

INTERREG VI-A ITALIA SLOVENIJA 2021-2027

BeBlue Beyond Bluegrass:

Rafforzare l'agroalimentare sostenibile mediante l'acquaponica

Krepitev trajnostne agroživilske proizvodnje z akvaponiko

D1.2.1 Acquaponica marina: linee guida della tecnologia/

INTERREG VI-A ITALIA SLOVENIJA 2021-2027

Bando di Capitalizzazione/ Poziv za Kapitalizacijo N. 01/2022R

Project code: ITA-SI0100069 BeBlue

Start date: September 1st, 2023 – Duration 24 months

Partner di progetto/Projektni partnerji:

Il progetto BeBlue è co-finanziato dall'Unione europea nell'ambito del Programma Interreg VI-A Italia-Slovenia.

Projekt BeBlue sofinancira Evropska unija v okviru Programa Interreg VI-A Italija-Slovenija.



Università
Ca' Foscari
Venezia



UNIVERZA V LJUBLJANI
University of Ljubljana



www.ita-slo.eu/BeBlue

Progetto/ Projekt:	Interreg Italia – Slovenia BeBlue – Beyond Bluegrass
No del Progetto / Številka projekta:	ITA-SI0100069
WP	WP1 - Oltre Bluegrass: digitalizzazione e diversificazione dei prodotti / Nadaljevanje Bluegrass: digitalizacija in diverzifikacija proizvodov
Attività	A2.1 Test di nuovi prodotti: l'acquaponica marina
Deliverable	D1.2.1 /
Versione / različica:	1
Data di invio / Datum odpreme:	
Partner responsabile / Odgovorni partner:	UNIVE
Autori/ Avtorji:	Francesco Cavraro, Matteo Bolzonella, Marco Francese, Caterina Garbin, Matteo Maglitta, Joseph Safi, Roberto Pastres.

Tipo di Deliverable / Vrsta končnega izdelka		
R	Documento, Report / Dokument, poročilo	X
DEM	Dimostratore, pilota, prototipo - Demo, pilotni projekt, prototip	
DEC	Websites, videos, etc. / Spletne strani, videoposnetki itd.	
OTHER		

Livello di divulgazione / Stopnja razširjanja		
PU	Pubblico – Javni	X
CO	Confidenziale, solo per i partners di progetto, il segretario tecnico e il Comitato di gestione del programma / zaupno, samo za projektne partnerje, tehničnega sekretarja in odbor za upravljanje programa	

Approvazione del deliverable / Odobritev izročka		
Approvato internamente Interno odobreno		
Approvato dal WP Leader Odobril WP Leader		
Approvato dal coordinatore Odobril koordinator	Roberto Pastres (UNIVE)	

Contatti del coordinator / Kontakti koordinatorja	
Project Coordinator Name	Prof. Roberto Pastres
Project Coordinator Organization	Università Ca' Foscari di Venezia
Address	Via Torino 155, 30172, Mestre (VE) - Italia
E-mail	pastres@unive.it
Project web-site	https://www.ita-slo.eu/it/beblue

BEBLUE IN SINTESI.....	5
LISTA DEGLI ACRONIMI - SEZNAM AKRONIMOV	6
INDICE DELLE FIGURE	7
INDICE DELLE TABELLE	8
SOMMARIO	9
1. INTRODUZIONE	10
1.1 Scopo del documento	10
1.2 Articolazione del deliverable	11
2. L'IMPIANTO IP-UNIVE E IL SUO SISTEMA DI MONITORAGGIO	12
3. SINTESI DEI RISULTATI.....	22
3.1 Variabili biotiche e principali forzanti	22
3.2 Variabili abiotiche	29
3.3 Test ecotossicologici.....	31
3.4 Consumi energetici.....	33
4. LINEE GUIDA PER L'ACQUAPONICA MARINA.....	35
4.1 Il sistema di monitoraggio	35
4.2 Bilancio di Azoto e Potenzialità produttive.....	38
4.3 Consumi energetici.....	39
5. CONCLUSIONI	40
6. Bibliografia	42
7. APPENDICE A.....	43
INTRODUZIONE.....	43
CONTESTO E METODOLOGIA	44
APPLICAZIONE PRATICA	45
MANTENIMENTO DEGLI ORGANISMI TEST	47
PIANO DI CAMPIONAMENTO	48
ANALISI STATISTICA	49
RISULTATI.....	50
CONCLUSIONI	63

BeBlue Beyond Bluegrass

Rafforzare l'agroalimentare sostenibile mediante l'acquaponica

D1.2.1 Acquaponica marina: linee guida della tecnologia

(Versione in italiano)

BEBLUE IN SINTESI

BeBlue - Beyond Bluegrass, contribuisce al raggiungimento dell'obiettivo specifico SO2.6 del programma di cooperazione transfrontaliera Italia-Slovenia: "Promuovere la transizione verso un'economia circolare ed efficiente sotto il profilo delle risorse". Il progetto si propone di facilitare la diffusione dell'acquaponica. Mediante questa tecnologia circolare e sostenibile è possibile la co-produzione di pesce a specie vegetali in sistemi a ricircolo. BeBlue capitalizza i risultati conseguiti dal progetto di cooperazione transfrontaliera BLUEGRASS, (<https://2014-2020.ita-slo.eu/bluegrass>), che introdusse l'acquaponica nell'area di programma,

A tal fine, BeBlue predisporrà strumenti per:

1. ottimizzare la gestione degli impianti acquaponici, mediante la loro digitalizzazione e lo sviluppo di un prototipo di "Digital Twin";
2. dimostrare il potenziale utilizzo di sistemi acquaponici per ottenere prodotti innovativi ad alto valore aggiunto quali: i) macroalghe; ii) salicornia; iii) micro-ortaggi.
3. valutare la sostenibilità ambientale dei prodotti, mettendo a punto un calcolatore in grado di fornire l'impronta ambientale di prodotto (Product Environmental Footprint).
4. Valutare la sostenibilità economica di tali produzioni, mediante un'analisi di mercato, finalizzata a valutare l'accettabilità dell'uso della tecnologia acquaponica da parte di produttori e consumatori, lo sviluppo di uno strumento per valutare il ritorno sugli investimenti dei sistemi acquaponici.
5. Aumentare la conoscenza e visibilità dell'acquaponica tra gli operatori del settore e i potenziali investitori

Il piano di lavoro di BeBlue si articola in 3 pacchetti, o Work Package, i cui obiettivi specifici sono riassunti di seguito. Oltre ad attività di trasferimento tecnologico o networking, essi includono anche attività di comunicazione e divulgazione, mirate a diverse tipologie di potenziali fruitori.

WP1: Oltre Bluegrass: digitalizzazione e diversificazione dei prodotti

Obiettivi: Migliorare gli impianti pilota messi a punto in BLUEGRASS e sviluppare, mettere alla prova e divulgare strumenti digitali per supportare la gestione e l'ottimizzazione di un impianto acquaponico.

WP2: Strumenti per la valutazione della sostenibilità ambientale ed economica.

Obiettivi: Sviluppare strumenti a supporto degli investitori e operatori nella progettazione e gestione di sistemi acquaponici, fornendo linee guida per selezionare prodotti e strumenti web-based per la valutazione della sostenibilità economica e ambientale.

WP3: Networking e valorizzazione

Obiettivi: favorire lo sviluppo e la valorizzazione delle conoscenze generate dal precedente progetto Bluegrass e dalle nuove attività, rinforzando il networking transnazionale con processi partecipativi e diffusione dei risultati.

LISTA DEGLI ACRONIMI - SEZNAM AKRONIMOV

AL	Linea produttiva alghe in IP-UNIVE
ALK	Alcalinità
BQC	BeBlue Quality Control
DT	Gemello Digitale (Digital Twin)
IP-UNILJU	Impianto pilota acquaponico gestito dall'Università di Ljubljana
IP-UNIVE	Impianto pilota acquaponico gestito dall'Università Ca' Foscari di Venezia
NO2	Nitrito
NO3	Nitrato
DO	Ossigeno Disciolto (Dissolved Oxygen)
RAS	Sistema di Acquacoltura a Ricircolo (Recirculating Aquaculture System)
PAR	Radiazione Fotosinteticamente Attiva (Photosynthetic Active Radiation)
RP	Fosforo Reattivo (Reactive Phosphorus)
SA	Linea produttiva Salicornia in IP_UNIVE
TAN	Azoto Ammoniacale Totale (Total Ammonium Nitrogen)
TSS	Solidi Sospesi Totali (Total Suspended Solids)
RAG	Razioni Alimentarie Giornalieri

