

Inv. Pesq.	39 (2)	Págs. 417-428	octubre 1975
------------	--------	---------------	--------------

Tecniche e metodiche generali di riproduzione artificiale dell'orata, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae)*

GIANLUIGI ALESSIO, GILBERTO GANDOLFI
E BRUNO SCHREIBER **

INTRODUZIONE

La riproduzione artificiale dei pesci eurialini, soprattutto dell'orata, specie di notevole pregio e valore commerciale, il cui novellame di rimonta, in progressiva diminuzione, è divenuto negli ultimi anni pressochè irreperibile per le semine nelle valli da pesca salmastre, si inserisce nel quadro della valorizzazione e del potenziamento dell'acquacoltura, intesa ed impostata come sfruttamento di nuove fonti ad alta potenzialità proteica.

Per risolvere tale impellente problema, alcune sperimentazioni sono state fatte da LUMARE e VILLANI (1970, 1971a e b, 1973) e da BARNABE' e RENE' (1973), limitate tuttavia al ristretto ambito di laboratorio. ALESSIO e BRONZI (1974a e b), ALESSIO (1974a e b), ALESSIO e GANDOLFI (1974) nell'autunno 1973 hanno invece messo a punto e perfezionato, con precisi intenti di applicazione commerciale su larga scala dei risultati acquisiti, le tecniche di induzione maturativa, incubazione delle uova ed allevamento delle larve ed avannotti di orata, già sperimentate con successo nel 1972. Nell'autunno del 1974 si è infine passati al tentativo di produzione massiva di avannotti da semina.

* Recibido el 11 de noviembre de 1974.

** Istituto di Zoologia, Università di Parma (Italia). Ricerche eseguite con il contributo del C.N.R.

MATERIALE E METODO

I riproduttori, raccolti nelle Valli Venete al momento della migrazione genetica e trasportati con particolari accorgimenti, sono stati stabulati in vasche opportune. Durante i trattamenti, consistenti in iniezioni standardizzate volumetricamente nella quantità prefissata di 0,5 ml di soluzione fisiologica/kg di peso del riproduttore, la salinità dell'acqua è stata aumentata fino a valori del 37-38 ‰.

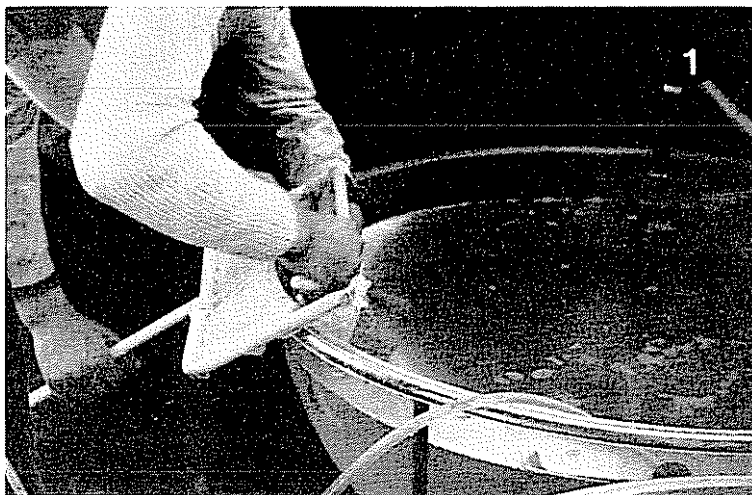


FIG 1 Iniezione ad un riproduttore

Sono stati impiegati vari tipi di ormoni gonadotropi, ma le migliori risposte ovulatorie sono state ottenute iniettando, in due o tre volte, rispettivamente al 1.^o—3.^o, 4.^o, 5.^o—6.^o, 7.^o, 8.^o giorno, dosi crescenti di HCG (500—1000—2000 UI). Le iniezioni sono state praticate alla base posteriore della pinna dorsale, per via intramuscolare (fig. 1). Prima dell'emissione spontanea dei prodotti sessuali (fig. 2), si sono verificate frequenti escrezioni di depositi di calcio; l'ovulazione è incominciata di norma fra il 6.^o e l'11.^o giorno dall'inizio dei trattamenti, ma si sono registrati anche casi di leggero anticipo o ritardo, in relazione allo stato fisiologico di maturità dell'ovario. Le ovulazioni spontanee successive, per ogni singolo riproduttore, non sono mai state superiori a sei.

