

CLARA BOGLIONE*, ELISA PALAMARA*, TOMMASO RUSSO*, CORRADO COSTA**,
FRANCESCA ANTONUCCI**, STEFANO CATAUDELLA*

L'analisi della qualità morfologica di orate lungo la filiera produttiva

INTRODUZIONE

Nell'ambito del progetto "Qualità totale in acquacoltura per l'innovazione strategica e per il recupero della competitività: descrittori tecnico economici e linee guida", sottoprogetto "Validazione di indicatori morfo-fisiologici della filiera produttiva di spigola (*Dicentrarchus labrax*) ed orata (*Sparus aurata*) e modello di riferimento (su base coordinata) per la costruzione di un sistema esperto" (finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, L. 41/82) è stata analizzata, inter alia, la qualità morfologica di individui in diverse fasi della filiera produttiva e da diverse metodologie di allevamento. La qualità morfologica è stata valutata confrontando la frequenza e le tipologie di anomalie nel numero e nella forma degli elementi scheletrici tra spigole e orate da allevamento e selvatiche, agli stessi stadi di sviluppo. La forma e il numero degli elementi scheletrici osservati nei selvatici, quindi, sono stati scelti come riferimento qualitativo. La scelta di analizzare la presenza di deformazioni scheletriche o di conte meristiche alterate come indicatore della qualità morfologica dei pesci allevati si basa sulla considerazione che si tratta degli effetti, oltre che di alterazioni genetiche, di condizioni ambientali in allevamento così diverse da quelle considerate specie- o stadio-specifiche, da alterare la capacità omeostatica dell'individuo a esprimere un corretto fenotipo anche in presenza di stress ambientale o nutrizionale. I pesci di qualità morfologica elevata, con basse frequenze di anomalie di sviluppo, possono

* Laboratorio di Ecologia Sperimentale ed Acquacoltura, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma 'Tor Vergata'

** Laboratorio Agritech - CRA-ING

quindi essere considerati come quelli allevati in condizioni di conformità ambientale alle esigenze specie-specifiche e quindi di maggior benessere per la specie in oggetto.

Le anomalie scheletriche sono considerate tra gli indicatori della qualità del prodotto allevato anche in una logica di impatto sul mercato del prodotto da acquacoltura: pesci provenienti dagli allevamenti che presentano forme anormali, pigmentazioni alterate o teratologie visibili esternamente inducono nei consumatori una certa diffidenza nei prodotti da acquacoltura e vanno quindi selezionati ed eliminati prima della loro immissione sul mercato. Rappresentano quindi anche un fonte di perdita della profittabilità economica del processo produttivo.

In questo studio sono riportati i risultati ottenuti analizzando la presenza e la tipologia di anomalie scheletriche in orate provenienti da allevamenti diversi e a differenti stadi di sviluppo. I dati ottenuti sono stati quindi analizzati utilizzando una tecnica di intelligenza artificiale, le Kohonen's Self-Organising Maps (SOMs) (Dayhoff, 1990; Kohonen, 2001; Verbeek et al., 2003) la cui applicazione a set di dati inerenti le anomalie negli elementi scheletriche è stata recentemente proposta (Russo et al., 2009; Russo et al., 2010) in orata e in cernia di scoglio, e che permette l'integrazione e l'elaborazione di più set di dati (anomalie scheletriche, conte meristiche, metodologia di allevamento,...).

MATERIALI E METODI

893 individui di orata appartenenti a 9 lotti diversi e campionati a diverse fasi della filiera produttiva sono stati sottoposti ad analisi. I dati relativi ai singoli lotti sono riportati in tabella 1. In particolare, sono stati analizzati:

- avannotti e giovanili provenienti da produzioni intensive nazionali (intensivo1 e intensivo2 in tabella 1) al termine dello svezzamento (S-I09) e del preingrasso (PRE_ING3 e PRE_ING);
- quattro diversi gruppi di giovanili provenienti da tre diversi lotti provenienti da un'avannotteria Croata (descritti in tabella 1 come CROAZIA 1, 2 e 3) e campionati alla fine dello svezzamento (FIN_AVA1 e AVA2) o del pre-ingrasso (PRE_ING1 e ING2);
- orate alla taglia commerciale da impianto intensivo a terra (COMM3) o in gabbie galleggianti (COMM1).

I giovanili sono stati fissati in Formalina al 10% in tampone fosfato (pH7,2; 0,13 M) mentre le orate a taglia commerciale sono state congelate.