INDICE DELLE FIGURE

Figura 2-1: Impianto pilota di acquaponica situato presso il Campus Scientifico dell'Univ. Ca' Foscari di Venezia	12
Figura 2-2: Schema dell'impianto pilota di acquaponica marina IP-UNIVE: sono evidenziate le posizioni dei sensori automatici per la rilevazione di: temperatura dell'acqua, salinità, concentrazione di ossigeno disciolto e pH.	13
Figura 2-3: Flussi di materia tra le variabili biotiche e abiotiche in un sistema acquaponico.	15
Figura 2-4: Flussi di energia in un sistema acquaponico.	15
Figura 2-5: Figure 4: IP-UNIVE: (a) Luci LED, (b) Pompe d'acqua, (c) Montaggio del Filtro UV	19
Figura 2-6: IP-UNILJU: (a) Pompa, (b) Mangiatoie Automatiche	19
Figura 2-7: Esempio di controllo della qualità dei dati della temperatura dell'acqua per IP-UNIVE: Selezione dei punti "candidati outliers"	20
Figura 2-8: Esempio di controllo della qualità dei dati della temperatura dell'acqua per IP-UNIVE: Serie di dati verificata	21
Figura 3-1: Evoluzione del peso medio delle orate a); della temperatura dell'acqua b) e della razione alimentare giornaliera, RAG, per le linee AL e SA, grafico a pila, primo asse, e mangime totale utilizzato, secondo asse c).	23
Figura 3-2: Piantine di Salicornia appena messe a dimora (sinistra) e a distanza di 30 giorni (destra).	24
Figura 3-3: (a) Curve di crescita relative a 20 piante di salicornia, (b) temperatura dell'aria all'intero dello GH, (c) Umidità relativa dell'aria all'intero dello GH.	25
Figura 3-4: (a) biomassa di Ulva (3 potature), (b) temperatura dell'acqua nel periodo	26
Figura 3-5: Serie temporali (a) di mangime di pesci (cumulativo), delle concentrazioni (b) TAN, (c) NO ₃ , (d) Fosfato, (e) alcalinità e (f) pH.	31
Figura 3-6: Contributi percentuali dei principali dispositivi al consumo annuale stimato di energia elettrica.	34
Figura 3-7: Serie storiche dei consumi del dispositivo per la regolazione della temperatura dell'acqua.	35
Figura 4-1: Valori rilevati in due punti nella linea SA dell'impianto.	36
Figura 4-2: Bilancio del NUE.	38

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 2-1: Principali caratteristiche dell'impianto pilota di acquaponica marina IP-UNIVE.	13
Tabella 2-2: Variabili biotiche determinate mediante campionamenti periodici nell'impianto pilota operativo presso il campus scientifico dell'Università Ca' Foscari.....	16
Tabella 2-3: Variabili abiotiche monitorate mediante sensori automatici nell'impianto pilota operativo presso il campus scientifico dell'Università Ca' Foscari.....	17
Tabella 2-4: Rilevazione dei consumi di energia elettrica da parte dei dispositivi elencati a IP-UNIVE.....	18
Tabella 3-1: Piante alofite perenni coltivate nell'impianto pilota	27
Tabella 3-2: Statistiche descrittive delle variabili abiotiche monitorate mediante sensori automatici ogni 15 minuti. Le statistiche si riferiscono ai dati processati utilizzando la piattaforma BQC.....	30
Tabella 3-3: Statistiche descrittive delle variabili abiotiche monitorate mediante campionamenti e misure settimanali.....	30
Tabella 3-4: Consumi energetici annuali stimati in base ai consumi misurati nel periodo 27 maggio 2024 – 28 febbraio 2025.....	34

SOMMARIO

Il presente documento descrive i risultati raggiunti nell'ambito dell'attività A2.1 "Test di nuovi prodotti: l'acquaponica marina". L'attività è stata condotta nell'impianto pilota situato nel Campus Scientifico dell'Università Ca' Foscari di Venezia, Lead Partner del progetto BeBlue, indicato nel seguito come IP-UNIVE. L'impianto e il sistema di monitoraggio e controllo che ne consente la digitalizzazione sono descritti in dettaglio nei Deliverable D1_1_1 e D1_1_2.

L'impianto è entrato pienamente in funzione in aprile 2024: in questo documento viene presentata una sintesi dei risultati ottenuti nel periodo aprile 2024 – febbraio 2025 e, in base ad essi, alcune linee guida per la messa in opera di un impianto a ricircolo di acquaponica marina. L'utilizzo di acqua salmastra o marina da un lato estende la gamma di prodotti ittici ma, dall'altro, restringe quella delle specie vegetali, escludendo essenzialmente tutte quelle coltivabili mediante la consolidata pratica dell'acquaponica con acqua dolce. Inoltre, le piante alofite in grado di tollerare elevate salinità e le macroalghe sono meno studiate dal punto di vista agronomico rispetto agli ortaggi comunemente prodotti in acquaponica, rendendo più complessa la stima della loro produttività in funzione delle variabili ambientali. Infine, sebbene l'interesse per la produzione di alofite e macroalghe sia in crescita, mancano nell'area di programma e, in generale, in molti paesi dell'Unione Europea alcuni anelli di una filiera produttiva che vada dalla produzione dei germogli alla vendita.

In questo documento, in base all'esperienza maturata nel progetto BeBlue, verranno indicate alcune direzioni di sviluppo per questa interessante tipologia di acquacoltura, resiliente ai cambiamenti climatici e ad impatto sostanzialmente nullo sulle risorse idriche, sempre più preziose anche in aree tradizionalmente ricche d'acqua, come quella del programma INTERREG Italia-Slovenia.

1. INTRODUZIONE

Uno degli obiettivi principali del progetto BeBlue è la diffusione nell'area di programma di sistemi acquaponici in grado di fornire prodotti innovativi e ad alto valore aggiunto. In fase di progettazione, vennero individuati due tipologie di prodotti: 1) pesce marino, piante alofite e macroalghe; 2) pesce d'acqua dolce e micro-ortaggi. Durante i primi mesi del progetto BeBlue, gli impianti pilota acquaponici allestiti durante il progetto INTERREG Italia-Slovenia Bluegrass sono stati adattati alle co-produzioni sopra menzionate. In particolare, l'impianto gestito dal Dipartimento di Agronomia dell'Università di Lubljana, IP-UNILJU, è stato migliorato e predisposto alla valutazione della fattibilità della produzione di trota iridea e micro-ortaggi mentre quello gestito presso il Campus Scientifico dell'Università di Venezia, IP-UNIVE, è stato modificato per potervi ospitare la co-produzione di orate, salicornia e macroalghe. Come descritto in dettaglio nel Deliverable D1.1.1 di BeBlue, gli impianti sono stati dotati di avanzati sistemi di monitoraggio automatico, in grado di fornire in tempo reale dati relativi alla qualità dell'acqua, dell'aria e ai consumi energetici. La notevole mole di dati rilevati quotidianamente viene pre-processata mediante la piattaforma BQC per il controllo di qualità, pienamente operativa e descritta nel Deliverable D1.1.2..

1.1 Scopo del documento

L'utilizzo di sistemi acquaponici per la produzione di specie di pesce tipiche delle acque marine o salmastre consentirebbe, da un lato, di ampliare notevolmente la gamma dei prodotti ittici da acquaponica ma, dall'altro, limiterebbe notevolmente le specie vegetali che si potrebbero coltivare. Tuttavia, l'interesse per la coltivazione di piante in grado di tollerare salinità elevate e di micro e macroalghe è in crescita: tali prodotti, considerati di nicchia sino a qualche anno fa, si vanno diffondendo, anche grazie al loro utilizzo, sempre più frequente, nella ristorazione di alto livello e, nel caso, delle alghe, in nutraceutica. Queste considerazioni hanno condotto ad inserire **l'acquaponica marina** nel progetto BeBlue: questo ambito applicativo della produzione di specie ittiche e vegetali in sistemi a ricircolo è tuttora poco studiato, soprattutto dal punto di vista quantitativo: la sua diffusione nell'area di programma deve quindi essere sostenuta da un robusto insieme di evidenze che consentano ad investitori ed operatori di valutare in maniera oggettiva la sostenibilità, sia economica sia ambientale. Per conseguire tale obiettivo, BeBlue prevede due attività, logicamente connesse dall'adozione dell'approccio gestionale noto come "Piscicoltura di Precisione" o "Precision Fish Farming", che in BeBlue è stato generalizzato e applicato ai sistemi acquaponici. Tale approccio prevede: 1) la messa in opera di un sistema di monitoraggio in grado di fornire dati in tempo reale riguardo l'evoluzione delle principali variabili che condizionano l'accrescimento e il benessere delle specie co-prodotte; 2) lo sviluppo di un "gemello digitale" o "Digital Twin" dell'impianto, cioè una "copia virtuale" dell'impianto che ne simuli il funzionamento e, quindi, consenta di analizzare e interpretare i dati, formulando previsioni e breve termine, utili a prendere decisioni gestionali. I sistemi di monitoraggio adottati in BeBlue sono descritti in dettaglio nel Deliverable D1.1.2, in cui viene anche presentata l'interfaccia che facilita il controllo di qualità dei dati. Il prototipo di Digital Twin è invece presentato nel Deliverable D1.4.2.

Scopo di questo documento è sintetizzare i risultati ottenuti nelle attività di monitoraggio e, in parte, modellazione dell'impianto pilota di acquaponica marina, IP-UNIVE, estraendone

informazioni potenzialmente utile a ricercatori, operatori del settore e investitori che desiderino proseguire il cammino intrapreso in BeBlue verso la definizione di parametri operativi per il dimensionamento e la gestione di sistemi acquaponici marini, utili a valutare i costi di capitale e operativi e, quindi, il rischio imprenditoriale.

1.2 Articolazione del deliverable

Coerentemente con l'obiettivo di questo rapporto, il documento si articola nella presente introduzione e in altri quattro capitoli. Nel secondo capitolo, per agevolare il lettore, viene descritto l'impianto pilota l'impianto IP-UNIVE, situato presso il Campus Scientifico dell'Università di Venezia, e il sistema di monitoraggio di cui è dotato. Successivamente, viene presentata una sintesi dei risultati ottenuti, attraverso una serie di grafici che visualizzano l'evoluzione delle variabili monitorate e di tabelle che forniscono i principali indici statistici descrittivi. Nel quarto capitolo i risultati vengono discussi, estraendone alcune conclusioni, esposte in forma di linee guida e ribadite in maniera sintetica nel Cap. 5.