Di norma le femmine trattate non hanno subito alcuna spremitura, per evitare loro traumi meccanici talora esiziali. Solamente nei casi di pronunciata ritenzione delle uova si è proceduto alla spremitura. Si sono ottenute uova fecondabili anche da soggetti deceduti già da 1—4 e 5 ore.

Per lo più i maschi non sono stati trattati, perchè già fluenti in massima parte. Nei casi di mancata emissione di sperma si è invece praticata loro un'unica iniezione, di 500 o di 1000 UI di HCG.

Si è osservato che, se durante i trattamenti la temperatura dell'acqua scende al di sotto di 8° — 9° C, si verifica una mortalità totale dei riproduttori. Si è potuto così concludere che, nel periodo delicato della riproduzione, l'orata è sensibilmente stenoterma.

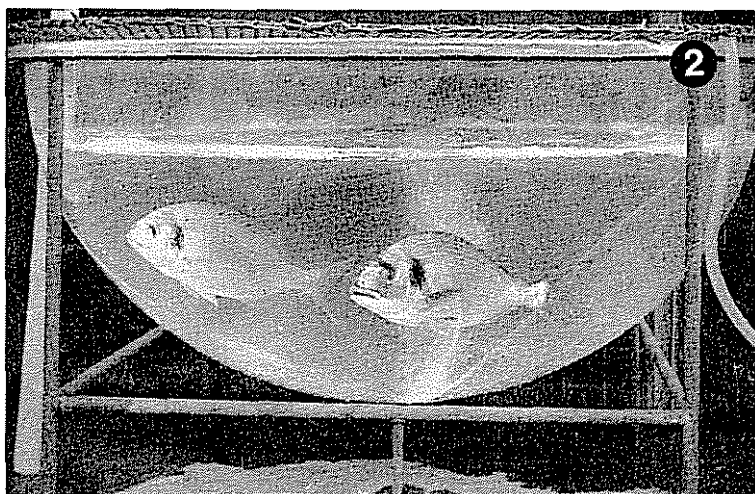


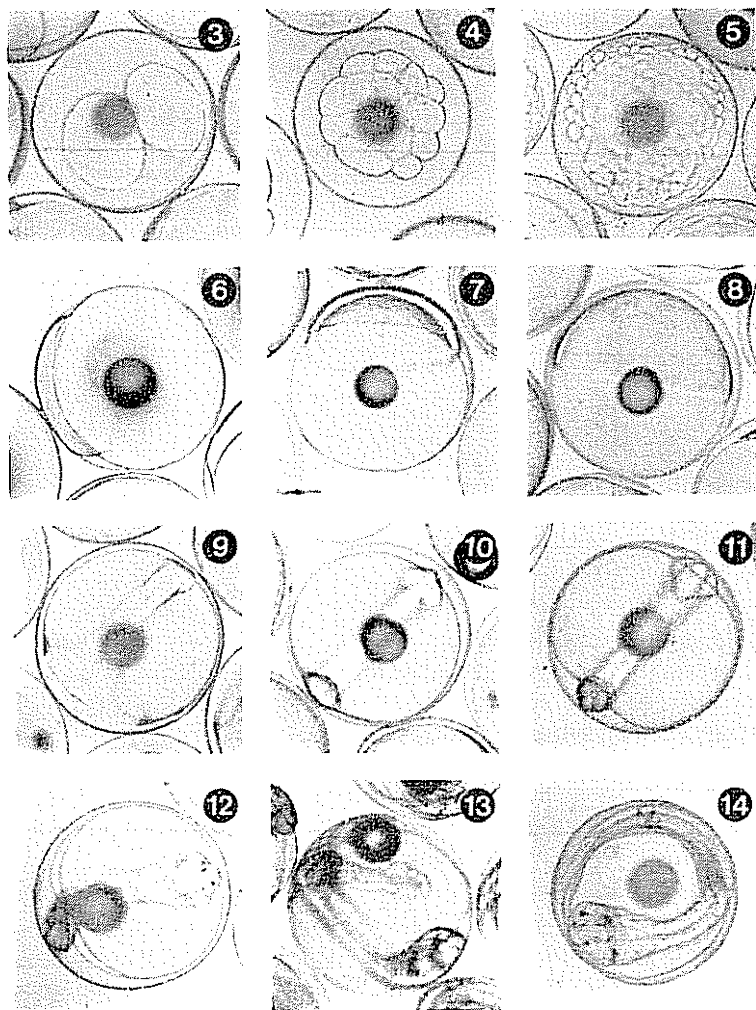
FIG. 2. Femmina e maschio di orata, trattati, poco prima della fase riproduttiva.