CODICE IDENTIFICATIVO	DESCRIZIONE	N° INDIVIDUI	LT (mm)	LS (mm)
QT-PRE_ING1	fine preingrasso CROAZIA1	50	96.4	80.3
QT-PRE_ING2	fine preingrasso CROAZIA1	65	96.4	79.0
QT-FIN_AVA1	fine svezamento CROAZIA2	77	70	57
QT-FIN_AVA2	fine svezamento CROAZIA3	83	69	55
S-I09	fine svezamento intensivo1	299	38.1	31.7
QT-PRE_ING3	fine preingrasso intensivo1	19	216	180
QT-COMM3	commerciale intensivo1	40	276	228
QT-ING	fine preingrasso intensivo2 (impianto a terra – prima dell'ingrasso in gabbie galleg- gianti)	206	84.3	70.7
QT-COMM1	commerciale intensivo3 (gabbie galleggianti)	54	238	194

Tab. 1 *Descrizione dei campioni di orate analizzati*

Tutti gli individui sono stati radiografati (Picker X-Ray 6191 905-E control apparatus by Picker X-Ray Corp., Waite Manufacturing Division. Inc, Cleveland, Ohio, USA; 4min/5mAmp/80Kw, film AGFA Structurix D7 DW Ete).

Sulle lastre radiografiche sono state effettuate le conte meristiche e rilevata la presenza e la tipologia di eventuali deformazioni scheletriche, secondo il metodo illustrato in Russo et al., 2010. I dati ottenuti dai lotti di orate oggetto di questo studio sono stati quindi aggiunti a quelli analoghi contenuti nella banca dati del nostro Laboratorio e relativi ad altre 5.200 orate selvatiche e allevate, di diversa età, origine geografica e fase produttiva. È stata quindi creata una matrice dei dati binari (presenza: 1; assenza: 0) relativi alle deformazioni scheletriche e fornito un peso diverso alle deformazioni scheletriche: la frequenza di ogni anomalia è stata moltiplicata per 1 quando si trattava di anomalie gravi e 0.5 per le altre. Per anomalie gravi si intende qualsiasi deformazione scheletrica visibile all'osservazione esterna del pesce (scoliosi, cifosi, lordosi, deformazioni cefaliche). È stata quindi ricalcolata la frequenza di anomalie per ogni individuo e divisa per il valore massimo osservato: per ogni individuo si è ottenuto un punteggio standardizzato compreso tra 0 e 1. Quindi è stata costruita una matrice di valori medi delle frequenze di tutte le anomalie per ogni lotto. Questa matrice è stata utilizzata come input layer per addestrare una SOM (Kohonen's Self-Organising maps Kohonen, 2001) (per informazioni più dettagliate sulla modalità di applicazione delle SOMs ai dati relativi alle anomalie scheletriche, consultare Russo et al., 2010a; Russo et al., 2010b). Altre due matrici, contenenti i dati relativi alla metodologia di alleva-

mento utilizzata, e alle conte meristiche, sono state aggiunte successivamente come input layers aggiuntivi di informazione.

RISULTATI E CONCLUSIONI

L'addestramento della SOM con i dati relativi alle anomalie scheletriche ha fornito lo stesso ordinamento di quello ottenuto utilizzando i dati relativi ai caratteri meristici. Considerando che le conte meristiche sono state effettuate contando solo le variazioni nel numero delle vertebre, dei raggi e dei pterigiofori "sani" (privi cioè di qualsiasi anomalia nella forma o di fusione con altri elementi, che venivano invece conteggiate tra le deformazioni scheletriche), questo risultato indica che la presenza di anomalie nella forma degli elementi scheletrici è strettamente associata anche a variazioni nelle conte meristiche. Pertanto, lotti di orata caratterizzati da elevate variazioni nelle conte meristiche presentano anche elevate frequenze di anomalie nella forma degli elementi scheletrici, anche di quelli non meristici. Per brevità di esposizione, vengono di seguito descritti i risultati relativi alle sole anomalie scheletriche. Il risultato dell'applicazione delle SOMs è riportato in figura 1, dove i diversi pattern mal formativi osservati sono stati assegnati a un esagono specifico.

Come si può osservare analizzando gli istogrammi sono visibili basse frequenze e un minor numero di tipologie malformative negli esagoni situati sul lato sinistro delle tre file centrali. Mano a mano che ci si sposta verso il lato sinistro o verso l'alto o il basso, aumentano sia le frequenze che le tipologie osservate.