2. L'IMPIANTO IP-UNIVE E IL SUO SISTEMA DI MONITORAGGIO

L'impianto pilota di acquaponica marina IP-UNIVE, collocato presso la sede del Campus Scientifico dell'Università Ca' Foscari di Venezia, è costituito da due comparti, mostrati in Fig. 2-1, collegate da un insieme di tubature che assicurano la circolazione idrica. Entrambi i comparti sono costituiti da una intelaiatura portante in acciaio che sorregge pannelli di materiale plastico: il primo, a sinistra in Fig. 2-1, ospita le vasche per l'allevamento del pesce: in seguito sarà denominato RAS – Recirculation Aquaculture System, in quanto può essere isolato dal secondo comparto e funzionare come un piccolo impianto di acquacoltura a ricircolo. Il comparto a destra in Fig. 2-1 ospita la serra per la coltivazione idroponica: in seguito verrà indicato con la sigla GH – Green House.



Figura 2-1: Impianto pilota di acquaponica situato presso il Campus Scientifico dell'Univ. Ca' Foscari di Venezia

L'impianto è schematizzato in Fig. 2-1, mentre le principali caratteristiche sono descritte in Tab. 1. La Fig. 2-1 evidenzia che l'impianto è suddiviso in due linee di lavoro separate, per consentire la sperimentazione parallela di diverse associazioni tra specie ittiche e vegetali. Nel progetto BeBlue è stata sperimentata la produzione di orata (*Sparus aurata*) combinata principalmente con quella di due specie vegetali: a) piante alofite, in particolare la salicornia (*Salicornia Europaea*); b) macroalghe, in particolare lattuga di mare (*Ulva lactuca*). La prima è stata condotta nella linea che sarà denominata **SA**, la seconda nella linea **AL**.

Tutte le specie inserite in impianto sono autoctone dell'area di programma: l'orata è molto familiare ai consumatori italiani e sloveni, la salicornia sta acquisendo popolarità, la

lattuga di mare è inserita nell'elenco delle specie algali commestibili: è un prodotto di largo consumo in molti paesi asiatici e sta entrando anche nei nostri circuiti commerciali, a prezzi decisamente interessanti. Il sistema è completato da tre componenti che hanno lo scopo di purificare l'acqua che vi circola: i) una lampada a raggi ultravioletti per la disinfezione e la riduzione del carico batterico; ii) il filtro meccanico a tamburo, che rimuove continuamente le particelle solide sospese; iii) il biofiltro, in cui i batteri effettuano la bio-conversione dell'azoto ammoniacale escreto dai pesci in azoto nitrico, poco tossico per i pesci ed assimilabile dai vegetali.

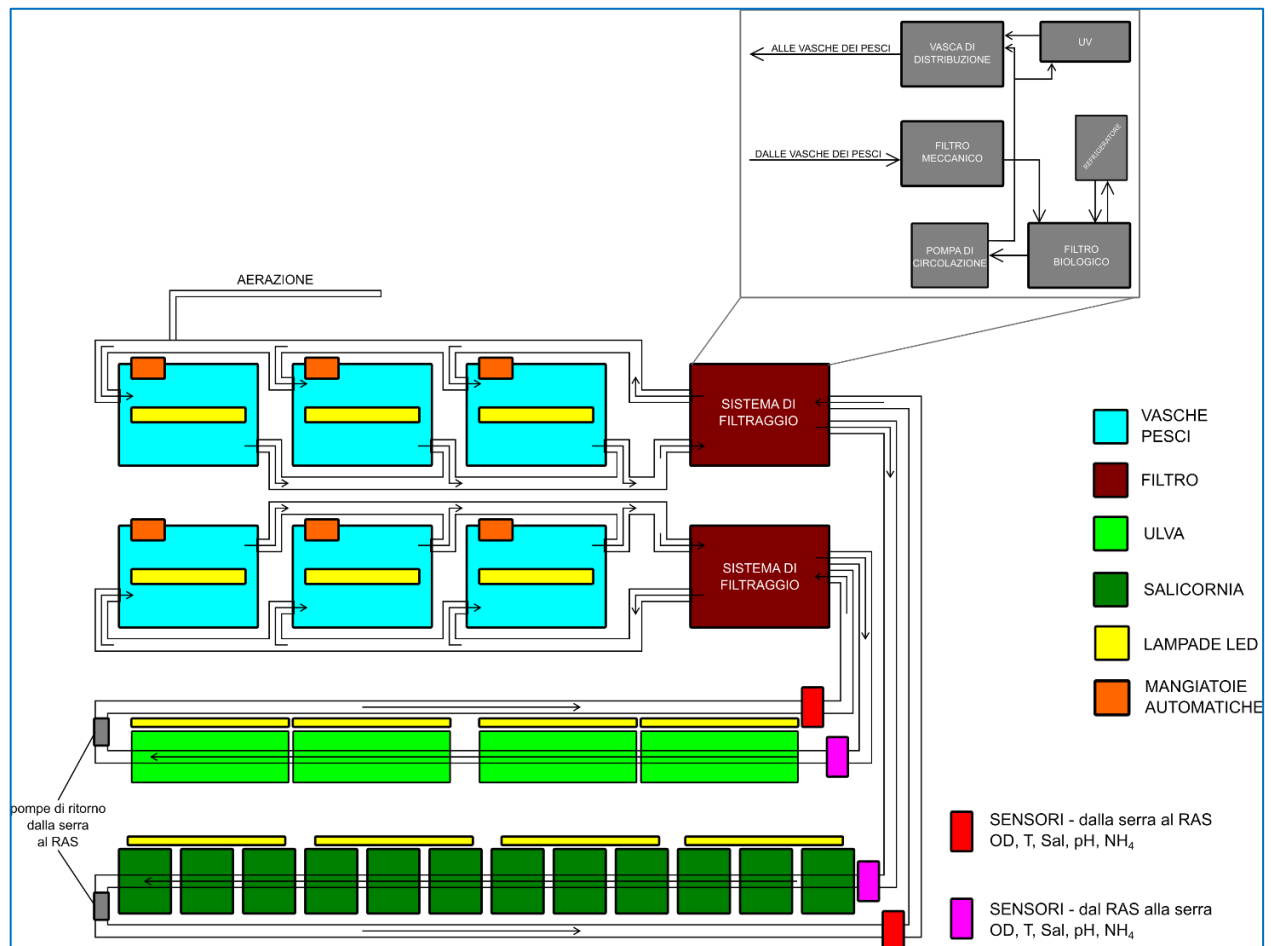


Figura 2-2: Schema dell'impianto pilota di acquaponica marina IP-UNIVE: sono evidenziate le posizioni dei sensori automatici per la rilevazione di: temperatura dell'acqua, salinità, concentrazione di ossigeno disciolto e pH.

Tabella 2-1: Principali caratteristiche dell'impianto pilota di acquaponica marina IP-UNIVE.

RAS	
Lunghezza [m]	6.15
Larghezza [m]	2.4
Altezza [m]	2.4
Volume totale vasche pesci [m ³]	3.6
Volume vasca di distribuzione (Sump) [m ³]	1.018

GH	
Lunghezza [m]	6.15
Larghezza [m]	2.4
Altezza [m]	2.4
Volume totale vasche AL [m ³]	0.318
Volume totale vasche SA [m ³]	0.3
Volume vasca di distribuzione (Sump) [m ³]	1.115
Superficie coltivabile AL [m ²]	0.46
Superficie coltivabile SA [m ²]	0.504

Dal punto di vista ecologico, In un sistema acquaponico devono convivere organismi appartenenti a tre diversi livelli trofici: **consumatori** (pesci), **produttori primari** (piante o alghe), **decompositori** (batteri): per coerenza con la terminologia adottata nella modellazione del sistema, descritta nel Deliverable D1.4.1, verranno indicate collettivamente come “**variabili biotiche**”. La convivenza e, auspicabilmente, la elevata produttività dei pesci e dei produttori primari, nonché l'efficienza del comparto batterico sono assicurate dalla soluzione/sospensione acquosa che circola continuamente e da un impianto di parziale condizionamento della sua temperatura. Vi è continuo scambio di materia tra le variabili biotiche e la soluzione: come descritto in dettaglio in D1.4.1, tale scambio influenza principalmente le seguenti variabili, denominate collettivamente “abiotiche”:

TAN: concentrazione di azoto inorganico in forma ridotta;

NO₃: concentrazione di nitrato;

DO: concentrazione di ossigeno disciolto;

ALK: alcalinità;

DIC: concentrazione di carbonio inorganico disciolto;