RISULTATI

I migliori risultati, quantitativamente e qualitativamente (in funzione cioè della sopravvivenza larvale), sono stati ottenuti (ALESSIO e BRONZI, 1974a) con individui prestabulati per lungo tempo, e perciò ormai adattati alla cattività ed all'alimentazione artificiale. Gli individui di cattura e di trasporto recente, invece, pur rispondendo positivamente all'induzione maturativa, hanno dato uova numericamente scarse e di bassa qualità.

Le uova mature di orata, appena emesse e fecondabili, sono sferiche, cristalline e trasparenti, prive di qualsiasi scultura superficiale; hanno un diametro medio di $930\ \mu$ circa e sono flottanti grazie alla presenza di una goccia oleosa di $234\ \mu$ circa di diametro (ALESSIO e BRONZI, 1974b). Raccolte con retini a mano, a maglie di $200\ \mu$, e travasate in beaker, esse sono state fecondate «a secco» con poche gocce di sperma ottenuto per compressione addominale dei maschi. Dopo 5 min è stata aggiunta acqua marina sterile, a salinità del 37-40 ‰, e dopo 15 min si è pro-

ceduto ad un ripetuto lavaggio delle uova, distribuite su un piccolo setaccio, onde rimuovere lo sperma ed il liquido ovarico in eccedenza ed ormai inutili. Mentre le uova precipitate a fondo (non fertilizzate) sono state eliminate, le uova surnatanti sono state distribuite, a seconda del loro numero, in differenti incubatoi di vario tipo (conici, cilindro-conici, emisferici ecc.) e di diversa capacità.



FIGS. 3, 4, 5 Segmentazione dell'uovo fecondato di orata. — FIG. 6. Formazione del blastodisco — FIGS. 7, 8 Stadi di gastrula — FIG. 9 Stadio di neurula. — FIGS. 10, 11 Sviluppo dell'embrione. — FIGS. 12, 13, 14 Completamento della fase embrionale.

Dopo 1.30-1.50 h dalla fecondazione è stato possibile osservare al microscopio l'inizio della segmentazione e valutare la percentuale di fecondazione che, in media, si è aggirata intorno a valori del 68 %.

ALESSIO e GANDOLFI (1974) descrivono lo sviluppo embrionale e post-natale dell'orata, e ne riportano i tempi relativi di osservazione. Lo sviluppo dell'uovo fecondato procede attraverso le seguenti tappe:

- a) Segmentazione (figs. 3-4-5).
- b) Formazione del blastodisco (fig. 6).
- c) Gastrulazione (figs. 7-8).
- d) Neurula (fig. 9).
- e) Formazione del corpo embrionale (figs. 10-11).
- f) Perfezionamento embrionale (figs. 12-13-14).
- g) Schiusa (fig. 15).

