sintesi di RNA, potrebbe indicare una condizione di stress. Infatti, in condizioni sfavorevoli le comunità di microrganismi possono utilizzare in modo più rapido ed intenso le risorse energetiche disponibili.

Uno di questi fattori può essere la presenza di metalli pesanti a basse concentrazioni che altrimenti inibirebbero l'attività microbica (Khan *et al.*, 2000). Un fattore in grado di influenzare lo stato metabolico della microflora edafica di tali campioni potrebbe essere la presenza di contaminanti derivanti dalle attività antropiche che vi si svolgono (Chícharo e Chícharo, 2008).

Per quanto riguarda i sedimenti provenienti da Trappeto, i risultati mostrano valori prossimi all'unità del rapporto RNA/DNA nelle stazioni TR6 e TR7. E' noto che quando il valore del rapporto raggiunge l'unità, la popolazione microbica gode di "buona salute", mentre quando tale valore risulta inferiore all'unità, la comunità microbica risulta essere impattata. Le stazioni TR1, TR6 e TR7 sono quelle che si trovano a maggiore distanza dalle gabbie di allevamento e, dunque, tali stazioni non risultano essere impattate; nella stazione TR1 il valore è di gran lunga inferiore all'unità (0,378) e non vi sono differenze statisticamente significative tra questo e quelli trovati nella altre stazioni limitrofe alle gabbie (TR2, TR3, TR4, TR5). Tale differenza potrebbe essere attribuita ad un possibile trasporto e dunque accumulo di sostanza organica dalle gabbie di allevamento alla stazione TR1.

Nel sedimento proveniente da Licata, i risultati mostrano in tutte le stazioni, valori di gran lunga inferiori all'unità. Tali risultati indicano la presenza di comunità microbiche impattate in ogni stazione, sia all'interno del porto, sia all'esterno, che alla foce del fiume Salso. Inoltre, un maggiore impatto si verifica nella stazione all'uscita del porto, probabilmente per l'accumulo di sostanza organica derivante dall'impianto.

I valori relativi sia alla composizione isotopica del carbonio che dell'azoto nella materia organica sedimentaria rientrano nel *range* di dati presenti in letteratura per i sedimenti marini mediterranei (Vizzini e Mazzola, 2004, 2006) con alcune eccezioni relativi ad alcune stazioni di Licata.

Nell'impianto di Trappeto, le aree più distanti dalle gabbie hanno presentato valori comparabili con quelli della zona situata al centro dell'impianto, ed anche superiori, dimostrando il mancato accumulo di materia organica arricchita in ^{15}N nei pressi delle gabbie e, quindi, la modesta presenza di materiale proveniente dalle attività di allevamento. Le condizioni idrodinamiche dell'area si dimostrano, pertanto, ottimali per il trasporto e la diluizione dei reflui. Nell'impianto di Licata, invece, sussiste una notevole variabilità spaziale dei dati isotopici che testimonia consistenti accumuli di materia organica alloctona nelle stazioni antistanti la foce del Salso e all'interno del porto in cui è ubicato l'impianto di maricoltura, mentre la stazione al di fuori del porto, nel versante opposto rispetto allo sbocco fluviale, presenta sedimenti caratterizzati da materia organica di origine autoctona marina.

Per poter stabilire anche la qualità chimica del sedimento delle due aree di Trappeto e Licata, si è analizzato il contenuto di metalli pesanti, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, Pb, Hg, As e V. I metalli pesanti non sono biodegradabili (Moretti *et al.*, 1979); hanno la tendenza ad accumularsi nel suolo e, quindi, nella catena alimentare e possono avere effetti nocivi sugli esseri viventi anche a concentrazioni non elevate.

L'effetto tossico si sviluppa per il legame covalente, quindi abbastanza stabile, con gruppi reattivi delle molecole organiche: ossidrili (-OH), carbossili (COO-), fosforili (OPO₃H-), carbonili (=CO), sulfidrili (SH), amminici (NH₂), imminici (=NH), andando ad alterare il metabolismo per un'azione diretta sugli enzimi (Grandini, 1993). Il grado di assorbimento dei metalli pesanti dipende dalla "speciazione" del metallo: in generale, la forma ionica semplice è assorbita più rapidamente di quella complessata.

I metalli che vengono dispersi in ambiente marino si possono distribuire tra acqua, materiale sospeso, sedimento, acqua interstiziale. In questo modo possono interagire con gli organismi viventi ed attraverso la catena alimentare raggiungere l'uomo (Salomons *et al.*, 1987).

I metalli pesanti rappresentano, quindi, assieme a tutte le altre sostanze non degradabili, un problema grave di inquinamento ambientale e una seria minaccia per l'ambiente marino. Inoltre, concentrazioni più alte di queste sostanze tossiche si hanno in prossimità della costa, dove maggiormente sono presenti le attività industriali ed agricole, gli insediamenti urbani e i porti industriali e commerciali (Martella *et al.*, 1997)

Ad aggravare la situazione concorre il fatto che i sedimenti acquatici tendono ad essere contaminati da metalli pesanti perché questi, una volta adsorbiti od incorporati nel materiale particellato sospeso (biotico e/o abiotico), vengono trasferiti per sedimentazione sul fondo (Knight, 1984; Cairns *et al.*, 1984; Salomons *et al.*, 1987; Tessier e Campbell, 1987; Chapman, 1987). Inoltre, numerosi studi (Ciboroski e Corkum, 1988; Giesy *et al.*, 1988; Schloesser, 1988; Giesy e Hoke, 1989, 1990), hanno dimostrato che le sostanze inquinanti, come anche i metalli pesanti, depositati sui sedimenti possono facilmente interagire con i primi livelli delle catene trofiche e quindi contaminare l'intera catena alimentare.

I risultati ottenuti dai campioni di sedimento hanno evidenziato un maggior accumulo di tutti i metalli indagati a Licata rispetto Trappeto. Se confrontiamo i dati ottenuti nella matrice sedimento di Trappeto e Licata con i valori di riferimento *standard* dei sedimenti di "acque marino-costiere, lagune e stagni costieri" indicate dal Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio attraverso il Decreto Ministeriale n. 367 del 06.11.2003 (Tabella 26), risulta evidente come in nessun caso, tranne che l'As a Licata in entrambi i siti, i valori limiti vengano superati nei sedimenti analizzati. La NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*) degli Stati Uniti ha sviluppato un set di *standard quality guidelines* (SQGs) (Long *et al.*, 1995) costituiti da due valori: l'ER-L (*Effects Range Low*) e l'ER-M (*Effects Range Median*), i quali delineano tre *range* di concentrazione per ogni elemento chimico e ai quali corrispondono possibili effetti biologici negativi (Tabella 26). Una concentrazione al di sotto dell'ER-L rappresenta un "effetto minimo", cioè un livello al di sotto del quale gli effetti biologici sono raramente osservati. Concentrazioni uguali o maggiori a ER-L, ma minori di ER-M indicano un intervallo in cui gli effetti biologici si verificano

occasionalmente. Concentrazioni uguali o superiori a ER-M determinano un effetto biologico frequentemente (Casado-Martínez *et al.*, 2006).

Fra tutti i metalli indagati e confrontati con i limiti NOAA, si evidenzia come soltanto l'As a Licata supera nettamente il livello ER-L, ma rimane distante dal livello ER-M; a Trappeto l'As supera leggermente l'ER-L soltanto nel sito Far.

Questo risultato ci permette di dire che i livelli di As riscontrati a Licata possono evidentemente causare degli effetti negativi negli organismi acquatici.

Tab. 26 Sediment quality guidelines

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Hg	As	Autori
ER-L	1.2	81	34	20.9	46.7	150	0.15	8.2	NOAA
ER-M	9.6	370	270	51.6	218	410	0.71	70	
Decreto Ministeriale. 367/2003	0.3	50		30	30		0.3	12	

Nel confronto tra le 2 stazioni di campionamento, Far e Near, si è evidenziato un andamento opposto tra le due aree indagate: a Trappeto la stazione Far risulta essere maggiormente arricchita in metalli pesanti rispetto a Near, evidenziando come la presenza delle gabbie non influenzi in alcun modo il carico di questi elementi nel sedimento; al contrario, a Licata è la stazione più prossima alle gabbie di allevamento ad aver mostrato una maggiore concentrazione di metalli nei suoi sedimenti, indicando chiaramente un'influenza dell'impianto sulla qualità chimica della matrice abiotica presa in considerazione.

6.2 Caratteristiche dell'alimento somministrato

Oltre all'ambiente di allevamento, anche la scelta di un alimento sano e salubre concorre alla determinazione di un prodotto di qualità. All'alimentazione concorrono sostanzialmente tre condizioni: qualità del mangime, quantità somministrate e modalità di somministrazione.

Per quanto riguarda la qualità del mangime, nei grossi impianti di maricoltura intensiva vengono impiegati esclusivamente mangimi prodotti da industrie specializzate, caratterizzati da formulazioni specifiche per ogni specie, per ogni

fase di sviluppo e con composizione certificata. I mangimi disponibili sul mercato rispondono in sostanza alle esigenze, ovvero ai bisogni alimentari, delle diverse specie nelle varie fasi di accrescimento, per formulazione, caratteristiche proprie legate ai metodi di produzione e dimensioni dei grani. La scelta della strategia alimentare da adottare negli allevamenti intensivi è di assoluta importanza ai fini produttivi, essendo in grado di condizionare la resa produttiva e la qualità del pesce sia in senso positivo che negativo.

Oltre a soddisfare i fabbisogni nutrizionali delle specie allevate, il mangime deve anche rispondere a determinati criteri quali, ad esempio, quello del minor inquinamento possibile.

Allo stato attuale, il mangime maggiormente utilizzato negli allevamenti intensivi di spigole e orate è l'estruso. Tale tipologia di mangime è di nuova concezione ed è frutto di innovazione tecnologica. Esso risponde ai requisiti di sostenibilità ambientale, digeribilità e concentrazione nutritiva, elevato grado di appetibilità, stabilità nel mezzo acquatico e lento affondamento. L'alimentazione delle specie ittiche è regolata in modo rigoroso da precisi protocolli d'intesa sottoscritti con le aziende mangimistiche e prevede l'impiego nei mangimi di materie prime derivate da alimenti naturali. I mangimi utilizzati nelle pratiche di allevamento sono composti principalmente da farina di pesce e olio di pesce: è bene precisare che non si tratta di sottoprodotti, ma di pesce fresco di basso pregio commerciale. Inoltre, negli alimenti somministrati sono presenti, in percentuale minore, farine vegetali di provenienza sicura (non OGM) e come leganti amidi derivati dal frumento. Va comunque precisato che nella formulazione di mangimi destinati all'acquacoltura non vengono utilizzate farine di carne per questioni etiche.