TSS: concentrazione di solidi sospesi totali

Le interazioni tra le variabili biotiche e abiotiche sono rappresentate sinteticamente in Fig.2-3, in cui alcuni componenti del sistema rappresentato in Fig. 2-2 sono stati aggregati. In particolare, “FT”, Fish Tank, rappresenta la somma dei volumi delle vasche in cui è allevato il pesce, “BF” il biofiltro, “GH” la somma delle vasche idroponiche, “MF” il filtro meccanico. In accordo con (Dos Santos&al, 2023), il metabolismo del pesce rilascia composti azotati ridotti, indicati collettivamente come TAN, che aumentano l'alcalinità della soluzione. La respirazione del pesce assimila ossigeno dall'acqua e vi rilascia anidride carbonica: quest'ultimo composto va ad aumentare sia l'alcalinità sia la concentrazione di carbonio inorganico disciolto, DIC, pari alla somma di bicarbonato, carbonato e anidride carbonica disciolta. Nel biofiltro TAN viene bioconvertito in nitrato: tale processo richiede ossigeno e diminuisce l'alcalinità. Il nitrato viene successivamente assimilato dai produttori primari nella serra idroponica. La Fig. 2-3 mostra anche i principali ingressi di materia ed energia, indispensabili per alimentare il pesce, far circolare l'acqua e regolare la composizione della soluzione. Il maggior ingresso di materia in un sistema acquaponico è costituito dal mangime fornito al pesce, mentre la temperatura dell'acqua condiziona il metabolismo del pesce e delle alghe, l'efficienza della bio-conversione di TAN e, in una certa misura, l'attività dell'apparato radicale delle piante. L'attività fotosintetica è invece influenzata dal livello di PAR e, in qualche misura, dalla temperatura dell'aria. Quindi il monitoraggio e, per quanto possibile, il controllo di queste variabili è molto rilevante. Le portate idriche tra i diversi componenti sono state mantenute approssimativamente costanti dal sistema di pompaggio, mentre l'appropriata ossigenazione delle vasche di allevamento dei pesci e dell'apparato radicale delle piante è assicurata dal pompaggio di aria.

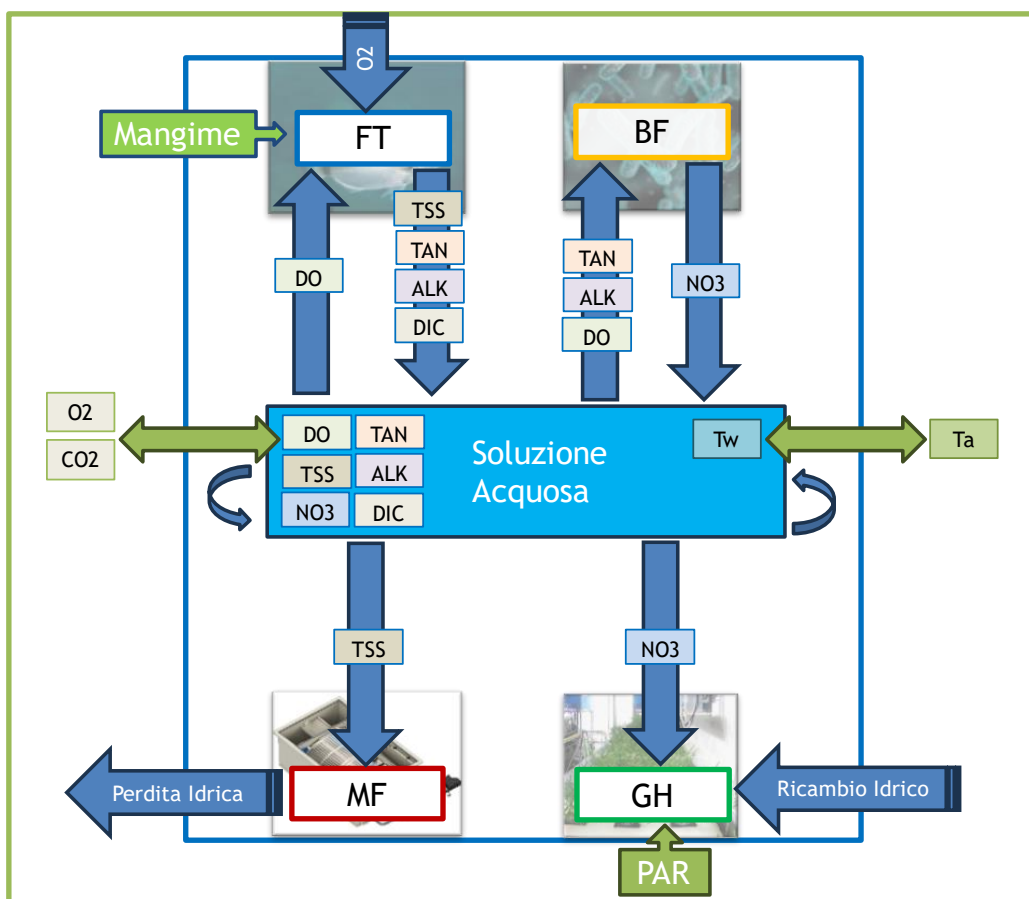


Figura 2-3: Flussi di materia tra le variabili biotiche e abiotiche in un sistema acquaponico.

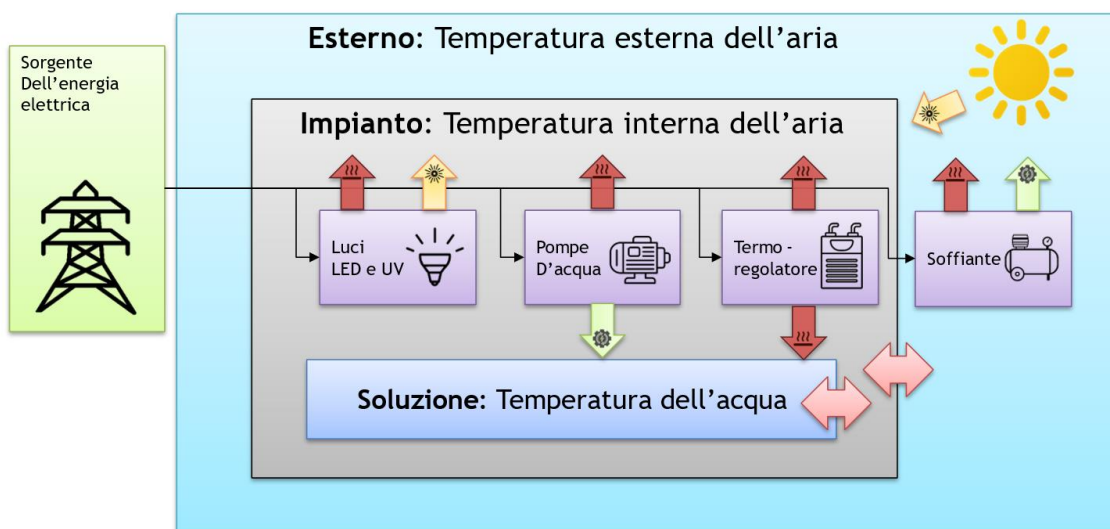


Figura 2-4: Flussi di energia in un sistema acquaponico.

La descrizione del sistema evidenzia la sua complessità e, soprattutto, la sua dinamicità: gli scambi di calore con l'esterno influenzano la temperatura dell'aria interna, T_a , e dell'acqua, T_w , i flussi di materia tra il mezzo acquoso e i componenti del sistema ne modificano continuamente la composizione. La gestione del sistema deve quindi includere un insieme di azioni di controllo, mirate a mantenere la temperatura e composizione della soluzione entro limiti che:

- garantiscano il benessere e l'accrescimento ottimale dei pesci;
- garantiscano una elevata efficienza della bio-conversione di TAN in nitrato;
- garantiscano il benessere e l'accrescimento ottimale dei produttori primari, piante o alghe.

Oltre al pompaggio dell'acqua per mantenerne la circolazione, le principali azioni di controllo/regolazione includono:

- Modulazione della razione alimentare del pesce in relazione alla temperatura dell'acqua e alla taglia raggiunta dal pesce;
 - Areazione o ossigenazione artificiale;
 - Aggiustamento dell'acidità della soluzione, mediante aggiunta di alcalinità;
 - Ricambio idrico, per compensare le perdite legate all'evaporazione e, qualora necessario, abbassare la concentrazione di nitrato in eccesso;
 - Condizionamento della temperatura dell'acqua;
 - Illuminazione artificiale, per aumentare il tasso di produzione primaria;
- In impianti progettati per produrre elevate quantità di biomassa ittica, si rende necessaria l'aggiunta di componenti per rimuovere il nitrato e l'anidride carbonica in eccesso.

Le azioni di controllo si concretizzano in scambi di materia/energia tra il sistema acquaponico e l'esterno che ne influenzano il funzionamento: collettivamente, le variabili associate a tali scambi vengono indicate come "funzioni forzanti": i) non controllabili, ad. es. la temperatura dell'aria esterna, ii) parzialmente controllabili, ad esempio la temperatura dell'acqua, o iii) totalmente controllabili, ad es. la razione alimentare del pesce. Per facilitare l'ottimizzazione della gestione del sistema, il progetto BeBlue ha messo a punto di un prototipo di "Gemello Digitale" o "Digital Twin", DT, di un impianto acquaponico, descritto in dettaglio nel Deliverable D1.4.2. L'elemento centrale del DT è un modello in grado di simulare in tempo reale il funzionamento del sistema che si intende rappresentare virtualmente e di suggerire opportune azioni gestionali, basate su previsioni a breve termine.

Tabella 2-2: Variabili biotiche determinate mediante campionamenti periodici nell'impianto pilota operativo presso il campus scientifico dell'Università Ca' Foscari.