La durata delle incubazioni, a $20^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ di temperatura, è stata leggermente superiore a 51 h; la percentuale di schiusa si è aggirata intorno al 33 %. La salinità dell'acqua usata è variata da 37 a 40 ‰; in prove di incubazione a minor salinità (34 ‰) tutte le uova sono precipitate a fondo, degenerando più o meno rapidamente.



FIG. 15. Nascita della prelarva di orata

Per carenza di adeguati quantitativi idrici, si è dovuto spesso ricorrere all'incubazione delle uova in «circuiti chiusi», sostituendo cioè l'acqua periodicamente e solo parzialmente. La polluzione che da tale sistema è derivata, ha favorito, talora, lo sviluppo anormale di infezioni batteriche altamente patogene. È stato perciò necessario ricorrere a pretrattamenti dell'acqua nuova di immissione ed a trattamenti dell'acqua di incubazione. I migliori tamponamenti batterici sono stati ottenuti grazie all'azione combinata dell'aerazione, ozonizzazione, aggiunta di antibiotici e di fitoplancton. Le alghe, inoltre, si sono rivelate un ottimo stabilizzatore del pH, ed hanno contribuito al decremento della concentrazione di ammoniacale, nitriti, nitrati, fosfati e solfati derivanti dalla decomposizione delle uova in necrosi.

La mortalità delle uova in incubazione è stata notevolmente ridotta nel 1974, con benefici effetti anche sulla sopravvivenza larvale, facendo ricorso all'incubazione ed al mantenimento a «ciclo aperto».

Per l'alimentazione delle larve sono state allestite colture massive di fito e zooplancton, in vasche emisferiche di metacrilato da 200 e da 600 litri di capacità. Da ciascuna emisfera di 600 litri si è ottenuta una produzione giornaliera di circa dieci milioni di *Brachionus plicatilis* oppure di circa un milione di Copepodi (*Euterpina acutifrons* o *Tisbe furcata*). L'incubazione di 500 g di uova di *Artemia salina* ha portato alla schiusa di circa 100-110 milioni di nauplii entro 40 h circa (ALESSIO, 1974a).

Lo zooplancton, prima di venire somministrato, è stato selezionato per dimensione, mediante retini a maglie calibrate, in relazione all'ampiezza dell'apertura orale dei vari stadi di sviluppo larvali.

Fino al 65.^o-75.^o giorno di allevamento la temperatura è stata mantenuta a $20^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$, e la salinità non è mai stata inferiore al 37 ‰. In seguito, invece, la temperatura è stata uguale a quella esterna e l'acqua è stata progressivamente dolcificata fino a salinità del 26-30 ‰.

Durante l'allevamento in tutte le vasche è stata erogata una modica aerazione; il ricambio idrico totale era ottenuto in circa 24-36 ore.

Lo sviluppo postnatale dell'orata comprende una fase prelarvale, una fase larvale ed una fase di avannotto. Durante la fase prelarvale il nutrimento è assicurato dalle riserve del tuorlo e della goccia oleosa. Il sacco vitellino, molto pronunciato e prominente nella prelarva di un giorno di età (fig. 16) è in seguito riassorbito progressivamente.

L'alimentazione larvale è iniziata pertanto dopo il 4.^o giorno di vita, contemporaneamente al perfezionamento della funzionalità visiva e dell'apertura orale larvale (fig. 17). La distribuzione del cibo a tale età, in cui non tutte le larve hanno completato lo sviluppo ottico ed orale, e presentano ancora un tratto intestinale inefficiente al riassorbimento digestivo, è in stretta relazione al «tempo di condizionamento» delle larve sul cibo offerto. Tale periodo di latenza tra l'offerta del cibo e l'inizio effettivo dell'alimentazione da parte degli animali, varia, per l'orata, da 30 a 50 ore, e sembra essere anche strettamente dipendente dalla temperatura di allevamento. Nel caso di somministrazioni di cibo prima del 4.^o giorno, l'esame del contenuto intestinale non ha rivelato significative differenze dai «controlli» alimentati a tale età. Sono stati distribuiti, in tale periodo, Rotiferi (in numero di 20-30/ml) e nauplii di *Euterpina* o *Tisbe* (in numero di 8-10/ml).