Gli attuali sviluppi nel settore della produzione di mangimi in acquacoltura stanno cercando di sostituire le proteine animali (soprattutto farina di pesce) da materiale alternativo come vegetale terrestre, resa di prodotti animali terrestri, krill, frutti di mare (Brinker *et al.*, 2011). La Decisione 2000/766 del Consiglio Comunitario del 4 dicembre 2000 ha vietato per l'alimentazione di tutti gli animali d'allevamento, e quindi anche per i pesci, l'uso di tali farine, compresa la farina di pesce; successivamente, una nuova Decisione del Consiglio Comunitario (29 dicembre 2000) ha autorizzato l'uso della farina di pesce per l'alimentazione dei pesci allevati e di altri animali diversi dai ruminanti.

Nel cercare di formulare composizioni alternative di mangimi è necessario considerare gli aminoacidi essenziali e controllare il contenuto di carboidrati,

almeno in zuccheri semplici, al fine di prevenire la glicemia nei pesci allevati (Wilson, 1994). E' anche importante evitare anti-nutrienti che possono compromettere la digestione o l'utilizzo dei nutrienti o, comunque, compromettere la salute e il benessere dei pesci (Francis *et al.*, 2001). Esistono in letteratura numerosi lavori che documentano gli effetti del regime alimentare sulla composizione corporea delle forme giovanili e degli adulti di differenti specie di pesci (Cui e Wootton, 1988; Mathers *et al.*, 1993; Koskela *et al.*, 1997a; 1997b).

I fabbisogni in proteine della maggior parte dei pesci di allevamento appaiono piuttosto elevati, variando dal 30 al 55% della dieta (Tacon e Cowey, 1985; Bowen, 1987; Wilson, 1989), percentuali da 2 a 4 volte superiori rispetto a quelle che caratterizzano le diete per gli altri vertebrati di interesse zoeconomico (Wilson, 1994).

Le stesse fonti riportano che, nonostante i continui miglioramenti degli indici di conversione in acquacoltura e le attese riduzioni della quota di farina di pesce impiegata nella formulazione dei mangimi (a seguito della sempre migliore conoscenza dei fabbisogni nutrizionali dei pesci allevati), nonché della parziale sostituzione delle farine stesse con altri ingredienti, la domanda complessiva di queste è destinata ad aumentare. Fonti di proteine vegetali con un basso grado di lavorazione sono meno costosi e facilmente reperibili, ma il loro uso per i pesci carnivori è limitato per la presenza di amido e carboidrati strutturali e una vasta gamma di fattori antinutrizionali, che possono produrre danni istopatologici nel tratto gastrointestinale (Baeverfjord *et al.*, 1996; Krogdahl *et al.*, 2003), oltre a ridurre la digeribilità dei nutrienti e la *performance* di crescita (Øverland *et al.*, 2009). Tra le fonti di proteine vegetali i piselli hanno dimostrato di essere una buona fonte proteica per il salmone atlantico (Aslaksen *et al.*, 2007), trota iridea (Thiessen *et al.*, 2003) e spigola europea (Gouveia *et al.*, 1998, 2000); nonostante abbiano un contenuto minore di proteine rispetto ad altre fonti proteiche contengono meno sostanze antinutrizionali e meno carboidrati strutturali (Bach-Knudsen, 1997; Francis *et al.*, 2001).

La percentuale di lipidi nei mangimi attualmente utilizzati in Italia può variare tra il 16% ed il 26%; tuttavia, valori lipidici troppo elevati possono rendere il mangime poco appetibile, causando un elevato accumulo di grassi nel pesce, tanto da abbassarne il gradimento da parte del consumatore finale.

Nel nostro studio è stata fatta l'analisi delle concentrazioni delle varie componenti biochimiche sulle tre pezzature di mangime provenienti dai due

impianti, Trappeto e Licata: il contenuto percentuale maggiore sia di proteine che di lipidi è risultato in P1 e P2. Ciò evidenzia come il maggior supporto in proteine e in lipidi viene fornito nei primi stadi della crescita degli organismi allevati, con i valori ottimali per non rendere i pesci troppo ricchi di grassi.

I lipidi nei mangimi di Licata ha mostrato valori simili a quanto riscontrati in quelli di Trappeto.

Alcuni studi hanno evidenziato come livelli crescenti di lipidi nei mangimi possano avere un approccio efficace per migliorare l'efficienza alimentare e l'utilizzo delle proteine, diminuendo le uscite di N sotto forma di prodotti di scarto, diminuendo così i costi dei mangimi soprattutto per i pesci carnivori (Lopez *et al.*, 2006).

I glucidi hanno mostrato valori stabili simili in tutti i mangimi di Trappeto, evidenziando un *input* omogeneo nelle diverse taglie.

Quella di incrementare quantità adeguate di lipidi nella dieta del pesce è una strategia per ridurre le inclusioni di proteine senza compromettere la crescita delle specie allevate (Sargent *et al.*, 2002; Ai *et al.*, 2004). Altri autori, invece, hanno riferito che alti livelli di lipidi nelle diete potrebbero deprimere la crescita di alcune specie di pesci (Espinosa *et al.*, 2003, Pei *et al.*, 2004; Due *et al.*, 2005), in quanto potrebbero limitare la capacità di digerire e di assorbire i lipidi stessi che tenderebbero ad accumularsi nel fegato e negli organi viscerali, creando squilibri metabolici (Luo *et al.*, 2005). Dal lavoro di Lopez *et al.* (2006) si deduce che i valori ottimali del contenuto in percentuale di lipidi per una crescita massima degli avannotti di spigola è tra 15% e il 18%. Questi risultati sono simili ai risultati riportati per tante specie allevate di pesci marini, tra cui lo scorfano nero, rosso, la spigola e l'orata asiatica in alcuni lavori che hanno dimostrato che il livello migliore dei lipidi è di 17% nei pesci nutriti con mangimi contenenti dal 30% al 50% di protidi (Takeuchi *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2003). I nostri dati si discostano da quelli pubblicati da questi autori, soprattutto per un livello maggiore di protidi in tutti i mangimi analizzati, provenienti sia da Licata che da Trappeto, evidenziando un surplus proteico ai pesci allevati.

La differenza maggiore riscontrata tra i mangimi di Trappeto e quelli di Licata ha riguardato la concentrazione di glucidi, con percentuali maggiori in P1 e P2. Tali valori dei glucidi fanno pensare che, nonostante gli ingredienti costituenti i mangimi di Trappeto e di Licata siano gli stessi, la composizione percentuale fine può variare in modo abbastanza evidente, determinando, pertanto,

differenze qualitative degli stessi. E' possibile che nei mangimi di Licata si trovino maggiori concentrazioni di farine di origine vegetali, anch'esse di elevato valore nutrizionale, ma più ricche in carboidrati strutturali.

I valori relativi alla composizione isotopica del carbonio e dell'azoto dei mangimi utilizzati nei due impianti di Trappeto e Licata sono prossimi ai *range* riportati in altri studi svolti in Sicilia ($\delta^{13}\text{C}$ da -21,7 a -23,9 ‰; $\delta^{15}\text{N}$ da 6,5 a 10,7‰, Sarà *et al.*, 2004). All'interno di ogni singolo impianto, le diverse pezzature hanno mostrato valori tra loro comparabili.

L'analisi dei metalli pesanti (Cd, Pb, Cr, Cu, Zn, Ni, Hg, As e V) nei mangimi provenienti dagli impianti di maricoltura di Trappeto e di Licata hanno mostrato dei risultati eterogenei.

I mangimi completi possono presentare il problema della eventuale contaminazione sia da prodotti clorurati organici a lunga persistenza che da metalli pesanti. A seconda del mare di provenienza, i pesci utilizzati per le farine che entrano a far parte della composizione dei mangimi, possono essere più o meno contaminate da questi prodotti: le concentrazioni più elevate si rilevano nel Mar Baltico e, seppure in misura inferiore, nel Mare del Nord. Il Decreto n° 317 del 23 dicembre 2002 stabilisce le concentrazioni massime (arsenico 4 ppm, cadmio 0,5 ppm, mercurio 0,1 ppm e piombo 5 ppm) ammesse nel mangime completo, al fine di garantire che nel pesce destinato all'alimentazione umana l'eventuale presenza di tali sostanze sia contenuta entro i limiti definiti dal Regolamento CE n° 466/2001 e, sicuramente, accettabili sul piano tossicologico e della tutela della salute del consumatore.

La presenza di residui di metalli nei mangimi completi per i pesci è oggetto dei sistemi di allerta comunitari denominati *Rapid Alert System for Food and Feed* (RASFF), nati in seguito alle disposizioni del Regolamento CE 178/2002 del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e requisiti generali della legislazione alimentare e istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, fissandone le procedure. Un esempio dell'applicazione di tale sistema è quello relativo alla presenza di arsenico superiore ai limiti previsti, segnalata nei mangimi completi per pesci provenienti dalla Danimarca e notificata dalla Germania nell'agosto 2003, con conseguente ritiro dal mercato europeo della partita oggetto di contaminazione (Abete *et al.*, 2004).

I livelli di Cd, Cr, Cu, Zn e Hg sono risultati maggiore nei mangimi provenienti dall'impianto di Trappeto, mentre il Ni e il V sono più alti in quello proveniente da Licata. Nel confronto con i limiti consentiti dalla legge identificati, però,

soltanto per l'As, il Cd, il Pb e il Hg, si evidenzia come soltanto il Hg di Trappeto superi il valore consentito di 0,1 ppm.

Il Piano Nazionale di Vigilanza e Controllo Sanitario sull'Alimentazione degli animali indica in 3 ppm il limite massimo tollerabile di Cr totale nel mangime (Abete *et al.*, 2004), valore superato nel mangime di Trappeto P1 e P3. Confrontando i dati con quelli pubblicati da Abete *et al.* (2004), l'As è in tutti i casi minore, il Cd è risultato all'interno dello stesso *range* di concentrazione, il Cr e il Hg rinvenuti nel mangime di Trappeto sono in concentrazione maggiore, mentre quello del mangime di Licata sono simili ai valori riportati dagli autori e, infine, il Pb risulta essere dello stesso ordine di concentrazione.

In generale, seppur soltanto il Cr e il Hg sembrano raggiungere livelli non consentiti, risulta chiaro come la differenza di concentrazione di quasi tutti i metalli riscontrate tra i mangimi provenienti dall'impianto ittico di Trappeto e quelli provenienti dall'ittica San Giorgio di Licata, possa indurre a definire il mangime di Trappeto "contaminato" e, pertanto, diventerebbe a questo punto interessante estendere la ricerca di tali contaminanti involontari alle materie prime, sia di natura ittica che vegetale, allo scopo di stabilire l'effettivo apporto di questi metalli al prodotto finito.