Analizzando la figura 2, dove sono state rappresentate graficamente le localizzazioni delle tipologie malformative presenti in ogni esagono e la relativa frequenza con diverse intensità di grigio (più scuro indica frequenze più alte e viceversa), si può osservare quanto segue:

- 1) non esistono esagoni che contengano lotti di orata completamente privi di anomalie (in figura 2 non esistono silhouette completamente bianche). Esiste un solo esagono con un'unica regione corporea interessata da anomalie: è il primo a sinistra della quarta fila, dove sono presenti anomalie nella pinna caudale. Questo è dovuto al fatto che la fusione degli ipurali è l'anomalia più diffusa nelle orate, anche selvatiche: si tratta comunque di una anomalia lieve, non visibile esternamente, e che non inficia in alcun modo le performances dell'individuo;
- 2) nelle righe superiori sono presenti lotti caratterizzati da anomalie diverse, ma che non insistono mai sull'intero apparato scheletrico: si tratta di un

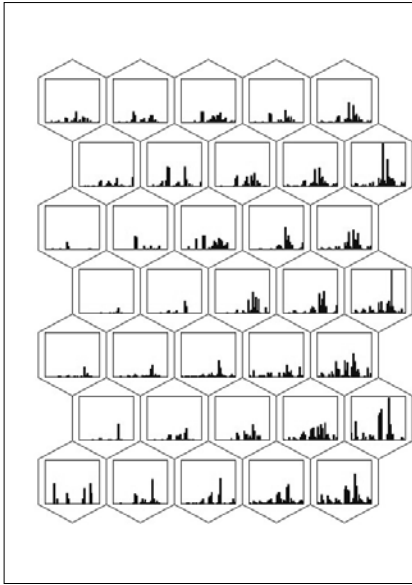


Fig. 1 Output dell'applicazione delle SOMs ai dati relativi alle anomalie scheletriche rilevate nelle orate oggetto di studio. Ogni esagono è caratterizzato da frequenze tipiche delle diverse anomalie. È possibile vedere come l'incidenza delle anomalie aumenti progressivamente a partire dagli esagoni posti nelle righe centrali della matrice e a sinistra (valori minimi) verso quelli situati nelle prime file di esagoni in alto e in basso e a destra

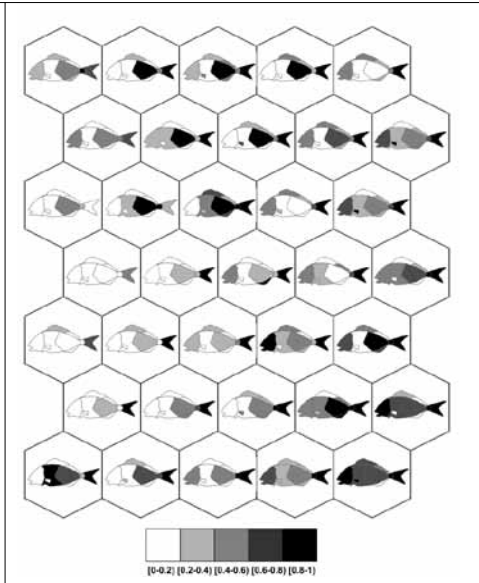


Fig. 2 Rappresentazione grafica dei risultati delle SOMs mostrati in figura 1. Invece degli istogrammi, sono state rappresentate con scale diverse di grigio la frequenza delle diverse anomalie nelle varie regioni del corpo

gruppo costituiti da lotti con pattern malformativi “misti” ma comunque abbastanza deformati;

- 3) l'ultima riga in basso e tutti gli esagoni situati nelle colonne di destra contengono individui con le incidenze più elevate di tutte (o quasi tutte) le tipologie osservate. In particolare, gli esagoni situati all'estremo destro inferiore contengono lotti che mostrano anomalie in tutte le regioni del corpo e con frequenze elevate. Si tratta dei lotti di peggiore qualità tra quelli analizzati in questo studio.