A partire dall'11.^o giorno sono stati somministrati anche adulti di *Euterpina* (in numero di 4-6/ml), e dopo il 14.^o giorno anche adulti di *Tisbe* (in numero di 3-5/ml). Nauplii di *Artemia* (in numero di 5-8/ml) sono stati offerti dopo il 16.^o giorno; mentre gli adulti di *Artemia*, uni-

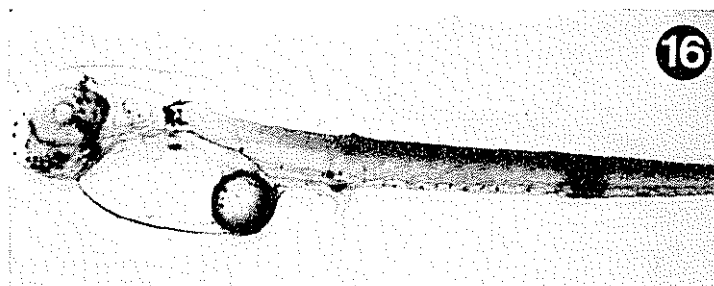


FIG. 16 Prelarva di orata, di un giorno di età.

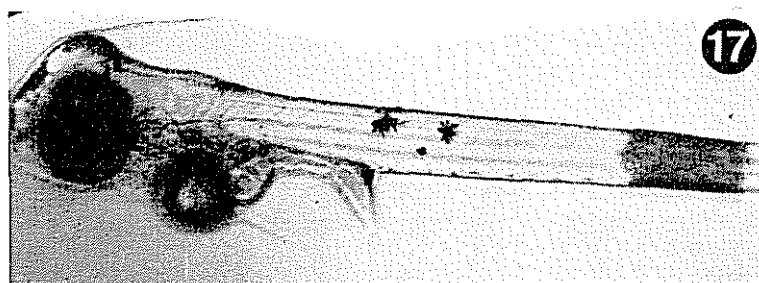


FIG. 17 Larva di orata, di quattro giorni di età.

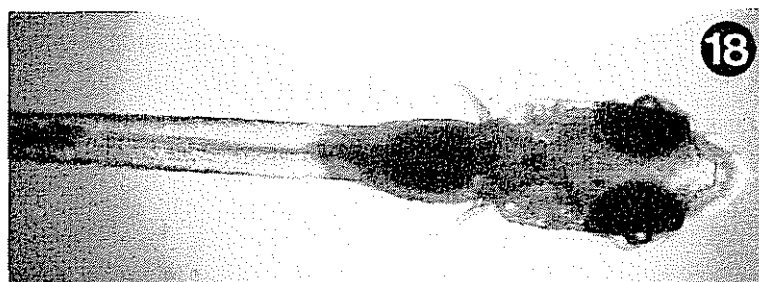


FIG. 18 Orata di quaranta giorni di età, nel periodo della metamorfosi in avannotto

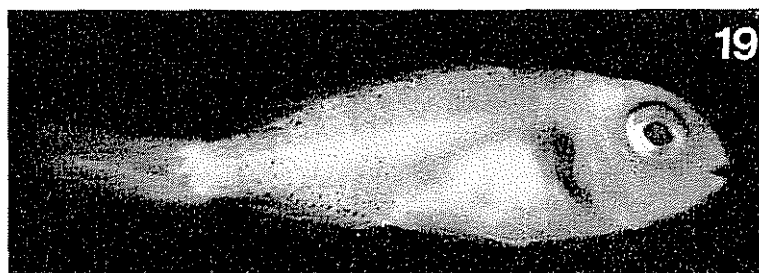


FIG. 19 Avannotto di orata, di quattro mesi di età.

tamente a pellets, bivalvi e pesce fresco triturato sono stati somministrati oltre il 60.^o giorno.