E' noto come l'effetto di tali contaminanti in piccole dosi provochi uno stato di intossicazione subcronica che induce una riduzione dell'attività del sistema immunocompetente dei pesci, favorendo l'insorgenza di patologie secondarie che possono portare mortalità. Inoltre, la presenza di tracce di questi metalli, che alterano in parte le attività metaboliche normali, contribuisce ad un peggioramento delle condizioni di vita in cattività, gravando sul benessere del pesce (Abete *et al.*, 2004).

6.3 Qualità del prodotto di allevamento

La gestione degli aspetti qualitativi e della salute dei pesci allevati rappresenta un punto fondamentale in acquacoltura.

Il controllo ed il miglioramento della qualità del prodotto ittico, oggetto di crescente interesse da parte di produttori e consumatori, costituiscono una tematica chiave su cui devono convergere le ricerche mirate allo sfruttamento delle risorse e fornire sul mercato prodotti certificati dal punto di vista igienico-sanitario.

Le specie maggiormente allevate negli impianti di maricoltura esistenti in Sicilia sono il *Dicentrarchus labrax* e lo *Sparus aurata*: la larga diffusione di queste specie è legata alla relativa facilità di allevamento ed al gran numero di informazioni disponibili, rispetto a specie più pregiate.

Uno studio sulla qualità dei prodotti ittici non può prescindere dall'analisi dei principali costituenti chimici che rientrano nella loro composizione.

In questa ricerca è stata fatta un'analisi quantitativa delle variabili biochimiche del tessuto edibile di esemplari di *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* allevati nei due impianti di maricoltura di Trappeto e Licata: materia organica, lipidi, protidi e glucidi, al fine di poter evidenziare una eventuale differenza tra le diverse specie, le diverse classi di taglia (avannotti, 1°, 2° e 3°) e sulla base della provenienza.

Il profilo nutrizionale dei pesci è definito principalmente dai macronutrienti contenuti nelle loro carni, come lipidi, proteine e glucidi. Queste componenti sono soggette a variazione dovute alla disponibilità e composizione dell'alimento, all'attività natatoria e alle variazioni metaboliche tipiche dei pesci durante il loro periodo riproduttivo (Ackman, 1995)

Fra i componenti che determinano la composizione grezza dei pesci, il tenore proteico delle carni è abbastanza costante (18-22%) e il tenore glucidico è bassissimo, per cui la componente lipidica, che è la più variabile ed ha il più elevato contenuto energetico, si rivela decisiva nello stabilire l'apporto calorico delle carni ed è una componente che contribuisce significativamente ad influenzare le caratteristiche organolettiche (Ackman, 1995; Orban *et al.*, 1998; Poli *et al.*, 1998, 2001).

Il contenuto percentuale proteico delle orate di Trappeto ha evidenziato livelli confrontabili tra loro tranne per le orate di taglia 3° che risultano avere minore concentrazioni in protidi, ma tutte e quattro le taglie presentano dei valori (media 10,55±3%) che si discostano da quelli riscontrati in letteratura (Gricorakis *et al.*, 2002, 2007); i valori protidici in questo studio risultano, infatti, più bassi rispetto alle orate provenienti da altri impianti e alle orate selvatiche. Le spigole di Trappeto rispetto alle orate dello stesso impianto, hanno mostrato valori pari al doppio (media 21±5%), con un andamento crescente all'aumentare della taglia, e sono confrontabili con valori riscontrati in letteratura (Kyraña *et al.*, 1997; Kyraña e Lougovois, 2002; Poli *et al.*, 1999; 2001; Alasalvar *et al.*, 2001; Papadopoulos *et al.*, 2003; INRAN, 2005), oltre ad essere superiore ai valori riscontrati nel pesce selvatico (Alasalvar *et al.*, 2002).

Le percentuali dei lipidi nelle quattro taglie di orate di Trappeto hanno valori molto simili tra loro (media $2,8\pm 0,1\%$), con livelli maggiori rispetto all'orata selvatica, ma meno elevati delle concentrazioni riscontrate in altri impianti (Gricorakis *et al.*, 2002).

Nelle spigole di Trappeto i valori dei lipidi aumentano dell'1% rispetto alle orate ma rimangono più bassi dei valori di concentrazione di spigole allevate in Mediterraneo (Alasalvar *et al.*, 2002; Gricorakis *et al.*, 2002, 2004; Kyrana e Lougovois, 2002; Flos *et al.*, 2002). E' noto che le concentrazioni dei lipidi nella porzione edule dei pesci possono subire variazioni stagionali, dovute ai cambiamenti della temperatura e ai cicli biologici (Gricorakis *et al.*, 2002), inoltre la maggiore disponibilità di alimento e l'approssimarsi del periodo riproduttivo determinano un maggiore accumulo di lipidi rispetto al periodo di riproduzione (Ackman, 1995).

Inoltre, è riportato che il contenuto lipidico totale nei pesci può aumentare all'aumentare della taglia (Kießling *et al.*, 1991, 2001), mentre nelle specie allevate il contenuto lipidico non subisce grandi variazioni, in quanto il mangime è costante nella composizione e nella disponibilità (Abrami *et al.*, 1992; Delgado *et al.*, 1994; Krajnovic-Ozretic *et al.*, 1994; Alasalvar *et al.*, 2001). Nei pesci di Trappeto i glucidi hanno rivelato basse concentrazioni, sia nel muscolo delle orate ($0,39\pm 0,04\%$) che in quello delle spigole ($0,52\pm 0,23\%$).

Il contenuto percentuale proteico delle orate di Licata ha mostrato un comportamento eterogeneo: tra le quattro taglie considerate il livello proteico più basso si riscontra negli avannotti ($10,7\pm 1,6\%$); nelle spigole di Trappeto, al contrario, il valore più elevato dei protidi si ha proprio negli avannotti ($21,85\pm 2,3\%$) e tale valore si va abbassando durante l'accrescimento fino alla spigola di taglia 2° e taglia 3°. Tali valori sono comunque risultati inferiori a quelli trovati nelle spigole adulte allevate in Grecia e nelle spigole selvatiche ($20,7\pm 1,0\%$ nel coltivato e $19,2\pm 0,7\%$ nel selvatico) (Alasalvar *et al.*, 2002).

A Licata, le percentuali dei lipidi nelle spigole si discostano di poco da quelle delle orate, con un accumulo maggiore dello 0,7%, ma rimangono più bassi dei valori riscontrati nelle spigole allevate in Grecia (Alasalvar *et al.*, 2002).

Nei pesci di Licata si notano concentrazioni glucidiche più elevate ($2,11\pm 0,33\%$), rispetto a quelli di Trappeto ($0,45\pm 0,17\%$): questo sicuramente è da attribuire alla dieta utilizzata in tale impianto che ha mostrato un maggiore arricchimento in carboidrati. Anche se i carboidrati sono la fonte di energia più economica, la maggior parte dei teleostei non tollerano alti livelli di carboidrati nella dieta

(Enes *et al.*, 2006); sono, infatti, più adattati, sia a livello digestivo che metabolico, ad utilizzare proteine e lipidi come fonte di energia. Generalmente, si ritiene che il livello ottimale di carboidrati digeribili è inferiore al 20% per i pesci carnivori, ma molto più elevata (30-40%) per pesci onnivori (Wilson, 1994). Per la spigola europea, esistono prove che un inserimento nella dieta del 20-25% di carboidrati digeribili non influenza né l'efficienza di alimentazione né la crescita (Gouveia *et al.*, 1995;. Lanari *et al.*, 1999;. Peres e Oliva-Teles, 2002).

I pesci allevati sono stati analizzati anche per determinarne la composizione isotopica in carbonio e azoto. La tecnica degli isotopi stabili viene utilizzata per determinare il livello trofico e le fonti di materia organica utilizzate da un organismo, dato che la composizione isotopica di un consumatore riflette quella della sua dieta più un arricchimento di circa 1‰ per il $\delta^{13}\text{C}$ (Fry e Sherr, 1984; Michener e Schell, 1994) e di circa 3,5‰ per il $\delta^{15}\text{N}$ (Minagawa e Wada, 1984; Michener e Schell, 1994). La composizione isotopica in carbonio e azoto delle orate e delle spigole allevate ha mostrato risultati coerenti nei due impianti. I pesci analizzati hanno mostrato una composizione isotopica compatibile con una dieta basata sui mangimi forniti ($\Delta\delta^{13}\text{C}=2,0\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N}=2,8\text{‰}$ a Trappeto e $\Delta\delta^{13}\text{C}=1,6\text{‰}$; $\Delta\delta^{15}\text{N}=3,9\text{‰}$ a Licata), evidenziando chiaramente l'assimilazione del mangime fornito.

Le concentrazioni di Cd, Cr, Cu, Zn, Ni, Pb, Hg, As e V sono state determinate nel tessuto muscolare di esemplari di *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*, di diverse classi di taglia, allevati nei due impianti di Trappeto e Licata. Il fine ultimo è quello di valutare il contenuto di metalli pesanti nel pesce allevato, per poterne definire la qualità chimica.

Il Regolamento (CE) N. 466/2001 della Commissione dell'8 marzo 2001 definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle parti commestibili delle derrate alimentari e sono pari a: 0,5 mg/kg p.f. per l'orata e di 1 mg/kg p.f. per la spigola di Hg, 0,2 mg/kg p.f. per il Pb e 0,05 mg/kg p.f. per il Cd. Nel paragonare questi limiti ai dati riscontrati nei pesci degli impianti di Trappeto e Licata, è possibile evidenziare l'assenza di contaminazione da Hg, Pb e Cd, seppur il confronto è tra peso fresco e peso secco.

E' noto che le caratteristiche chimiche dell'acqua (pH, torbidità, carbonio organico disciolto), così come le variabili biotiche, includendo l'età, la composizione della dieta e il metabolismo, influenzino l'accumulo di Hg nei pesci (Zhou e Wong, 2000); pertanto le caratteristiche chimico-fisiche delle acque del sito di allevamento e le condizioni fisiologiche dei pesci di allevamento non

determina un accumulo di mercurio in questi esemplari. L'osservazione di diverse specie marine indica che la concentrazione di Hg nei tessuti incrementa all'aumentare dell'età e, quindi, della taglia del pesce (Boening, 2000; Kraepiel *et al.*, 2003; Porvari, 1995). Questa evidenza non è stata riscontrata nei campioni di pesce allevato, nei quali il Hg sembra risultare, soprattutto a Trappeto, maggiormente concentrato negli avannotti e va diminuendo all'aumentare della classe di taglia, probabilmente a causa del maggiore contenuto di questo elemento nel mangime P1, che appunto viene somministrato agli avannotti, mangime che mostra un contenuto minore di Hg all'aumentare della pezzatura. Negli avannotti delle orate e delle spigole, sia di Licata che di Trappeto, sono stati riscontrati, oltre che per il Hg, anche livelli maggiori di Cr, Zn, Cd, oltre che di Ni solo nelle spigole, rispetto alle taglie maggiori. Ciò è probabilmente dovuta alla differente efficienza metabolica dei pesci in relazione alla taglia in quanto la relazione tra metabolismo, R, e peso del pesce (W) è descritta dalla funzione: $R = a * W^b$, dove a e b sono costanti e il valore dell'esponente b è generalmente minore di 1, indicando che il tasso relativo di metabolismo, R/W, diminuisce all'aumentare della taglia del pesce (Glass, 1969; Brett e Groves, 1979). Quindi, i pesci più giovani, avendo un ritmo metabolico più alto rispetto agli adulti, presentano una capacità di sintesi e quindi di bioaccumulo maggiore.