Variabili biotiche	Simbolo	Unità di misura	Frequenza
Peso individuale delle orate	IW	grammi	1/mese
Biomassa <i>Ulva spp.</i>	FW _{AL}	grammi	1/settimana
Biomassa pianta di <i>Salicornia spp.</i>	FW _{SL}	grammi	1/mese

Il sistema di monitoraggio messo in opera in IP-UNIVE è stato attentamente pianificato per validare il prototipo di DT: esso è quindi, in una certa misura, sovradimensionato e potrebbe essere semplificato, in caso di industrializzazione dell'acquaponica marina, come sarà indicato nel Cap. 4. Il piano di monitoraggio è sintetizzato in tre tabelle. La Tab. 2 riporta le variabili

biotiche, la Tab. 3 presenta le variabili abiotiche monitorate, e la Tab. 4 i consumi di energia elettrica.

Le **variabili biotiche** sono state rilevate come segue.

- 1) Orate: un campione pari alla metà degli individui è stato prelevato con cadenza mensile da ogni vasca ed è stato determinato il peso di ogni individuo;
- 2) Salicornia: ogni pianta è stata etichettata e potata con cadenza circa mensile, per ottenere curve di accrescimento. Ad ogni potatura, è stato determinato il peso fresco della biomassa asportata da ogni pianta. Alla fine del periodo di studio, le piante sono state estratte dal sistema per determinarne il peso fresco. Le curve di crescita individuali sono state ottenute aggiungendo al valore così determinato la biomassa asportata.
- 3) Lattuga di mare: le alghe sono state estratte ogni settimana, centrifugate delicatamente per rimuovere l'acqua in eccesso e pesate per determinarne il peso fresco.

Tabella 2-3: Variabili abiotiche monitorate mediante sensori automatici nell'impianto pilota operativo presso il campus scientifico dell'Università Ca' Foscari

Variabili abiotiche	Simbolo	Unità di misura	Frequenza	Strumenti	Periodo di campionamento
Temperatura dell'acqua	Tw	°C	1/10 minuti	4 sensori (2 per linea)	23/5/2024 - 28/02/2025
pH	pH	-	1/10 minuti	4 sensori (2 per linea)	23/5/2024 - 28/02/2025
Ossigeno disciolto	DO	[mg/L] - % sat	1/10 minuti	4 sensori (2 per linea)	23/5/2024 - 28/02/2025
Salinità	SAL	PSU	1/10 minuti	4 sensori (2 per linea)	23/5/2024 - 28/02/2025
Temperatura dell'aria	Ta	°C	2/giorno	2 sensori (1 per cont.)	27/5/2024 - 14/11/2024
			1/10 minuti	1 sensore	14/11/2024 - 28/02/2025
Umidità relativa	RH	%	2/giorno	2 sensori (1 per cont.)	27/5/2024 - 14/11/2024
			1/10 minuti	1 sensore	14/11/2024 - 28/02/2025
Luminosità	PAR	μmol/m ² s	1/10 minuti	1 sensore	14/11/2024 - 28/02/2025
Concentrazione di TAN	TAN	mgN/L	1/settimana	1 fotometro	7/5/2024 - 28/02/2025
Concentrazione di NO ₃ ⁻	NO3	mgN/L	1/settimana	1 fotometro	7/5/2024 - 28/02/2025
Concentrazione di NO ₂ ⁻	NO2	mgN/L	1/settimana	1 fotometro	7/5/2024 - 28/02/2025
Alcalinità	ALK	mgCO ₃ ²⁻ /L	1/settimana	1 fotometro	7/5/2024 - 28/02/2025
Concentrazione di PO ₄ ³⁻	PO4	mgP/L	1/settimana	1 fotometro	7/5/2024 - 28/02/2025

Il monitoraggio delle **variabili abiotiche** è stato condotto utilizzando sia mediante sensori automatici sia mediante campionamenti periodici eseguiti manualmente. La

strumentazione utilizzata per il primo gruppo è descritta nel deliverable D_1_1_1. Le concentrazioni di **TAN**, **NO2**, **NO3**, **Fosforo Reattivo** e **Alcalinità** sono state determinate mediante spettrofotometria.

Tabella 2-4: Rilevazione dei consumi di energia elettrica da parte dei dispositivi elencati a IP-UNIVE

IP-UNIVE			
Dispositivo	Descrizione	Numero	Frequenza
Pompe	<u>Pompa di circolazione (RAS)</u> Q = 7m ³ /h H = 6 m V = 230 V f = 50Hz P1 = 0.46 kW P2 = 0.225 kW in funzione 24 ore per giorno	2 (1 in funzione e 1 per emergenza)	1/10 minuti
	<u>Pompa di ritorno dalla Serra</u> Q = 1.5-8.1 m ³ /h H = 6.3-2 m V = 450 V f = 50 Hz P1 = 0.31 kW P2 = 0.25 kW con funzionamento discontinuo (regolato da galleggiante)	1 (1 per linea x 2 linee)	1/10 minuti
Soffiante	f = 50Hz V = 220 - 240V I = 5A P = 0.85kW RPM = 2810 giri/min P = -160/160 mbar in funzione 24 ore per giorno	1	1/10 minuti
Luci LED	<u>RAS:</u> P = 51 W accese 10 ore al giorno	6 (3 per linea x2 linee)	1/10 minuti
	<u>SERRA - Linea alghe:</u> P = 40 W accese 10 ore al giorno	4	1/10 minuti
Termoregolatore	V = 230 V f = 50/60 Hz P1 = 280 W P2 = 260 W	4 (2 per linea x2 linee)	1/10 minuti
Videocamera	V = 12V I = 0.3 A P = 3 W	1	1/10 minuti

Il piano di monitoraggio è stato completato da un'attività di sorveglianza del benessere degli organismi allevati basata su test ecotossicologici, condotta dal partner Shoreline. Questi test consentono di valutare l'effettivo impatto biologico delle variabili abiotiche, rivelando precocemente effetti sub-letali e letali legati alla qualità dell'acqua, grazie alla particolare sensibilità degli organismi utilizzati. Un esempio significativo è il monitoraggio dell'eutrofizzazione, fenomeno complesso innescato dall'eccesso di nutrienti, principalmente azoto e fosforo inorganici, che può compromettere severamente l'equilibrio dell'ecosistema acquaponico. In questo contesto, i test ecotossicologici consentono di valutare tempestivamente gli effetti biologici dell'accumulo di nutrienti, permettendo interventi preventivi mirati. L'integrazione tra test ecotossicologici e analisi chimico-fisiche costituisce un approccio olistico alla valutazione del rischio ambientale, fondamentale per comprendere le complesse interazioni tra i diversi composti chimici e i loro effetti sinergici sugli organismi acquatici. Questo metodo integrato supporta una gestione più consapevole e sostenibile dell'impianto, garantendo condizioni ottimali per la crescita di pesci e piante e promuovendo la stabilità a lungo termine dell'intero sistema acquaponico. La metodologia utilizzata in BeBlue è descritta in dettaglio nell'appendice A.

I test sono stati effettuati su quattro campioni raccolti tra maggio e ottobre 2024. Ogni campionamento ha previsto la raccolta di campioni di acqua in quattro punti per ogni linea dell'impianto, descritto in Fig. 2-1, all'ingresso e all'uscita sia dalle vasche dei pesci sia dalla serra idroponica. Per ogni punto di campionamento sono stati prelevati 250 mL di acqua, sui quali

sono state effettuate sia le analisi dei parametri chimico-fisici sia i test ecotossicologici. *Paracentrotus lividus* è stato utilizzato come organismo test nei primi due campionamenti, mentre *Isochrysis galbana* è stata impiegata in tutti e quattro i campionamenti.

Non meno importante, ai fini della valutazione della sostenibilità ambientale è il monitoraggio dei **consumi di energia elettrica**. I principali dispositivi, elencato in Tabella 3, sono stati muniti di sensori per la rilevazione della potenza assorbita istantanea ogni 10 minuti, da cui è possibile dedurre con precisione il consumo effettivo di energia elettrica.

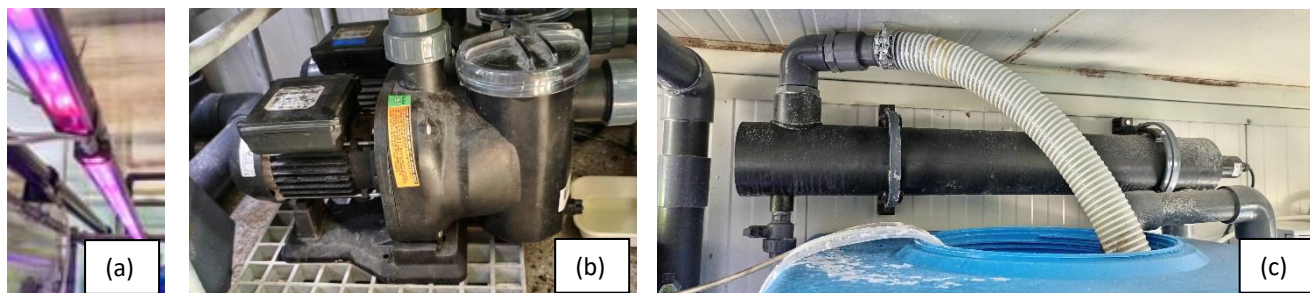


Figura 2-5: Figure 4: IP-UNIVE: (a) Luci LED, (b) Pompe d'acqua, (c) Montaggio del Filtro UV