Entro il 50.^o giorno di vita, nelle condizioni descritte, avviene per tutte le larve il passaggio di fase, con la metamorfosi in avannotto. Nella fig. 18 si osserva una larva di 40 giorni di età in metamorfosi.

La percentuale di sopravvivenza, calcolata al 90.^o giorno di età rispetto al numero di individui nati, è variata da 0,1 % al 16 %. Lo sviluppo degli avannotti è stato seguito fino al quarto mese di età (fig. 19).

Per la fase di alimentazione ed allevamento delle larve e degli avannotti di orata si sono condotte indagini particolari su alcuni importanti parametri (ALESSIO, 1974b). I risultati e le osservazioni possono essere così sintetizzati:

a) *SALINITA'*. Alle basse salinità le larve precipitano a fondo, morendo. Con lo sviluppo aumenta invece la loro capacità di adattamento.

b) *TEMPERATURA*. A seconda dello stadio di sviluppo, gli sbalzi termici improvvisi di 4°-5° C risultano più o meno letali. La sensibilità termica diminuisce con lo sviluppo ed è più accentuata nei riguardi degli abbassamenti di temperatura.

c) *ILLUMINAZIONE*. Essa giuoca un ruolo importante nel permettere la localizzazione e la cattura del cibo. Infatti le larve cacciano con successo solo quando sussista un adeguato contrasto fra il fondo scuro delle vasche e la superficie illuminata dell'acqua.

d) *RICAMBIO IDRICO*. Nelle prime fasi larvali è preferibile un ricambio più lento, mentre in seguito il ricambio totale dovrebbe effettuarsi in circa 24 ore.

e) *AERAZIONE*. Essa è indispensabile per mantenere elevato il livello dell'ossigeno disciolto, soprattutto durante le ore notturne, quando è interrotta l'attività fotosintetica algale. Inoltre favorisce l'ossidazione delle sostanze organiche in disfacimento.

f) *PREFERENZE ALIMENTARI*. Sono orientate, durante la fase larvale, principalmente verso i cibi vivi; nella fase di avannotto vengono accettati anche cibi inerti, di origine animale. Sono comunque disdegnate le farine vegetali e i loro derivati.

g) *CONSUMO GIORNALIERO INDIVIDUALE*. Si è calcolata l'equivalenza nutritiva seguente: 1 nauplio di *Artemia* = 5 nauplii di *Copepod* = 1,5 adulti di *Tisbe* = 2 adulti di *Euterpina* = 6 *Brachionus*. Il consumo giornaliero individuale (fig. 20) è di circa 30-70 Unità-*Brachionus* al 4°-5° giorno; di 1200-1600 Unità-*Brachionus* al momento della metamorfosi.

h) *ACCRESIMENTO*. Ha un andamento sigmoide, ed è il risultato dell'apporto energetico endogeno del vitello e della goccia oleosa, e dell'apporto esogeno dovuto alla nutrizione.

i) *MORTALITA LARVALE* (fig. 21). Si verifica soprattutto:

- fra il 1.° e l'8.° giorno (massimi al 3.°, 4.°, 5.° e 6.° giorno), in concomitanza al riassorbimento del tuorlo.
- fra il 10.° ed il 13.° giorno (massimo al 12.° giorno), in concomitanza al riassorbimento della goccia oleosa.