Le concentrazioni di Cd e Zn nella spigole e nell'orata, in entrambi gli impianti, risulta minore di quanto riportato da Dural *et al.* (2006) per esemplari selvatici della stessa specie.

Secondo Carpenè *et al.* (1997), i pesci allevati in intensivo, presentano un diverso accrescimento in dipendenza della concentrazione dei metalli nella dieta, soprattutto per quanto riguarda lo Zn e il Cu, oligoelementi essenziali. Secondo questi autori, le differenze tissutali di Zn e Cu riscontrate in esemplari di *Sparus aurata* non sono dovute a fenomeni di accumulo assimilabili a quelli normalmente riscontrati per i metalli pesanti tossici (per es. Cd e Hg), probabilmente perché sistemi di omeostasi alquanto efficienti riescono, entro un certo limite, a controllare i livelli di tali elementi nelle matrici biologiche. Ciò giustificherebbe i livelli simili ed omogenei riscontrati, sia per il Cu che per lo Zn, in entrambe le specie campionate, in entrambi gli impianti e in tutte le classi di taglia.

Secondo Alasalvar *et al.* (2002), la composizione di elementi in tracce, così come in lipidi totali e in acidi grassi diversa tra le spigole allevate e quelle selvatiche sono da imputare alla diversa alimentazione. Questi autori trovano livelli di V

nel *Dicentrarchus labrax* selvatico simile a quanto ritrovato nella stessa specie proveniente da Trappeto e Licata; inoltre questo elemento nei pesci allevati in Grecia era maggiore rispetto ai selvatici. Il Cu e lo Zn dei pesci degli impianti siciliani è risultato minore rispetto ai selvatici in Grecia, che a loro volta erano minori degli allevati. Il Pb delle spigole provenienti da Trappeto è risultato maggiore rispetto alla stessa specie allevata a Licata, anche se tali valori risultano comunque al di sotto di quanto riscontrato da Alasalvar *et al.* (2002), come pure il Cd, sia per gli organismi allevati che per i selvatici; al contrario del Cr che è risultato maggiore nelle spigole siciliane; il Ni dei pesci di Trappeto e Licata, infine, è simile ai selvatici greci.

Il Cd, il Cu, il Pb e lo Zn nella spigola dei due impianti campionati sono risultati minori a quanto ritrovato da Dugo *et al.* (2002) nella stessa specie allevata in gabbia, indicando come questi pesci siano una risorsa alimentare di buona qualità per i micronutrienti essenziali (Cu, Zn) e per la bassa concentrazione di Cd e Pb.

I livelli di metalli pesanti nel tessuto muscolare di *Sparus aurata* allevati nei due impianti di Trappeto e di Licata hanno mostrato un livello di Cd, Pb, Zn e Cr minori, di Ni simile e di Cu maggiori rispetto a quanto riportato da Uluozlu *et al.* (2007) in esemplari selvatici pescati nel Mar Egeo.

7 CONCLUSIONE

Il quadro attuale del settore delle produzioni ittiche da acquacoltura delinea una nuova fase che dovrà confrontarsi non più, o meglio non solo, con i problemi legati alla sola competitività aziendale, ma dovrà misurarsi con sistemi produttivi in grado di garantire la “qualità totale”. Tale principio deve essere inteso nel senso più ampio, con implicazioni che riguardano il processo produttivo, le materie prime utilizzate, l’igiene e la sicurezza d’uso del prodotto e le interazioni con l’ambiente.

Vanno promossi sistemi produttivi in grado di garantire le esigenze dei consumatori e migliorare la capacità competitiva complessiva del settore, basandola su una strategia di qualità del prodotto e dell’ambiente.

La qualità totale del prodotto ittico va intesa come il complesso delle caratteristiche che soddisfano le esigenze alimentari, salutiste, edoniste e di comodità d’uso dell’acquirente-consumatore rinvenute nel prodotto ottenuto mediante una corretta gestione del rilevamento e della filiera, nel rispetto del lavoro, della sostenibilità dell’ambiente e del benessere animale.

In definitiva, nella filiera, hanno rilievo fondamentale:

- l’igiene e la qualità dei prodotti di allevamento (sistema igiene e qualità);
- la costanza della qualità del processo produttivo (sistema dei controlli);
- le informazioni e le garanzie (sistema di tracciabilità);
- l’impatto ambientale (sistema ambiente).

Può essere utile, anche, studiare il passaggio dei contaminanti nella catena alimentare, intesa come materia prima/mangime/prodotto ittico, per valutare sia l’impatto della contaminazione sul pesce come alimento (sicurezza alimentare), sia l’influenza di tali metalli sulle condizioni di vita del pesce stesso (benessere animale).

In merito alla sostenibilità ambientale, l’acquacoltura si dovrà basare su principi che riguardano l’ottimizzazione delle *performance* di crescita del prodotto in relazione alla qualità del suo ambiente di allevamento e nel contempo dovrà rassicurare i consumatori sulla qualità del prodotto ottenuto con la possibilità di certificare tutta la filiera, anche per gli aspetti che riguardano gli effetti che gli allevamenti provocano nell’area circostante.

Questo studio basato sull'analisi di diverse variabili e sul confronto tra due diversi ambienti, fornisce un utile apporto alla valutazione degli impatti e al controllo della qualità del prodotto.

L'innovazione apportata dalla presente ricerca sta nell'approccio congiunto della valutazione degli effetti di un impianto di allevamento di tipo intensivo sull'ambiente circostante e della qualità stessa (chimica, nutrizionale, ambientale) del prodotto commercializzato, al fine di raggiungere quelle garanzie necessarie alle esigenze dei consumatori e migliorare la capacità competitiva complessiva del settore.

In particolare, l'analisi delle variazioni di $\delta^{15}\text{N}$, del rapporto proteine/carboidrati, del rapporto RNA/DNA del sedimento, ha descritto in maniera accurata il *pattern* di distribuzione della materia organica sedimentaria in funzione della distanza dall'area direttamente interessata dalle emissioni organiche dell'allevamento ittico e l'arricchimento organico che si è verificato nell'area di studio.

Le analisi biochimiche, in termini quantitativi di lipidi, protidi e glucidi, hanno permesso di descrivere le qualità nutrizionali e organolettiche delle specie ittiche allevate e la diluizione spaziale delle emissioni organiche provenienti dagli impianti stessi.

La maggiore concentrazione di quasi tutti i metalli (Cd, Cr, Cu, Zn, Hg, As, V e Pb) nel sedimento proveniente dal sito posto in vicinanza dell'impianto di Licata rispetto a quanto riscontrato a Trappeto, ha evidenziato un livello di contaminazione non trascurabile, soprattutto per quanto riguarda l'As. Tuttavia, tale impatto non sembra dovuto ai prodotti utilizzati nell'impianto, quali per esempio il mangime, che ha mostrato livelli di metalli pesanti minori rispetto al mangime di Trappeto. Tale contaminazione, che potrebbe influenzare negativamente il processo produttivo, non sembra, però, aver causato un accumulo di metalli nel tessuto edibile degli organismi allevati. Oltre a ciò, poiché l'analisi dei metalli sui mangimi provenienti dagli impianti di Trappeto e di Licata ha evidenziato carichi diversi con una maggiore concentrazione nel primo, risulta estremamente determinante la scelta di un prodotto di qualità, considerato che esiste una netta relazione tra la qualità del mangime utilizzato e la qualità del prodotto ottenuto.

I differenti livelli di carico organico e chimico riscontrato nelle vari matrici indagate nelle due diverse tipologie di impianti di maricoltura non hanno evidenziato ripercussioni negative sugli organismi allevati, permettendo di

affermare la “buona qualità” di *Dicentrarchus labrax* e di *Sparus aurata* di Trappeto e di Licata e sottolineando l’assenza di pericolo per la salute del consumatore.

D’altra parte, i valori di metalli riscontrati nell’ambiente, attraverso l’analisi della matrice sedimento, e nel mangime, indicano la possibilità di un miglioramento sia del prodotto allevato sia dell’ambiente interessato dalla presenza degli impianti.

La ricaduta diretta dei risultati ottenuti dal presente lavoro sta nel trasferimento di tali risultati agli addetti del settore che possono trovarvi utili strumenti di controllo per la verifica costante degli allevamenti, condotti nel rispetto delle soglie di accettabilità ambientale. Il fine ultimo è quello di evitare alterazioni negli ecosistemi in cui insistono gli impianti, nella consapevolezza che oltre ad alterare l’ambiente, viene compromessa anche la qualità del prodotto allevato.

8 BIBLIOGRAFIA

- AA. VV., 2001. Acquacoltura responsabile (eds. Cataudella S. & Bronzi P.) Unimar e Uniprom, Roma
- Abete M.C., Prearo M., Andruetto S., Pavino D., Colussi S., Tarasco R., Agnetti F., Ghittino C., 2004. Indagine preliminare sulla presenza di residui in mangimi completi per l'acquacoltura: ricerca di arsenico, cadmio, cromo, mercurio e piombo. *Ittiopatologia* **1**: 68-76
- Abrami G., Natiello F., Bronzi P., McKenzie D., Bolis L., Agradi E., 1992. A comparison of highly unsaturated fatty acid levels in wild and farmed eels (*Anguilla anguilla*) *Comp Biochem Physiol B*. **101**: 79-81
- Ackefors H. & Enell M., 1994. The release of nutrients and organic matter from aquaculture systems in Nordic countries. *Journal of Applied Ichthyology*, **10**: 225-41
- Adamidou S., Nengas I., Alexis M., Foundoulaki E., Nikolopoulou D., Campbell P., Karacostas I., Rigos G., Bell G.J., Jauncey K., 2009. Apparent nutrient digestibility and gastrointestinal evacuation time in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing different levels of legumes. *Aquaculture* **289**: 106–112
- Addis M.F., Cappuccinelli R., Tedde V., Pagnozzi D., Porcu M.C., Bonaglini E., Roggio T., Uzzau S., 2010. Proteomic analysis of muscle tissue from gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) farmed in offshore floating cages. *Aquaculture* **309**: 245–252
- Ackman R.G., 1995. Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids. [Citazione] Cab International.
- Ai Q., Mai K., Li H., Zhang C., Zhang L., Duan Q., Tan B., Xu W., Ma H., Zhang W., Liufu Z., 2004. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* **230**: 507–516.
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Öksüz A., Garthwaite T., Alexis M.N., Grigorakis K., 2001. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry* **72**: 33-40
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Zubcov E., Shahidi F., Alexis M., 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total **79**: 145–150