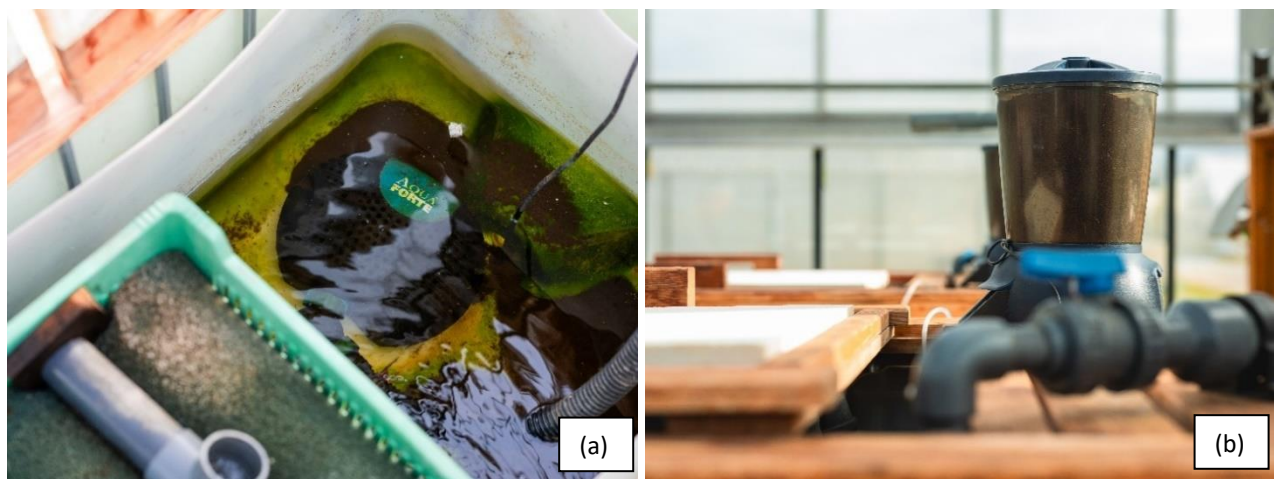


Figura 2-6: IP-UNILJU: (a) Pompa, (b) Mangiatoie Automatiche

Garantire la qualità e l'affidabilità dei dati monitorati è cruciale sia per estrarne informazioni utili alla gestione, sia per il loro utilizzo nella comunicazione aziendale o, come in questo caso, nelle attività di divulgazione. La numerosità dei dati rilevati nei campionamenti manuali periodici è solitamente bassa: in questo caso, il controllo della qualità dei dati è affidato all'esperienza degli operatori.

I sensori automatici, invece, generano **una grande quantità di dati**: ad esempio, in base alla Tabelle 1 e 3, **ogni giorno** vengono rilevati:

$$6[\text{dati /ora}] \times 4[\text{var}] \times 4[\text{sensori}] \times 24[\text{ore}] = \mathbf{2304 \text{ dati in IP-UNIVE}}$$

I sensori automatici, pur essendo un elemento indispensabile per la digitalizzazione degli impianti e l'ottimizzazione della loro gestione, richiedono una accurata manutenzione. Infatti,

le loro prestazioni possono deteriorarsi anche rapidamente nel tempo a causa di accumuli di sostanze interferenti. Inoltre, possono verificarsi momentanee interruzioni nella trasmissione del segnale e, infine, può essere necessario ricalibrarli periodicamente per evitare che le misure siano sistematicamente distorte.

La visualizzazione dei dati può certamente aiutare l'operatore a identificare eventuali anomalie e/o sistematiche deviazioni del livello del segnale, difficili da giustificare in base ai processi che avvengono nell'impianto. Tuttavia, questo compito, piuttosto tedioso, può essere facilitato dall'utilizzo di procedure di analisi statistica, eventualmente assistite anche da algoritmi basati sull'intelligenza artificiale, che consentano di identificare in prima istanza quali dati o sequenze di dati possano indicare potenziali anomalie di funzionamento dei sensori.

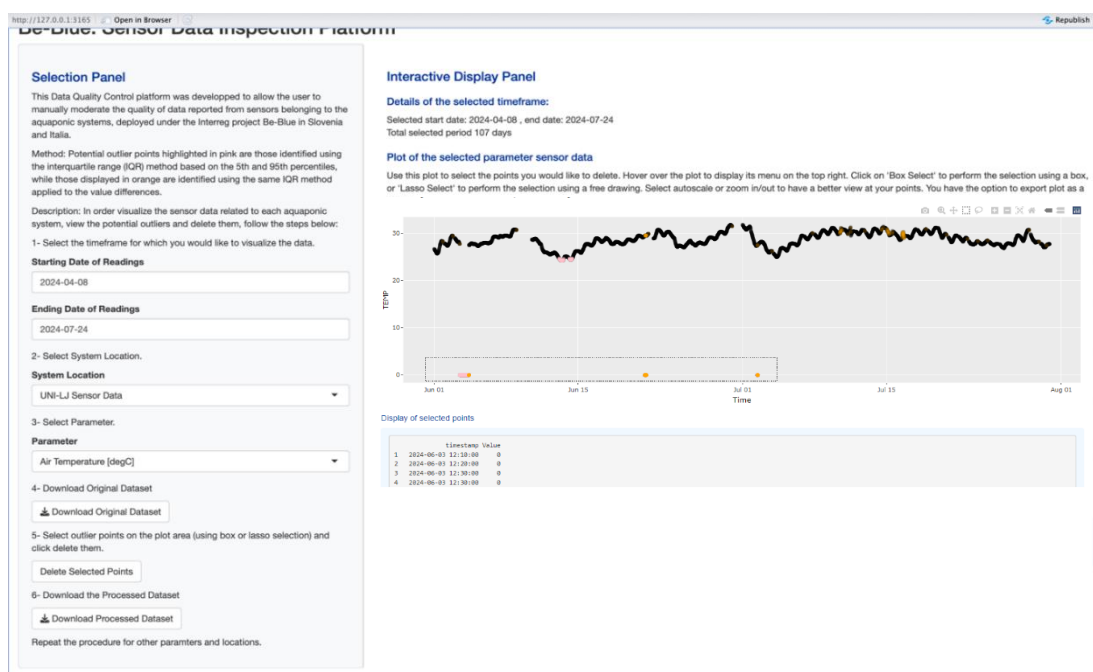


Figura 2-7: Esempio di controllo della qualità dei dati della temperatura dell'acqua per IP-UNIVE: Selezione dei punti "candidati outliers"

Per questa ragione, in BeBlue è stata messa a punto una procedura di identificazione di dati potenzialmente anomali, o "outlier", semplice e robusta, articolata in due fasi: nella prima, l'analisi delle **distribuzioni cumulative dei dati e delle differenze tra dati consecutivi** vengono utilizzate per identificare i dati potenzialmente anomali o "candidate outliers". Nella seconda, **l'operatore è chiamato a decidere se i dati così identificati debbano essere rimossi o mantenuti**. La procedura è stata resa operativa attraverso un'interfaccia utente, denominata BQC, descritta in dettaglio nel Deliverable D1.1.2, che consente all'operatore di;

- Selezionare la variabile e a finestra temporale da pre-processare: BQC visualizza la serie storica e mostra i potenziali outlier;
- Eliminare i dati ritenuti effettivamente poco affidabili;
- Archiviare i dati verificati per effettuare successive analisi.

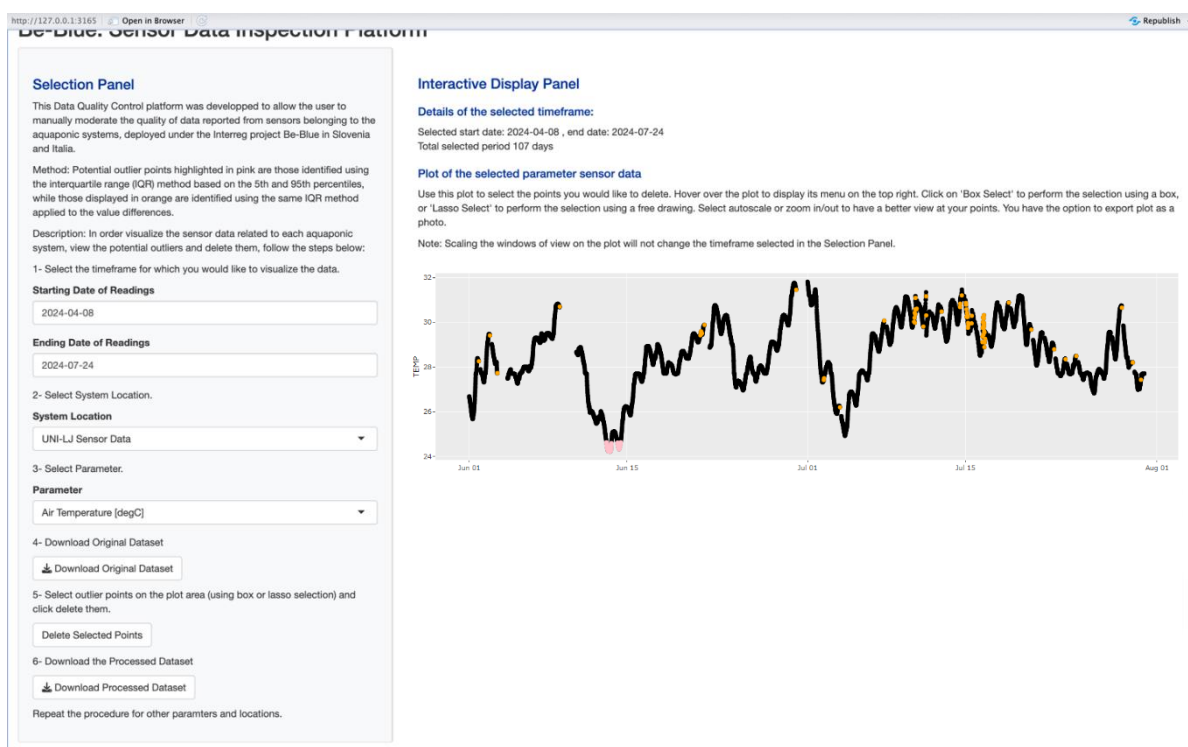


Figura 2-8: Esempio di controllo della qualità dei dati della temperatura dell'acqua per IP-UNIVE: Serie di dati verificata

Il funzionamento di BQC è illustrato nelle Fig. 2-7 e 8: In Fig. 2-7 viene visualizzata la schermata che mostra all'operatore i potenziali outlier e la Fig. 2-8 la serie storica verificata.