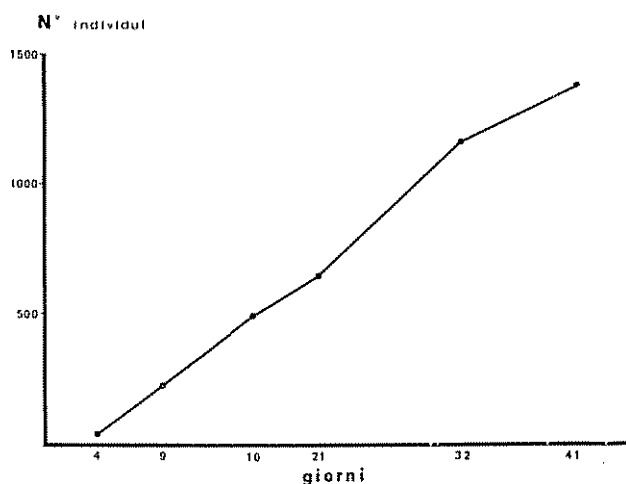


FIG. 20 Consumo giornaliero individuale di *Brachionus* da parte della larva di orata.

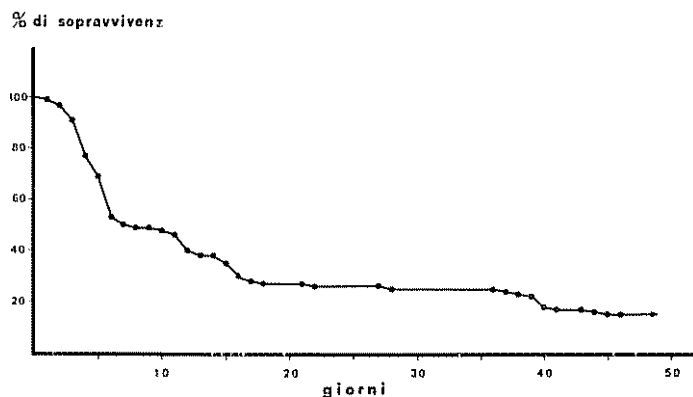


FIG. 21 Percentuale di sopravvivenza, a varie età, durante la fase larvale.

- fra il 15.^o ed il 18.^o giorno (massimo al 16.^o giorno), in concomitanza allo sviluppo del fegato.
- fra il 37.^o ed il 45.^o giorno (massimo al 40.^o giorno), in concomitanza alla formazione della vescica natatoria.

Le cause della mortalità larvale sono in gran parte sconosciute, poichè vi incidono numerosissimi fattori la cui portata ed il cui peso non sono ancora stati pienamente posti in luce.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti e le osservazioni svolte negli esperimenti di riproduzione artificiale dell'orata inducono a concludere che è possibile fin da ora passare con successo alla fase pratica di produzione intensiva di avannotti da semina. Tale maggior disponibilità di novellame potrebbe, almeno in parte, risolvere gli annosi problemi della vallicoltura e della conduzione delle acque di tipo salmastro.

RIASSUNTO

La maturazione e l'ovulazione di *Sparus aurata* (L.) sono state indotte mediante due o tre iniezioni intramuscolari di dosi crescenti di HCG (500-1000-2000) UI praticate con tempi di latenza diversi in rapporto allo stato di maturità ovarica.

Le uova ottenute, fecondate a secco ed incubate in differenti condizioni, sono schiuse, in media, per circa il 33 %.

La percentuale di sopravvivenza degli avannotti, calcolata al 90.^o giorno di età, è oscillata da 0,1 % al 16 %.

Si sono inoltre studiate e messe a punto le tecniche per il mantenimento delle migliori condizioni di allevamento e di alimentazione delle larve e degli avannotti, nella prospettiva di un'applicazione industriale dei risultati acquisiti.

SUMMARY

TECHNIQUES AND METHODS FOR ARTIFICIAL BREEDING OF GILTHEAD-BREAM, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae)

Through intramuscular injection of two-three increasing doses (500, - 1000, - 2000 IU) of HCG, gonadal maturation and spawning has been induced in gilthead-breams caught into the Venetian «Valli». The hormone injections have been performed with different latency-times according to the developmental stage of the ovaries.

The eggs thus obtained were dry-fertilized and incubated under different environmental conditions. Hatching success has been on average around 33 %.

Fry viability percentage, calculated at the 90th day, varied between 0,1 % and 16 %.