- Al-Yousuf M.H., El-Shahawi M.S., Al-Ghais S.M., 2000. Trace metal in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjian* fish species in relation to body length and sex. *The Sc. Of the total Env.* **256**: 87-94
- Antunes P, Gil O., 2004. PCB and DDT contamination in cultivated and wild seabass from Ria de Aveiro, Portugal. *Chemosphere* **54**:1503–1507
- Aslaksen M.A., Kraugerud O.F., Penn M., Svihus B., Denstadli V., Jørgensen H.Y., Hillestad M., Krogdahl Å., Storebakken T., 2007. Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with legumes, oilseeds or cereals. *Aquaculture* **272**: 541–555
- Austin B., 1993. *Environmental and aquaculture in Developing Countries*. ICLARM Conference Proceedings 31 (eds. Pullin R.S.V., Rosenthal h. & Maclean J. L.), ICLARM Manila, Philippines, **31**: 237-251
- Bhadauria S., Sengar R.M.S., Mitaal S., Bhattacharjee S., 1992. Effect of petroleum hydrocarbons on algae. *Journal of Phycology* **28**: 3-16
- Bach-Knudsen, K.E., 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology* **67**: 319–338
- Baeverfjord G., Krogdahl Å., 1996. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *J. Fish Dis.* **19**: 375–387
- Baltz D.M., 1991. Introduced fishes in marine system and inland seas. *Biological Conservati*, **56**(2): 151-177
- Berdalet E.; Roldan C.; Olivar M.P., 2005. Quantifying RNA and DNA in planktonic organisms with SYBR Green II and nucleases Part B. Quantification in natural samples. *Sci. Mar.* **69**: 17-30
- Beveridge M.C.M., Ross L.G., Stewart J.A., 1997. The development of mariculture and its implications for biodiversity. In: *Marine Biodiversity: Patterns and Processes* (eds. Tickell C., Ormond R.F.G., Gage J. & Angel M.V.), Cambridge University Press
- Beveridge M.C.M., 1984. The environmental impact of freshwater cage and penfish farming, and use of simple models to predict carrying capacity. *Fao Fish. Techn. Paper* **255**:131
- Black K.D., 2001. Environmental impacts of aquaculture. Sheffield Biological Sciences, 6. Sheffield Academic Press: Sheffield. 214 pp
- Bligh E.G., Dyer W., 1959. A rapid method for total Lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917

- Boening Dean W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* **40**: 1335-1351
- Bowen S.H., 1987. Dietary protein requirements offishes - a reassessment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **44**: 1995-2001
- Braaten B., Aure J., Ervik A., Boge E., 1983. Pollution problems in Norwegian fish farming, ICES, CM:F26.
- Brett J.R., Groves T.D.D., 1979. Physiological energetics. In: *Fish Physiology*, Vol. VIII (W.S. Hoar & D.J. Randall eds), Academic Press, London; 279-352
- Brinker A., Reiter R., 2011. Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed, Part I: Effects on feed utilization and fish quality. *Aquaculture* **310**: 350–360
- Bulow, J.F., 1970. RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of fish. *J. Fish. Res.* **27**: 2343-2349
- Bulow J.F., 1987. RNA-DNA ratios as indicators of growth rates in fish: A review. In *The age and growth of fish*; Summerfelt, R.C., Hall, G.E. Eds.; The Iowa State University Press: Ames, Iowa,; pp. 45-64
- Butz I., Vens-Cappel B., 1982. Organic load from the metabolic products of rainbow trout fed with dry food. *EIFAC Technical Paper*. 41-73 Cairns J., Nebeker A.V., Gakstatter J.H., Griffis W., 1984. Toxicity of copper spiked sediments to freshwater invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* **3**: 435-446
- Calcagno J., Gappa J.L., Tablado A., 1998. Population dynamics of the barnacle *Balanus amphitrite* in an intertidal area affected by sewage pollution. *Journal of Crustacean Biology* 128–137
- Carpené E., Isani G, Manera M, Serra R, Cattani O, 1997. Effetti di elementi in traccia (Fe, Zn, Cu) in esemplari di orata (*Sparus aurata*) alimentati con diete sperimentali. *Biol. Mar. Medit.* **4** (1): 312-314
- Casado-Martinez M.C., Buceta J.L., Belzunce M.J., DelValls T.A., 2006. Using sediment quality guidelines for dredged material management in commercial ports from Spain. *Environment International* **32**: 388 – 396
- Chapman P.M., 1987. Marine sediments toxicity tests. In: *Symposium on Chemical and Biological Characterization of Sludges, Sediments, Dredge Spoils and Drilling Muds*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA. *ASTM STP* **976**: 391-402
- Chícharo L., Chícharo M.A., Alves F., Amaral A., Pereira A., Regala J., 2001. Diel variation of the RNA:DNA ratios in *Crassostrea angulata* (Lamarck) and

- Ruditapes decussatus* (Linnaeus 1758) (Mollusca, Bivalvia). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **259**: 121-129
- Chícharo M.A., Chícharo L., Amaral A., Morais P., 2007. Sex effect on ratios and concentrations of DNA and RNA three in marine organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **332**: 241-245
- Chícharo M.A., Chícharo L., 2008. RNA:DNA Ratio and Other Nucleic Acid Derived Indices in Marine Ecology. *Int. J. Mol. Sci.* **9**: 1453-1471
- Ciborowski J.J.H., Corkum L.D., 1988. Organic contaminants in adult aquatic insects of the St. Clair and Detroit rivers, Ontario, Canada. *J. Great Lakes Res.*, **14**: 148-156
- Cognetti G., Sarà M., Magazzù G., 2002. *Biologia marina*. Ediz. Calderini; pp 596
- Clark E.R., Harman J.P., Forster J.R.M., 1985. Production of metabolic and waste products by intensively farmed rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* **27**: 381-388
- Clarke A. Rodhouse P.G., Holrnes L.H., Pascoe P.L., 1989. Growth rate and nucleic acid ratio in cultured cuttlefish *Sepia officinalis* (Molluscs: Cephalopoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **133**: 229-240
- Clarke K.R., Warwick R.M., 1994. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. UK: Natural Environmental Research Council
- Cossa D., Lassus L., 1989. Le cadmium en milieu marine. *Biogéochimie et Ecotoxicologie. Rapport scientifiques et techniques de l'Ifremer*. S.D.P Ifremer, Plouzane, 16: 111
- Craig S., Washburn B., Gatlin D., 1999. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Fish Physiol. Biochem.* **21**: 249-255
- Cui Y., Wootton R.J., 1988. Effects of ration, temperature and body size on the body composition, energy content and condition of minnow, *Phoxinus phoxinus* (L.). *J. Fish Biol.* **32**: 749-764
- Danovaro R., Fabiano M., 1990. Batteri, pigmenti clorofilliani, lipidi, protidi e carboidrati nel sedimento. *Data Reports Istituto Scienze Ambientali Marine, Università di Genova*, **32**: 1-15
- Danovaro R., Fabiano M., Della Croce N., 1993. Labile organic matter and microbial biomasses in deep-sea sediments (Eastern Mediterranean Sea). *Deep-Sea Res.* **40**: 953-965

- Danovaro R., 1996. Detritus-bacteria-meiofauna interactions in a seagrass bed (*Posidonia oceanica*) of the NW Mediterranean. *Mar. Biol.* **127**: 1-13
- Danovaro R., Fabiano M., 1997. Seasonal changes in quality and quantity of food available for benthic suspension-feeders in the Golfo Marconi (North-western Mediterranean). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **44**: 723-736
- Danovaro R., Dinet A., Duineveld G., Tselepides A., 1999. Benthic response to particulate fluxes in different trophic environments: a comparison between the Gulf of Lions-Catalan Sea (western-Mediterranean) and the Cretan Sea (eastern-Mediterranean). *Progress in Oceanography* **44**: 287-312
- Danovaro R., Della Croce N., Dell'Anno A., Fabiano M., Marrale D., Martorano D., 2000. Seasonal changes and biochemical composition of the labile organic matter flux in the Cretan Sea. *Progr. Oceanogr.* **46**: 259-278
- De Boeck G., Nilsson G.E., Elofsson U., Vlaeminck A., Blust R., 1995. Brain monoamine levels and energy status in common carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to sublethal levels of copper. *Aquatic Toxicology* **33**: 265-277
- De Casabianca M.L., Laugier T., Collart D., 1997. Impact of shellfish farming eutrophication on benthic macrophyte communities in the Thau Lagoon, France. *Aquacult. Inter.*, **5**: 301-314
- Delgado A., Estevez A., Hortelano P., Alejandre M.J., 1994. Analyses of fatty acid from different lipids in liver and muscle of seabass (*Dicentrarchus labrax*). Influence of temperature and fasting. *Biochemistry and Physiology.* **4**: 673-680
- Delgado O., Ruiz J., Perez M., Romero J., Ballesteros E., 1998. Effects of fish farming on seagrass (*Posidonia oceanica*) in a Mediterranean bay: seagrass decline after organic loading cessation. *Oceanol. Acta* **22** (1): 109-117
- Dell'Anno A., Fabiano M., Duineveld G.C.A., Kok A., Danovaro R., 1998. Methods and Estimation of Detrital DNA High Performance Liquid Chromatography Spectrophotometric, Fluorometric, and Marine Sediments: Comparison of and RNA/DNA Ratio Determination in Nucleic Acid (DNA, RNA) Quantification. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(9):32-38
- Dell'Anno A., Mei M.L., Pusceddu A., Danovaro R., 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Mar. Pollut. Bull.* **44**: 611-622

- Dortch Q., Roberts T.L., Clayton J.R. Jr., Ahmed S.I., 1983. RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **13**: 61-71
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* **28**: 350-356
- Due A., Toubro S., Stender S., Skov A.R., Astrup A., 2005. The effect of diets high in protein or carbohydrate on inflammatory markers in overweight subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. **7** (3): 223-229
- Dugo G., La Pera L., Bruzzese A., Pellicanò T.M., Lo Turco V., 2006. Concentration of Cd (II), Cu (II), Pb (II), Se (IV) and Zn (II) in cultured seabass (*Dicentrarchus labrax*) tissues from Tyrrhenian Sea and Sicilian Sea by derivative stripping potentiometry. *Food Control* **17**: 146-152
- Dural M., Lugal Göksu M.Z., Ozak A.A., Derici B., 2006. Biaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758 and *Mugil Cephalus* L, 1758 from the Camlik lagoon of the Eastern coast of Mediterranean (Turkey). *Env. Mon. and Ass.*, **118**: 65-74
- Easton M.D.L., Luszniak D., Von der Geest E., 2002. Preliminary examination of contaminant loadings in farmed salmon, wild salmon and commercial salmon feed. *Chemosphere* **46**: 1053-1074
- Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A., 2006. Rapid metabolic adaptation in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles fed different carbohydrate sources after heat shock stress. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, **145**: 73-81
- Eriksson M., Ka J.O., Mohn W.W., 2001. Effects of low temperature and freeze-thaw cycles on hydrocarbon biodegradation in Arctic tundra soil. *Applied and Environmental Microbiology* **67** (11): 5107-5112
- Ervik A., 1994. Modeling and monitoring internal impact from fish farms. In: *Canada-Norway workshop on environmental impacts of aquaculture* (eds. Ervik A., Hansen P. K. & Wennevik V.), Havforckningsinstituttet
- Espinós F.J., Tomás A., Pérez L.M., Balasch S., Jover M., 2003. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture* **218**: 479-490
- Fabiano M., Danovaro R., 1994. Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia* **277**: 71-84.