3. SINTESI DEI RISULTATI

L'impianto di acquaponica marina è stato avviato nel mese di marzo 2024, per accertarsi che il biofiltro funzionasse in maniera ottimale. Dopo una fase di sperimentazione, il monitoraggio automatico di temperatura dell'acqua, salinità, concentrazione di ossigeno disciolto e pH è divenuto pienamente operativo il 27 maggio 2024, quello della temperatura, umidità dell'aria e PAR dal 14 novembre 2024. Fino all'avvio dei monitoraggi automatici, queste variabili sono state determinate quotidianamente mediante strumenti portatili.

Nel seguito del capitolo vengono riportati i principali risultati, suddivisi in:

- variabili biotiche e principali forzanti;
- variabili abiotiche.

3.1 Variabili biotiche e principali forzanti

Le due linee separate dell'impianto pilota hanno consentito di valutare la fattibilità della co-produzione di pesce marino, macroalghe e piante alofite commestibili. I germogli di salicornia sono stati messi a dimora il 18 aprile 2024, le macroalghe il 9 aprile 2024. Oltre a queste tre specie, a partire dal 16 ottobre 2024 sono stati inseriti nella linea dedicata alle macroalghe talee di sarcocornia, alimione e inula. Le osservazioni relative all'accrescimento di queste specie sono state essenzialmente di carattere qualitativo. Si riportano di seguito i risultati quantitativi relative ai tre prodotti previsti nella proposta progettuale.

3.1.1 Orate

Le orate sono state introdotte il 4 aprile 2024: 89 esemplari, forniti dall'avannotteria "Valle Ca' Zuliani Soc. Agricola s.r.l. sono state trasferite e immerse nelle 6 vasche rappresentate in Fig. 2-1: le vasche F1-F3 sono collegate alla linea AL, le F4-F6 sono collegate alla linea SA. Durante il primo mese, si è registrata la mortalità di 16 esemplari, legata, con ogni probabilità, a difficoltà di adattamento. In seguito, sono stati registrati solamente alcuni decessi occasionali non riconducibili a patologie. Per assicurare il benessere degli animali, l'impianto è stato regolarmente visitato da personale veterinario. Dopo un breve periodo di acclimatazione, le orate sono state alimentate con mangime commerciale, fornito dall'azienda "NaturAlleva", di contenuto proteico pari a 44% e densità energetica pari a 20.4 MJ/kg. La razione giornaliera è stata stabilita in accordo con le tabelle alimentari "Orata OCEAN NOVA EX". Seguendo una prassi utilizzata in molti allevamenti, l'alimento è stato fornito cinque giorni su sette. Le curve di crescita delle orate sono presentate in Fig. 3.1, che mostra l'evoluzione del peso medio rilevato nelle sei vasche e, in arancio, il valore medio: essa evidenzia un aumento di circa 260 grammi in 10 mesi, in linea con gli accrescimenti tipici di questa specie. Poiché il volume utile di ogni vasca è pari a circa 0,6 m³, la densità media di allevamento è quindi passata da 0.98 a 5.65 kg/m³, molto inferiore quindi alle densità tipiche di un allevamento intensivo, pari a circa 30 kg/m³. In termini di biomassa totale, il sistema ha prodotto 4.67 kg/m³ in dieci mesi. La Fig. 3.1a evidenzia un accrescimento più rapido nel periodo estivo ed un rallentamento in quello invernale, come lecito attendersi in relazione all'evoluzione temporale della temperatura dell'acqua, mostrata in Fig. 3.1b. La razione alimentare giornaliera dipende sia dal peso sia dalla temperatura ma bisogna tener presente che il fabbisogno alimentare aumenta fino alla temperatura di crescita

ottimale di circa 26 °C e poi diminuisce. L'evoluzione di questa forzante, rappresentata in Fig. 3.1c, presenta quindi un picco nel periodo tardo-estivo ed autunnale, in cui la temperatura si è mantenuta tra i 15 e i 25 °C. Il Fattore di Conversione del Mangime o FCR (Feed Conversion Ratio) è risultato piuttosto elevato, pari a circa 2. Ciò può essere dovuto all'elevata attività metabolica nel periodo estivo, in cui la temperatura è rimasta vicina ai 30 °C per un periodo piuttosto prolungato e ha anche superato questo valore.

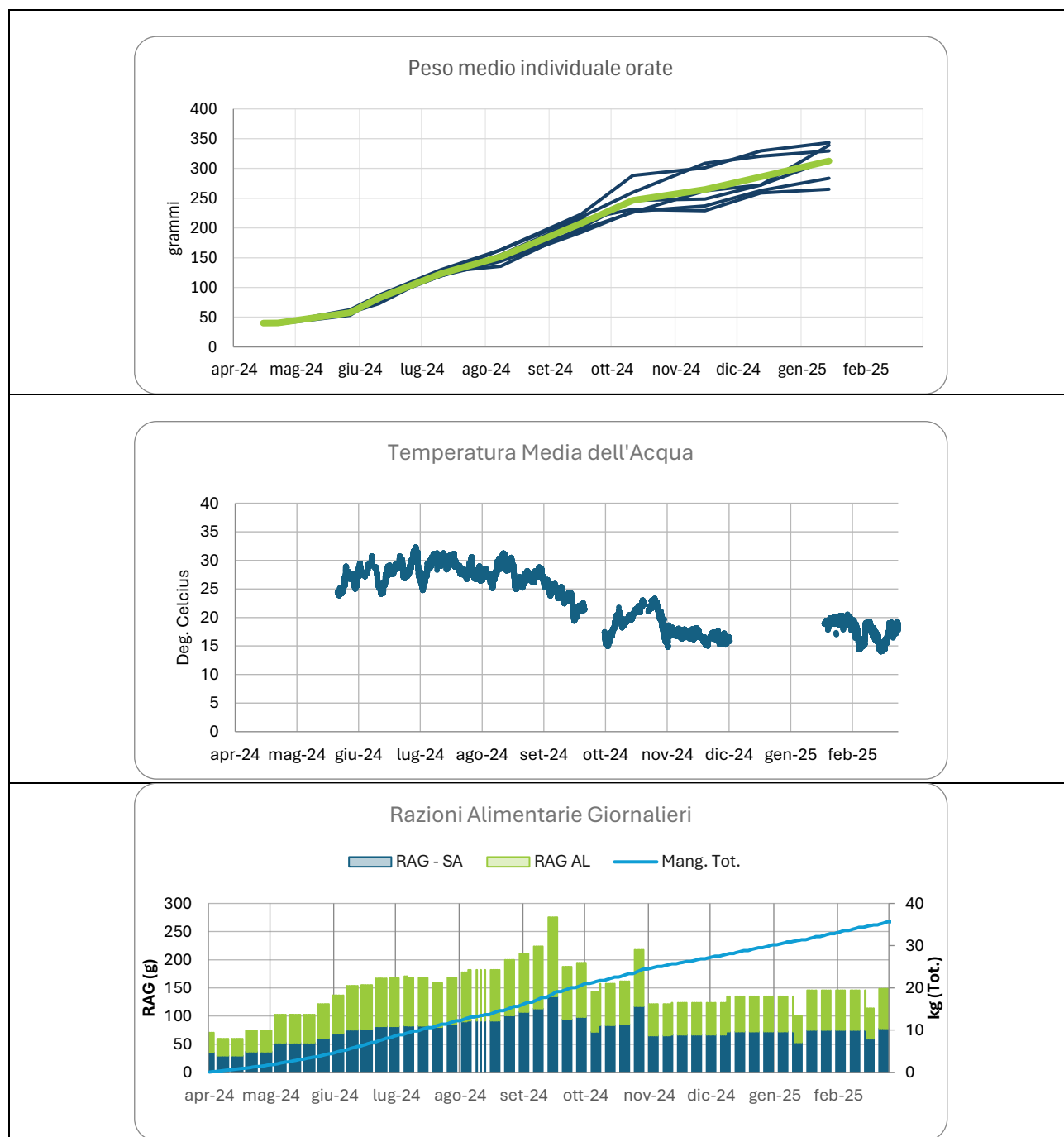


Figura 3-1: Evoluzione del peso medio delle orate a); della temperatura dell'acqua b) e della razione alimentare giornaliera, RAG, per le linee AL e SA, grafico a pila, primo asse, e mangime totale utilizzato, secondo asse c).