Furthermore techniques have been investigated and perfected for keeping as far as possible under optimal conditions the larvae and fry, for which also the best foods have been tested suitable for industrial application of our results.

RÉSUMÉ

TECHNIQUES ET MÉTHODES GÉNÉRALES POUR LA REPRODUCTION CONTRÔLÉE DE LA DAURADE, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae).

La maturation et l'ovulation de femelles de daurade, capturées dans les «Valli» vénitiennes, ont été induites à la suite de deux-trois injections intramusculaires de HCG, en doses croissantes (500, - 1000, - 2000 UI). Les temps de latence entre les injections ont été relatifs au développement ovarien.

En moyenne, environ le 33 % des œufs obtenus, fécondés à sec et incubés en conditions différentes, ont éclos.

Le pourcentage de survie des alevins, calculé au quatre-vingt-dixième jour, a été compris entre 0,1 et 16 %.

En outre, on a étudié et déterminé les meilleures techniques et les conditions optimales pour l'élevage et l'alimentation des larves et des alevins, en perspective d'application commerciale des résultats obtenus.

RESUMEN

TÉCNICAS Y MÉTODOS GENERALES DE REPRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE LA DORADA, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae).

La inducción a la maduración y ovulación de la dorada fue obtenida mediante dos o tres inyecciones intramusculares con dosis crecientes de HCG (500, - 1000, - 2000 UI). El tiempo que pasó entre las inyecciones estuvo en relación al estado de madurez de los ovarios.

Los huevos obtenidos y fecundados en seco e incubados en distintas condiciones, eclosionaron en una media, aproximada del 33 %.

La supervivencia de los alevines fue calculada en el 90.º día de edad, y osciló desde el 0,1 % al 16 %.

Se estudiaron también y se pusieron a punto las técnicas para el mantenimiento de las mejores condiciones de crianza y de alimentación de las larvas y de los alevines, en previsión de una aplicación industrial de los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALESSIO, G. e BRONZI, P. — 1974a. Riproduzione artificiale di orata, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae): 1.º Reperimento, trasporto, stabulazione e trattamenti ormonali di riproduttori cresciuti nelle Valli Venete. *Ateneo Parmense, Acta Nat.*, 10: 187-204.
- ALESSIO, G. e BRONZI, P. — 1974b. Artificial reproduction of gilthead-bream, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae): 2.º The artificial insemination, incubation and hatching of eggs obtained by hormone induced ovulation. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, in stampa.

- ALESSIO, G. — 1974a. Riproduzione artificiale di orata, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae): 3.° Produzione su vasta scala di fito e zooplancton per l'alimentazione delle larve e degli avannotti. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, in stampa.
- ALESSIO, G. e GANDOLFI, G. — 1974. Riproduzione artificiale di orata, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae): 4.° Sviluppo embrionale e postnatale. *Mem. Ist. lombardo Sci. Lett.*, 26, 95-132.
- ALESSIO, G. — 1974b. Riproduzione artificiale di orata, *Sparus aurata* (L.) (Osteichthyes, Sparidae): 5.° Primi risultati sull'allevamento ed alimentazione delle larve e degli avannotti. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, in stampa.
- BARNABÉ, G. e RENÉ, F. — 1973. Reproduction contrôlée et production d'alevins chez la Dorade *Sparus auratus* Linné. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 276, Série D, 1621-1624.
- LUMARE, F. e VILLANI, P. — 1970. Contributo alla conoscenza delle uova e dei primi stadi larvali di *Sparus aurata* (L.). *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 38: 364-369.
- — 1971a. Preliminary report on induced spawning and artificial fertilization of *Sparus aurata*. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, 26: 109-112.
- — 1971b. Prime esperienze di fecondazione artificiale sull'orata (*Sparus auratus*). *Riv. It. Piscic. Ittiop.*, A VI, N. 4: 95-97.
- — 1973. Maturità sessuale indotta e fecondazione artificiale in *Sparus aurata* (L.). *Inv. Pesq.*, 37 (1): 57-71.