- Fabiano M., Danovaro R., Frascchetti S., 1995. Temporal trend analysis of the elemental and biochemical composition of the sediment organic matter in subtidal sandy sediments of the Ligurian Sea (NW Mediterranean): a three year study. *Cont. Shelf Res.* **15**: 1453-1469
- Fabiano M., Danovaro R., Povero P., 1996. Particulate organic matter composition in Terra Nova Bay (Ross Sea Antarctica) during summer 1990. *Antarct. Sci.* **8**: 7-14
- Fabiano M., Sarà G., Mazzola A., Pusceddu A., 2001. Environmental constraints on pathways of organic detritus in a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean). *Mediterranean ecosystems: structures and processes.* **56**: 435-445
- FAO Fisheries Department, 1995. Aquaculture Development. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries. Roma, FAO: 40 pp.
- FAO 2006. State of world aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 500
- FAO 2008. The State of World Fisheries and Aquaculture
- Fernandes D., Bebianno M.J., Porte C. 2009. Assessing pollutant exposure in cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from the Iberian Peninsula. *Ecotoxicology* **18**: 1043-1050
- Fichez R., 1991. Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments: implications for the biogeochemicals cycle of organic carbon. *Oceanol. Acta* **14**: 369-377
- Florence T.M., 1982. The speciation of trace elements in waters. *Talanta* **29**: 345-364
- Flos R., Reig L., Oca J., Ginovart M., 2002. Influence of marketing and different land-based system on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) quality. *Aquac. Int.* **10**: 189-206
- Frache R., Gnecco C., Magi E., Ianno C., 2001. Meccanismi di distribuzione di elementi minori e in tracce nell'ecosistema marino. Atti Ass. Italiana Ocean Limn. **14**: 1-14
- Francis G., Harinder Makkar P.S., Becker K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* **199**: 197-227
- Fry B., Sherr E.B., 1984. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contrib. Mar. Sci.* **27**: 13-47
- Gerchacov S.M., Hatcher P.G., 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limnol. Oceanogr.* **17**: 938-943

- Giesy J.P., Graney J.L., Newsted J.L., Rosiu C.J., Benda A., Kreis R.G., Horvath F.J., 1988. "Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit River Sediments". *Environ. Toxicol. Chem.*, **7** (6): 483-498
- Giesy J.P., Hoke R.A., 1989. "Freshwater sediment toxicity bioassessment: rationale for species selection". *J. Great Lakes Res.* **15**: 539-569
- Giesy J.P., Hoke R.A., 1990. "Freshwater sediment quality criteria: toxicity bioassessment". In: Baudo, Giesy and Muntau (eds). *Sediments chemistry and toxicity of in place pollutants*, Lewis Publ.; 255-348
- Glass N.R., 1969. Discussion of calculation of power function with special reference to respiratory metabolism in fish. *J. Fish Res. Bd Can.* **26**: 2643-2650
- Gómez-Requeni P., Mingarro M., Calduch-Giner J.A., Médale F., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J., 2004. Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **232**: 493-510
- Gowen R.J., Brandbury N.B., Brown J.R., 1985. The ecological impact of salmon farming in Scottish coastal water: a preliminary appraisal. ICES CM: F35, 11.
- Gowen R.J., Brandbury N.B., 1987. The ecological impact of salmon farming in Scottish coastal waters: a preliminary appraisal. *Proc. ICES C. M. 1985/F. 35/Ref. E+C/Sess. W.*
- Gouveia A., Davies S.J., 1998. Preliminary nutritional evaluation of pea seed meal (*Pisum sativum*) for juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **166**: 311-320
- Gouveia A., Davies S.J., 2000. Inclusion of an extruded dehulled pea seed meal in diets for juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **182**: 183-193
- Grandini S., 1993. Rame e cadmio in tessuti di teleostei. *Il Pesce* 4/93.
- Gundersen K., 1981. The distribution and biological transformation of nitrogen in the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* **12**: 199-205
- Gouveia A., Oliva-Teles A., Gomes E., Peres M.H., 1995. The effect of two dietary levels of raw and gelatinized starch on growth and food utilization by the European seabass. In: Castelló I., Orvay F., Calderer I., Reig A. (Eds.), *Proc. of the Fifth National Congress on Aquaculture*. Univ. Barcelona, Spain, pp. 516-521

- Grigorakis K., Alexis M.N., Taylor A.K.D., Hole M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology* **37**: 477–484
- Grigorakis K., Alexis M., Gialamas I., Nikolopoulou D., 2004. Sensory, microbiological and chemical spoilage of cultured common sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice: a seasonal differentiation. *Eur. Food Res. Technol.* **219**: 584–587
- Grigorakis K., 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture* **272**: 55-75
- Hargrave B.T., Phillips G.A., Doucette L.I., White M.J., Milligan T.G., Wildish D.J., Cranston R.E., 1997. Assessing impacts of organic enrichment from marine aquaculture. *Water, Air and Soil Pollution*, **99**: 641-650
- Hartree E.F., 1972. Determination of proteins: a modification of the Lowry method that give a linear photometric response. *Analyt. Biochem.* **48**: 422-427
- Henderson R.J., Forrest D.A.M., Black K.D., Park M.T., 1997. The lipid composition of sealoch sediments underlying salmon cages. *Aquaculture* **158** (1-2): 69-83
- Higgins R.P., Thiel H., 1988. Introduction to the study of meiofauna. Smithsonian Institution press, Washington, D.C., 488 pp
- Hites R.A., Foran J.A., Carpenter D.O., Hamilton M.C., Knuth B.A., Schwager S.J., 2004. Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science* **303**: 226–229
- Holm-Hansen O., Sutcliffe W.H. Jr., Sharp J., 1968. Measurement of the deoxyribonucleic acid in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.* **13**: 507-514
- Holmer M., 1991. Impacts of aquaculture on surrounding sediments: generation of organic-rich sediments. In: *Aquaculture and the Environment*, (eds. De Paul, N. and Joyce J.), Ghent, European Aquaculture Society, pp. 155-173
- Holmer M., Kristensen E., 1992. Impact of marine fish cage farming on metabolism and sulfate reduction of underlying sediments. *Marine Ecology Progress Series* **80**: 191-201

- Hurt A., Qiu X., Wu L., Roh Y., Palumbo A.V., Tiedje J.M., Zhou J., 2001. Simultaneous recovery of RNA and DNA from soils and sediments. *Applied and Environmental Microbiology* **67** (10): 4495–4503
- Ibiam U., Grant A., 2005. RNA/DNA ratios as a sublethal endpoint for large-scale toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **24** (5): 1155-1159
- INRAN, 2005. Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione
- Iwama G.K., 1991. Interaction between aquaculture and the environment. *Crit. Rev. In Env. Con.* **21**(2): 177-216
- Jonsen B.O., Jensen A.J., 1991. The Gyrodactylus story in Norway. *Aquaculture* **98** (1-3): 289-302
- Jonsen R.I., Grahl O., Lunestad B.T., 1993. Environmental distribution of organic waste from marine fish farm. *Aquaculture* **118** (3-4): 229-244
- Kadovani S., Kasedo T., Nakazono T., Yamashita Y., Hirata H., 1980. The relation between sediment flux and fish feeding in coastal culture farms. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University*, **29**: 217
- Kalantzi I., Karakassis I., 2006. Benthic impacts of fish farming: Meta-analysis of community and geochemical data. *Mar Poll Bull* **52**: 484–493
- Khalaman V., 2001. Fouling communities of mussel aquaculture installations in the White Sea. *Russian Journal of Marine Biology* **27**: 227–237
- Khan A.G., Kuek C., Chudhry T.M., Khoo C.S., Hayes W.J., 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* **41**: 197-207
- Khan M., Scullion J., 2000. Effect of soil on microbial responses to metal contamination. *Environmental Pollution* **110** (1): 115–125
- Karakassis I., Tsapakis M., Hatziyanni E., 1998. Seasonal variability in sediment profiles beneath fish farm cages in the Mediterranean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **162**: 243-252
- Karakassis I., Tsapakis M., Hatziyanni E., Papadopoulou K.N., Plaiti W., 2000. Impact of cage farming of fish on the seabed in three Mediterranean coastal areas. *ICES J. Mar. Sci.* **57**: 1462-1471
- Kent M.L., 1994. The impact of disease of red pen-reared salmonids on coastal marine environment. In: *Canada-Norway workshop on environmental impacts of aquaculture* (eds. Ervik A., Hansen P.K. & Wennevik V.), Havforskningssinstituttet, Bergen, pp.85-95

- KerKhof L., Ward B.B., 1993. Comparison of Nucleic Acid Hybridization and Fluorometry for Measurement of the Relationship between RNA/DNA Ratio and Growth Rate in a Marine Bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(5): 1303-1309
- Khripounoff A., Crassous P., Desbruyeres D., Le Coz J. R., 1985. Le flux organique particulate et ses transformations a l'interface eau sediment. In: *Peuplements profond du Golfe de Gascogne* (eds. Laubier L. & Manniot C.), IFREMER Publications, Brest, France, pp. 101-118
- Kiessling A., Pickova J., Johansson L., Asgard T., Storebakken T., Kiessling K.H., 2001. Changes in fatty acid composition in muscle and adipose tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. *Food chemistry* **73**: 271-284
- Klaoudatos S.D., Conides A.J., Chatziefstathiou M.V., 1996. Environmental impact assessment (EIA) studies in floating cage culture system in Greece. In: *Coastal zone management* (eds. Taussik j. & Mitchell J.), Samara Publishing Limited, Cardigan, pp. 525-532
- Knight A.W., 1984. The evaluation of contaminated sediments employing selected benthic freshwater invertebrates. Final Report of the US-EPA Cooperative Agreement No. CR-808424. Univ. Of California, Davis C.A. US-EPA Environm. Research Lab., Corvallis OR
- Koskela J., Pirhonen J., Jobling M., 1997. Feed intake, growth rate and body composition of juveniles baltic salmon exposed to different constant temperatures. *Aquaculture International* **5**: 351-360
- Kraepiel A.M.L., Keller K., Chin H.B., Malclm E.G., Morel F.M.M., 2003. Sources and variations of mercury in tuna. *Env. Sci. Tech.* **37**: 5551-5558
- Krajnović-Ozretić M., Najdek M., Ozretić B., 1994. Fatty acids in liver and muscle of farmed and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **109**: 611-617
- Krogdahl A., Bakke-McKellep A.M., Baeverfjord G., 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Aquaculture Nutrition* **9**: 361-371
- Krogdahl A., Hemre G.I., Mommsen T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquac. Nutr.* **11**: 103-122