In figura 3 è riportata la stessa matrice di esagoni ottenuta dalla SOM ma con la localizzazione dei lotti di orata analizzati. Si può osservare che alcuni esagoni non contengono codici: ciò significa che le SOMs prevedono la possibilità di eventuali pattern malformativi non osservati però nei lotti in esame. I lotti

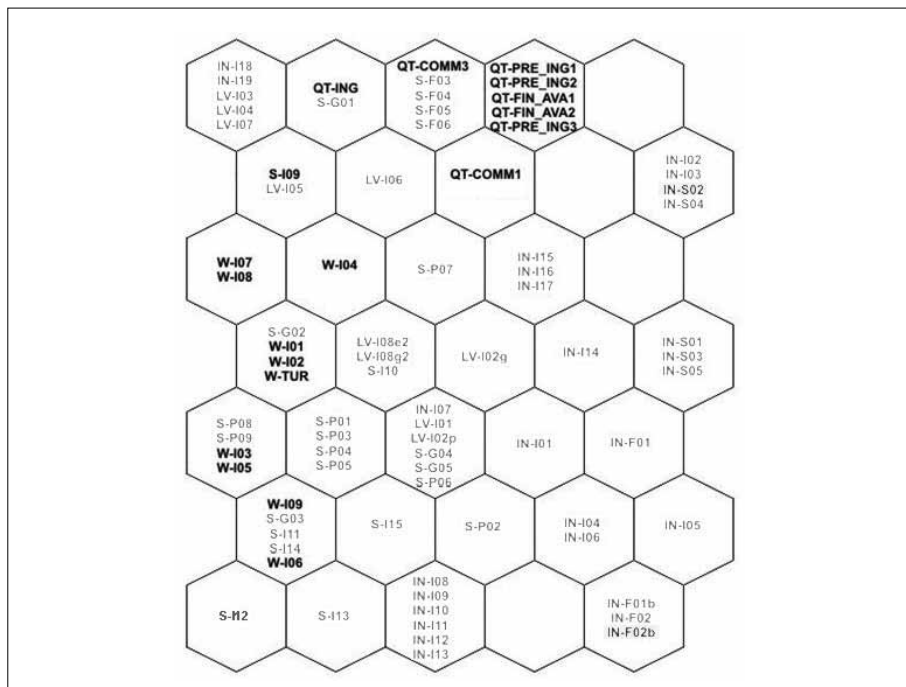


Fig. 3 Risultati dell'applicazione delle SOMs all'intero set di dati sulle anomalie scheletriche osservate in orate selvatiche (lotti in grassetto con codice che inizia con la lettera W) e in orate provenienti da diverse metodologie di allevamento e campionate durante diverse fasi della filiera produttiva. I codici in grassetto che non iniziano con la lettera W sono quelli oggetto di questo studio e descritti in tabella 1. Ulteriori spiegazioni sono riportate nel testo

selvatici (il cui codice inizia con la lettera W) e quelli oggetto di questo studio (codificati come riportato in tabella 1) sono evidenziati in grassetto. Come si può osservare, 7 dei 9 lotti di orate sono posizionati negli esagoni situati nella riga superiore della matrice, in tre esagoni tra loro contigui: ciò significa che a prescindere dall'impianto di provenienza e della fase della filiera in cui sono stati campionati questi lotti presentano pattern malformativi molto simili tra loro. Tale somiglianza è maggiore tra i lotti campionati prima della fase di ingrasso, che si dispongono tutti nello stesso esagono in alto a sinistra. Questi lotti di giovanili sono caratterizzati dalla presenza di frequenze elevate (range compreso tra 0,8-1) di individui con anomalie nella regione delle vertebre caudali e nella pinna caudale e anomalie nelle pinne dorsali e nelle vertebre caudali. Tutte le regioni anteriori del corpo, compresa quella cefalica, sono prive di anomalie. Si tratta dei 4 lotti provenienti dalla Croazia e da un lotto italiano. Un altro lotto di giovanili campionati alla fine del preingrasso (QT-ING, origine Italia-

na, campionato prima di essere seminato in gabbie galleggiante per la fase di ingrasso) si colloca sempre nella prima riga ma nel secondo quadrante a sinistra: si differenzia dai 5 lotti di giovanili appena descritti per l'assenza di anomalie nella seconda pinna dorsale e nella pinna anale. Infine, il 7° lotto localizzato sulla prima riga della matrice, il lotto QT-COMM3, costituito da individui campionati alla fine della fase di ingrasso (taglia commerciale) attuata nello stesso impianto dove sono stati campionati i lotti PRE ING1, PRE ING2, FIN AVA1, FIN AVA2 e PRE ING3, situati nell'esagono a esso contiguo a destra, presenta anomalie nelle pinne pettorali, nella regione cefalica e nella pinna anale, oltre alle regioni risultate deformate negli altri lotti (vertebre emali, pinna caudale, pinne dorsali, vertebre caudali). In sostanza, tutti i lotti che sono stati campionati nello stesso impianto si collocano in esagoni vicini, mostrando un chiaro pattern impianto-specifico. La sola eccezione è il lotto S-I09, prodotto nello stesso impianto e campionato alla fine della fase di svezzamento, risultato dell'applicazione di una metodologia di allevamento larvale semi-intensiva, diversamente dagli altri lotti di giovanili allevati secondo la metodologia intensiva classica. Questo lotto è caratterizzato da una minore frequenza di anomalie nelle regioni delle vertebre emali e caudali ma dalla presenza di alcune malformazioni cefaliche (primo esagono a sinistra della seconda riga della matrice).

Infine, il lotto campionato al termine dell'ingrasso in gabbie galleggianti (lotto QT-COMM1) si colloca al centro della seconda riga ed è caratterizzato dalla presenza di anomalie nelle pinne pettorali e dorsali e nelle vertebre caudali e da elevate frequenze di anomalie nelle vertebre emali e nella pinna caudale. Sono completamente assenti deformazioni delle vertebre craniali e pre-emali e nella regione cefalica.

CONCLUSIONI

In conclusione, i risultati di questo studio hanno permesso di evidenziare quanto segue:

- 1) lotti di orata caratterizzati da elevate variazioni nelle conte meristiche presentano anche elevate frequenze di anomalie nella forma degli elementi scheletrici, anche di quelli non meristici;
- 2) nei lotti selvatici non sono mai presenti anomalie nelle pinne pettorali, nella seconda pinna dorsale, nella pinna anale e nella regione cefalica, a qualsiasi taglia;
- 3) nell'impianto a terra campionato è stato osservato un pattern di anomalie scheletriche impianto-specifico, a prescindere dall'età o dalla provenienza dei campioni (Croazia o interna);

- 4) durante la fase di ingrasso in gabbie galleggianti si osserva la comparsa di anomalie in regioni del corpo (seconda pinna dorsale, pinne pettorali) precedentemente libere da anomalie;
- 5) la taglia commerciale da impianto intensivo è caratterizzata, nei due impianti utilizzati per i campionamenti, dalla presenza di anomalie nelle pinne pettorali;
- 6) i lotti campionati, pur presentando un carico maggiore e un numero maggiore di tipologie malformative di quelli osservati nei selvatici, sono risultati di qualità migliore rispetto a quella osservata in altri lotti di orata provenienti da allevamenti intensivi (localizzati negli esagoni posti in basso a destra nella matrice).

Infine, l'applicazione delle tecniche di intelligenza artificiale (SOMs) apre nuovi scenari nella comprensione delle interazioni tra ambiente di allevamento e fenomeni di instabilità di sviluppo rappresentati dall'insorgenza di anomalie scheletriche. Infatti, è stato possibile correlare dati qualitativi (morfologici) con dati produttivi, trovando associazioni tra metodiche di allevamento o origine dei campioni e qualità morfologica. Si tratta di una prima applicazione: il passo successivo, attualmente in corso, sarà quello di correlare questi dati a quelli relativi ad aspetti fisiologici (stress), nutrizionali e organolettici.

BIBLIOGRAFIA

- DAYHOFF J.E. (1990): *Neural network architectures – an introduction*, New York, Van Nostrand Reinhold.
- KOHONEN T. (2001): *Self-Organizing Maps*, 3rd, extended edition, Springer, Berlin, p. 501.
- RUSSO T., BOGLIONE C., DE MARZI P., CATAUDELLA S., (2009): *Feeding preferences of dusky grouper (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834) larvae in semi-intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species*, «Aquaculture», 289, pp. 289-296.
- RUSSO T., PRESTINICOLA L., SCARDI M., PALAMARA E., CATAUDELLA S., BOGLIONE C. (2010a): *Progress in modeling quality in aquaculture: an application of the Self-Organizing Map to the study of skeletal anomalies and meristic counts in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L., 1758)*, «J. Appl. Ichtyol.», 26, pp. 306-365.
- RUSSO T., SCARDI M., BOGLIONE C., CATAUDELLA S. (2010b): *Rearing methodologies and morphological quality in aquaculture: an application of the Self-Organizing Map to the study of skeletal anomalies in dusky grouper (*Epinephelus marginatus* Lowe, 1834) juveniles reared under different methodologies*, «Aquaculture», in press.
- VERBEEK J.J., VLASSIS N., KROSE, B. (2003): *Efficient Greedy Learning of Gaussian Mixture Models*, «Neural Computation», 5 (2), pp. 469-485.