- Kyrana V.R., Lougovois V.P., Valsamis D.S., 1997. Assessment of shelf-life of maricultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Int. J. Food Sci. Technol.* **32**: 339-347
- Kyrana V.R., Lougovois V.P., 2002. Sensory, chemical and microbiological assessment of farmed-raised European seabass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. *Int. J. Food Sci. Technol.* **37**: 319-329
- Lanari D., Poli B.M., Ballestrazzi R., Lupi, P., D'Agaro, E., Mecatti, M., 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* **179**: 351-364
- Le Coz J.R., 1985. Techniques d'analyse de la matière organique dans les sédiments. In: *Peuplements profonds du Golfe de Gascogne* (eds. Laubier L. & Monniot C.), IFREMER Publications, Brest, France, pp. 603-615
- Lee K.E., 1985. Earthworms: Their ecology and relationships with soils and land use. Academic Press, New York.
- Lee Van Dover C.L., Grassle J.F., Fry B., Garritt R.H., Starczak V.R., 1992. Stable isotope evidence for entry of sewage-derived organic material into a deep-sea food web. *Nature* **360**: 153-156
- Lee S.M., Jeon I.G., Lee J.Y., 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Aquaculture* **211**: 227-239
- López L.M., Torres A.L., Durazo E., Drawbridge M., Bureau D.P., 2006. Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture* **253**: 557-563
- Lorenzen C.J., Jeffrey S.W., 1980. Determination of chlorophyll and phaeopigments spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* **12**: 343-346
- Lund R.A., Okland F., Hansen L.P., 1991. Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in fisheries and rivers in Norway. *Aquaculture* **98**: 143-150
- Lundebye A.K., Bernetssen M.H.G., Wendelaar Bonga S.E., Maage A., 1999. Biochemical and physiological responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) following dietary exposure to copper and cadmium. *Mar. Poll. Bull.* **39** (1-12): 137-144
- Luo Z., Liu Y., Mai K., Tian L., Liu D., Tan X., Lin H., 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper

- Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. *Aquacult. Int.* **13**: 257–269
- McIntyre H.L., Geider R.J., Miller D.C., 1996. Microphytobenthos: the ecological role of the “secret” garden of unvegetated, shallow water habitats. I. Distribution, abundance and primary production. *Estuaries* **19**(2a): 186-201
- Malik D.S., Sastry K.V., Hamilton D.P., 1998. Effects of zinc toxicity on biochemical composition of muscle and liver of murrel (*Channa punctatus*). *Env. Intern.* **24** (4): 433-438
- Mayer M.-Pinto, Junqueira A.O.R., 2003. Effects of organic pollution on the initial development of fouling communities in a tropical bay, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* **46**: 1495–1503
- Marsh J.B., Weinstein W.J., 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lip. Res.* **7**: 574-576
- Martella L., Nelli L., Bargagli R., 1997. La diffusione degli elementi in tracce lungo le coste del Salento. Valutazioni preliminari mediante *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Aqua Aria* (**3**): 111-117.
- Mathers E., Houlihan D., 1993. Rates of growth and protein synthesis correlated with nucleic acid content in fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of age and temperature. *Journal of fish biology* **43**: 245-263
- Mazzola A., Mirto S., Danovaro R., 1999. Initial fish-farm impact on meiofaunal assemblages in coastal sediments of the Western Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* **38** (12): 1126-33
- Mazzola A., Mirto S., La Rosa T., Fabiano M., Danovaro R., 2000. Fish farming effects on benthic communities structure in coastal sediments: analysis of meiofaunal recovery. *ICES J. Mar. Sci.* **55**: 1445-1461
- Mazzola A., Fabiano M., Pusceddu A., Sarà G., 2001. Particulate organic matter composition in a semi-enclosed marine system. *Chem. Ecol.* **17**: 315-334
- Mazzola A., Sarà G., 2001. The effect of fish farming organic waste on food availability for bivalve mollusks Gaeta Gulf, Central Tyrrhenian, MED: stable carbon isotopic analysis. *Aquaculture* **192**: 361–379
- Mazzola A., 2006. Pianificazione delle attività per uno sviluppo sostenibile della maricoltura in Sicilia, modello di orientamento per la mitigazione dell’impatto. *Collana Studi e Ricerche dell’Arpa Sicilia*, vol. **3**
- Merican Z.O., Phillips M.J., 1985. Solid waste production from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, cage culture. *Aquaculture and Fisheries Management* **1**: 55-69

- Messina C.M., Bertolino F., Lombardo S., Santulli A., 2001a. A rapid method for determination of quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*). *Aquaculture Intern.* Verona,
- Messina C.M., Bertolino F., La Barbera L., Arena R., Santulli A., 2001b. Quality determination of *Thunnus thynnus* reared in sea cages in Western Sicily (Italy). *VI Bordeaux Aquaculture*.
- Messina C.M., Bertolino F., La Barbera L., Arena R., Santulli A., 2001c. Caratterizzazione della qualità del tonno rosso (*Thunnus thynnus*) per la commercializzazione sul mercato giapponese. *32° SIBM*, Numana- Riviera del Conero.
- Michener R.H., Schell D.M., 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. *Stable isotopes in ecology and environmental science* **7**: 138–157
- Minagawa M., Wada E., 1984. Stepwise enrichment of ¹⁵N along food chains: further evidence and the relation between ¹⁵N and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**: 1135-1140
- Mirto S., La Rosa T., Danovaro R., Mazzola A., 2000. Microbial and meiofaunal response to intensive mussel-farm biodeposition in coastal sediments of the western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* **40**(3): 244-252
- Mirto S., La Rosa T., Gambi C., Danovaro R., Mazzola A., 2002. Nematode community response to fish-farm impact in the western Mediterranean. *Environ Poll* **116**: 203–214
- Molina Domínguez L., López Calero G., Vergara Martín J.M., Robaina Robaina L., 2001. A comparative study of sediments under a marine cage farm at Gran Canaria Island_Spain. Preliminary results. *Aquaculture* **192**: 225–231
- Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin III D.M., Goldburg R.J., Hua K., Nichols P.D., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 15103–15110
- Oetjen K., Karl H., 1998. Levels of toxaphene indicator compounds in fish meal, fish oil and fish feed. *Chemosphere* **37** (1): 1-11
- Orban E., Sinesio F., Paoletti F., Nicoli S., Casini I., Caproni R., Moneta E., 1996. Nutritional and organoleptic characteristics of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*): influence of different culturing techniques on fish quality. *Rivista di Scienza dell'Alimentazione* **25** (1): 27-36

- Orban E., Sinesio F., Paoletti F., 1998. The functional proprieties of the proteins, texture and sensory characteristics of frozen Sea bream (*Sparus aurata*) fillets from different farming system. *Food Sc. Technol.* **30** (2): 214-217
- Øverland M., Sørensen M., Storebakken Y., Penn M., Krogdahl Å., Skrede A., 2009. Pea protein concentrate substituting fish meal or soybean meal in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)—Effect on growth performance, nutrient digestibility, carcass composition, gut health, and physical feed quality. *Aquaculture* **288**: 305–311
- Paez-Osuna F., Guerrero-Galvan S.R., Ruiz-Fernandez A.C., 1998. The environmental impact of shrimp aquaculture and the coastal pollution in Mexico. *Marine Pollution Bulletin* **36**: 65-75
- Parker J.G., 1983. A comparison of methods used for the measurement of organic matter in marine sediment. *Chem. Ecol.* **1**: 201-210
- Pearson T.H., Black K.D., 2000. The environmental impacts of marine fish cage culture. In: Black KD (eds), *Environmental Impacts of Aquaculture*. Sheffield Academic Press, Sheffield
- Papadopoulos V., Chouliara I., Badeka A., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured seabass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology* **20**: 411–420
- Parson T.R., Takahashi M., Hargrave B., 1985. Biological oceanographic processes. (3rd edition). Springer Verlag: p. 382
- Pei Z., Xie S., Lei W., Zhu X., Yang Y., 2004. Comparative study on the effect of dietary lipids level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Gunther). *Aquacult. Nutr.* **10**: 209–216
- Peres H., Oliva-Teles A., 2002. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* **205**: 287–299
- Pfannkuche O., 1993. Benthic response to the sedimentation of particulate organic matter at the BIOTRANS station, 47°N, 20°W. *Deep-Sea Res.* **40**: 135-149.
- Phillips M.J., Muir J.F., Beveridge M., Stewart J.A., 1983. Cage farm managment. *Fish Farmer* **6**: 14-16
- Plante-Cuny M.R., Bodoy A., 1987. Relations trophiques entre microphytes benthiques ou planctoniques et mollusques bivalves endogés. Production et

- relations trophiques dans les écosystèmes marins. 2° Colloque franco-soviétique Yalta, 1984. IFREMER Act. Coll. **5**: 157-169
- Plante-Cuny M.R., 1974. Evaluation par spectrophotométrie des teneurs en chlorophyl-a fonctionnelle et en phaeopigments des substrates meubles marins. O.R.S.T.O.M. Nosy-Bé, 45 pp.
- Poli B.M., Mecatti M., Parisi G., Lupi P., Gualtieri M., Zampacavallo G., 1998. Studio comparato sulle proprietà alimentari di spigole allevate in regime di areazione o iperossigenazione. *Biol. Mar. Medit* **5** (3): 2269-2278
- Poli B.M., 1999. La qualità del prodotto ittico: nuove prospettive. Estratto da acquacoltura e pesca tra i due millenni "I Georgofili. Quaderni", *II Studio editoriale fiorentino*, 155 pp.
- Poli B.M., Parisi G., Zampacavallo G., Mecatti M., Lupi P., Gualtieri M., Franci O., 2001. Quality outline of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in Italy: shelf-life, edible yield, nutritional and dietetic traits. *Aquaculture*, **202**: 303-315
- Porter J.W., Lewis S.K., Porter K.G., 1999. The effect of multiple stressor on the Florida Keys coral reef ecosystem: and landscape hypothesis and a physiological test. *Limnology and Oceanography* **44**: 941-949
- Porvari P., 1995. Mercury levels of fish in Tucurui hydroelectric reservoir and in River Mojù in Amazonia, in the state of Parà, Brazil. *The Sc. Of the Total Env.* **175**: 109-117
- Presley B.J., 1997. A review of Arctic trace metal data with implications for biological effects. *Marine Poll. Bull.* **35** (7-12): 226-234
- Pusceddu A., Sarà G., Mazzola A., Fabiano M., 1997. Relationship between suspended and sediment organic matter in a semi-enclosed marine system: the Stagnone Di Marsala sound (western Sicily). *Water Air Soil Pollut.* **99**: 343-352
- Reilly C., 1991. Metal contamination of food. 2nd ed., Elsevier, Essex: 152-175
- Riddell B.E., 1993. Salmonid enhancement: lessons from the past and role for the future. In: Salmon in the Sea and New Enhancement Strategies (eds. Mills D.), *Fishing News Books*, Oxford: 228-255
- Risk M.J., Erdmann M.V., 2000. Isotopic composition of nitrogen in stomatopod (Crustacea) tissues as an indicator of human savage impacts on Indonesian coral reefs. *Mar. Pollut. Bull.*, **40**(1): 50- 58

- Ross L.G., Beveridge M.C.M., 1995. Is a better strategy necessary for the development of native species for aquaculture? A Mexican case study. *Aquaculture research* **26** (8): 539-547
- Salomons W., de Rooij N.M., Kerdijk H., Bril J., 1987. Sediments as a source for contaminants. *Hydrobiologia* **149**: 13-30.
- Samuelsen O.B., Ervik A., Solheim E., 1988. A qualitative and quantitative analysis of the sediment gas and diethylether of the sediment from salmon farms. *Aquaculture* **74**: 277-285
- Santulli A., Messina C.M., Bertolino F., 2000. Determinazione dei criteri di qualità per la commercializzazione del tonno rosso (*Thunnus thynnus*) sul mercato giapponese. La terra delle tonnare (N. Ravazza Ed.): 47-54
- Sarà G., Mazzola A., 2004. The carrying capacity for Mediterranean bivalve suspension feeders: evidence from analysis of food availability and hydrodynamics and their integration into a local model. *Ecological Modelling* **179**: 281-296
- Sarà G., Scilipoti D., Mazzola A., Modica A., 2004. Effects of fish farming waste to sedimentary and particulate organic matter in a southern Mediterranean area (Gulf of Castellammare, Sicily): a multiple stable isotope study ($d^{13}C$ and $d^{15}N$). *Aquaculture* **234**(1-4): 199-213
- Sarà G., Scilipoti D., Milazzo M., Modica A., 2006. Use of stable isotopes to investigate dispersal of waste from fish farms as a function of hydrodynamics. *Mar Ecol Progr Ser* **313**: 261-270
- Sarà G., Lo Martire M., Buffa G., Mannino A.M., Badalamenti F., 2007. The fouling community as an indicator of fish farming impact in Mediterranean. *Aquacult Res* **38**: 66-75
- Sargent J.R., Tocher D.R., Bell J.G., 2002. The Lipids. In: Fish Nutrition (edited by J.E. Halver & R.W. Hardy), 3rd edn. San Diego, CA: Academic Press
- Sauders R.L., 1991. Potential interaction between cultured and wild Atlantic salmon. *Aquaculture* **98** (1-3): 51-60
- Schloesser D.W., 1988. Zonation of mayfly nymphs and caddisfly larvae in the St. Marys River. *J. Great Lakes Res.* **14**: 227-233
- Severino L., Anastasio A., 2006. I contaminati organici persistenti nel pesce allevato e pescato. *Il Pesce*.
- Shaw S.D., Brenner D., Berge M.L., Carpenter D.O., Hong C.S., Kannan K., 2006. PCBs, PCDD/Fs, and organochlorine pesticides in farmed Atlantic salmon

- from Maine, Eastern, Canada, and Norway, and wild salmon from Alaska. *Environ Sci Technol* **40**: 5347–5354
- Sikorski Z.E., Sun Pan B., 1994. Preservation of seafood quality. Seafood chemistry, processing technology and quality. Shahidi F. and Botta J.R.: 168-195.
- Soto M., Ireland M.P., Marigomez I., 2000. Change in mussel biometry on exposure to metals: implication in estimation of metal bioavailability in Mussel-Watch programmes. *The Sc. Of the Total Env.* **247**: 175-187
- Tanaka Y., Gwak W.S., Tanaka M., Sawada Y., Okada T., Miyashitas S., Kumai H., 2007. Ontogenetic changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fisheries Science* **73** (2): 378–384
- Takeuchi T., Shiina Y., Watanabe T., 1991. Suitable protein and lipid levels in diet for fingerlings of red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suissan Gakkaishi* **55**: 521–527
- Thiessen D.L., Campbell G.L., Adelizi P.D., 2003. Digestibility and growth performance of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with pea and canola products. *Aquac. Nutr.* **9**: 67–75
- Thorpe J.E.; Talbot C.; Villarreal C., 1982. Bimodality of growth and smolting in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* **28**: 123-132
- Tslepeides A., Papadopoulou N., Podars D., Plaiti W., Koutsoubas D., 2000. Macrobenthic community structure over the continental margin of Crete (South Aegean Sea, NE Mediterranean). *Progr. Oceanogr.* **46**: 401-428
- Tacon A.O.J., Cowey C.B., 1985. Protein and amino acids requirements. In: *Fish Energetics: New Perspectives* (P. Tytler & P. Calow, eds.), The John Hopkins University Press, Baltimore: 155-183
- Tessier A., Campbell P.G.C., 1987. Partitioning of trace metals in sediments: relationships with bioavailability. *Hydrobiologia* **149**: 43-52
- Underwood A.J., 1997. Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press, Cambridge
- Uluozlu O.D., Tuzen M., Mendil D., Soylak M., 2007. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. *Food Chemistry* **104**: 835-340
- Vinagre C., Fonseca V., 2008. Habitat specific growth rates and condition indices for the sympatric soles *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis*

- Kaup 1858, in the Tagus estuary, Portugal, based on otolith daily increments and RNA-DNA ratio. *Journal of Applied Ichthyology* **24**(2): 163-169
- Vizzini S., Mazzola A., 2004. Stable isotope evidence for the environmental impact of a land-based fish farm in the western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* **49**: 61-70
- Vizzini S., Mazzola A., 2006. The effects of anthropogenic organic matter inputs on stable carbon and nitrogen isotopes in organisms from different trophic levels in a southern Mediterranean coastal area. *Science of the Total Environment* **368**: 723-731
- Vizzini S., Mazzola A. 2006. Sources and transfer of organic matter in food webs of a Mediterranean coastal environment: Evidence for spatial variability *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **66**: 459-467
- Wagner M., Durbin E., Buckley L., 1998. RNA:DNA ratios as indicators of nutritional condition in the copepod *Calanus finmarchicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **162**: 173-181
- Warren-Hansen I., 1982. Evaluation of matter discharged from trout farming in Denmark. In: *Report of the EIFAC Workshop on Fish-Farm Effluents, Silkeborg, Denmark, 26-28 May 1981* (ed. Albaster J.S.), FAO/EIFAC *Technical Paper* **41**: 57-63
- Webb J. H., Youngson A.F., 1992. Reared Atlantic salmon *Salmo salar* L. In the catches of a salmon fishery on the western coast of Scotland. *Aquaculture and Fisheries Management*, **23**: 393-297
- Weston D.P., 1990. Quantitative examination of macrobenthic community change along an organic enrichment gradient. *Marine Ecology Progress Series* **61**: 233-244
- Williams K.C., Barlow C.G., Rodgers L., Hockings I., Agcopra C., Ruscoe I., 2003. Asian seabass *Lates calcarifer* perform well when fed pelleted diets high in protein and lipid. *Aquaculture* **225**: 191-206
- Wilson R.P., 1989. Amino acids and proteins. In: *Fish Nutrition* (J.E. Halver, ed.), 2nd Edition, Academic Press, San Diego: 111-151
- Wilson R.P., 1994. Amino acid requirements of finfish. In: *Amino Acids in Farm Animal Nutrition* (J.P.F. D'Mello, ed.), CAB International, Wallingford: 377-399.
- Wilson R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* **124**: 67-80

- Wu R.S.S., 1995. The environmental impact of marine fish culture: towards a sustainable future. *Mar. Pollut. Bull.* **31**(4-12): 159-166
- Wu R.S.S., Lam K.S., McKay D.W., Lau T.C., Yam V., 1994. Impact of marine fish farming on water quality and bottom sediment: a case study in the sub-tropical environment. *Marine Environmental research* **38**:115-145
- Zachleder V., 1984. Optimization of nucleic acids assay in green and bluegreen algae: extraction procedures and the light-activated diphenylamine reaction for DNA. *Arch. Hydrobiol.* **67**: 313-328
- Zhou H.Y., Wong M.H., 2000. Mercury accumulation in freshwater fish with emphasis on the dietary influence. *Wat. Res.* **34** (17): 4234-4242
- Zvyagintsev A. Yu, Korn O.M., 2003. Life History of the Barnacle Balanus Amphitrite Darwin and Its Role in Fouling Communities of Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, Vol. **29** (1-2): 41-48.

INDICE

1	INTRODUZIONE.....	1
2	EFFETTI AMBIENTALI E QUALITÀ IN ACQUACOLTURA.....	6
2.1	Metalli pesanti	14
	<i>Cadmio</i>	15
	<i>Rame</i>	16
	<i>Zinco</i>	16
	<i>Arsenico</i>	17
	<i>Mercurio</i>	18
	<i>Piombo</i>	18
	<i>Nichel</i>	19
	<i>Cromo</i>	19
	<i>Vanadio</i>	20
3	OBIETTIVO DELLA RICERCA.....	21
4	MATERIALI E METODI	23
4.1	Area di Studio	23
	<i>Impianto “Ittica Trappeto” – Golfo di Castellammare</i>	23
	<i>Impianto “Ittica San Giorgio” – Porto di Licata</i>	25
4.2	Attività di campo	28
4.3	Attività di laboratorio.....	34
	<i>Fitopigmenti</i>	34
	<i>Composizione Biochimica</i>	34
	<i>Rapporto RNA/DNA</i>	36
	<i>Analisi isotopiche</i>	36
	<i>Metalli pesanti</i>	37
4.4	Elaborazione dati.....	39

5	RISULTATI.....	40
5.1	Caratterizzazione ambientale – sedimento	40
	<i>Impianto “Ittica Trappeto”</i>	40
	<i>Impianto “Ittica San Giorgio”</i>	55
5.2	Caratteristiche dell’alimento somministrato.....	72
5.3	Analisi del prodotto di allevamento.....	82
6	DISCUSSIONE.....	98
6.1	Caratterizzazione Ambientale	99
6.2	Caratteristiche dell’alimento somministrato.....	106
6.3	Qualità del prodotto di allevamento	111
7	CONCLUSIONE	117
8	BIBLIOGRAFIA	120