3.1.2 Salicornia

Il sistema idroponico adottato per la co-produzione di salicornia è noto come DWC – Deep Water Culture: le piante vengono poste su fogli di polistirolo o altro materiale galleggiante, le radici sono immerse nella soluzione acquosa e ne ricavano nutrienti, in particolare azoto, e ossigeno. I germogli di salicornia sono stati inseriti nell'impianto pilota il 18 aprile 2024. 30 piantine, fornite dall'associazione temporanea di scopo "Tidalgarden" sono state avvolte in lana di perlon ed alloggiate su fogli di polistirolo espanso.



Figura 3-2: Piantine di Salicornia appena messe a dimora (sinistra) e a distanza di 30 giorni (destra).

Le piantine hanno sviluppato ben presto il loro apparato radicale e la loro biomassa è aumentata rapidamente. Le curve di crescita delle 20 piante che a gennaio 2025 erano ancora presenti in impianto sono mostrate in Fig. 3.3. Trattandosi di una specie non ancora coltivata su larga scala, la variabilità individuale è molto elevata. Si notano, tuttavia, due elementi costanti:

- 1) La maggior parte della biomassa viene prodotta nelle prime 6-8 settimane: in questo arco di tempo, il 25% delle piante (evidenziate in verde in Fig. 3.3) hanno prodotto mediamente 300 g di biomassa, peso fresco, cioè circa 150 g/mese. Tenendo conto che l'apparato radicale è circa il 10% del peso totale, si può stimare una produttività di circa 135 g/mese di biomassa edibile, paragonabile a quella della lattuga.
- 2) La produzione della biomassa è continuata fino ad inverno inoltrato, in quanto l'uso dei LED e di un fotoperiodo costante ha ritardato o inibito la fioritura che in natura ha luogo verso la fine di settembre: questo dato potrebbe essere molto rilevante, in quanto suggerirebbe la possibilità di estendere i cicli di crescita a tutto l'arco dell'anno.

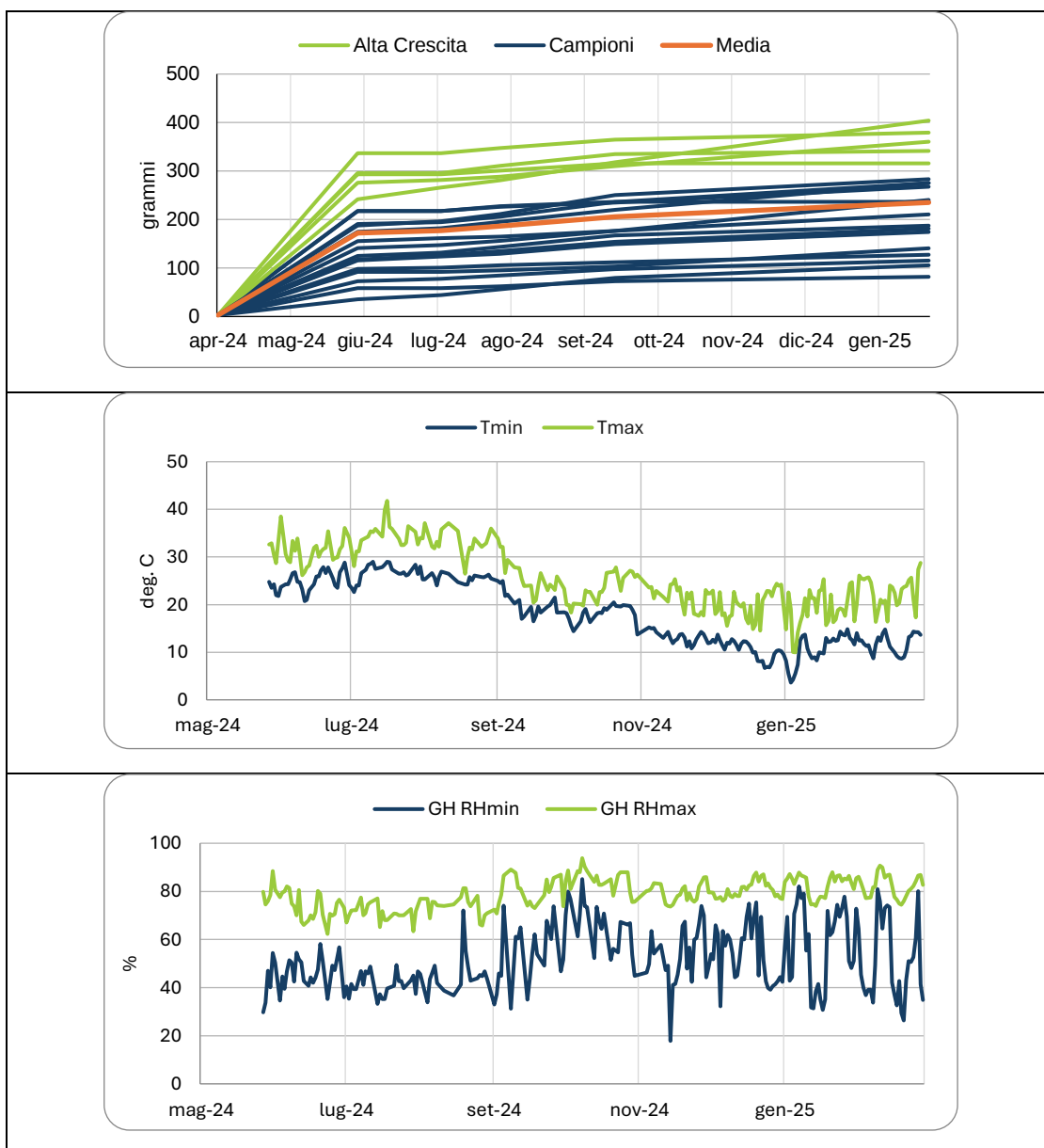


Figura 3-3: (a) Curve di crescita relative a 20 piante di salicornia, (b) temperatura dell'aria all'intero dello GH, (c) Umidità relativa dell'aria all'intero dello GH.

3.1.3 Lattuga di mare

Coerentemente con quanto si osserva in ambiente lagunare, la biomassa della lattuga di mare ha mostrato tassi di crescita molto elevati, pari a circa un raddoppiamento ogni due settimane, nel periodo primaverile. Successivamente, sia i tassi sia le condizioni dei talli sono peggiorati, probabilmente a causa dell'aumento della temperatura, non completamente controllabile nell'impianto pilota.

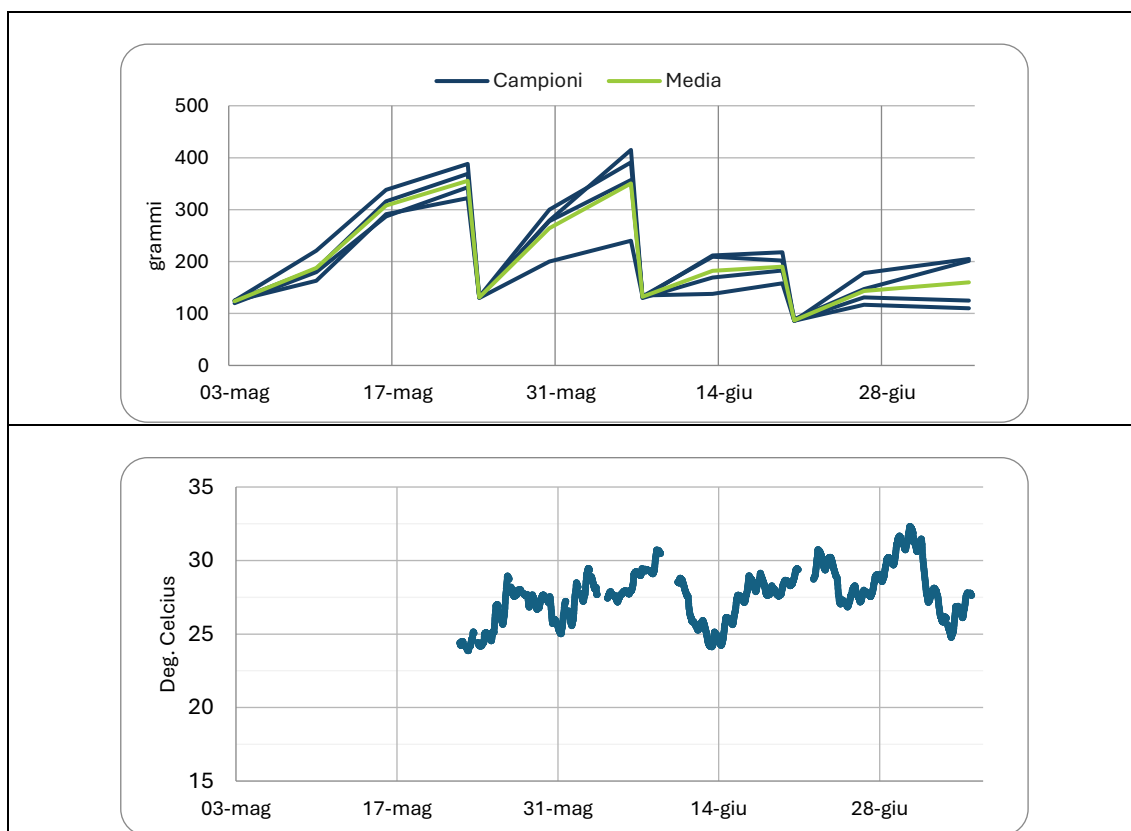
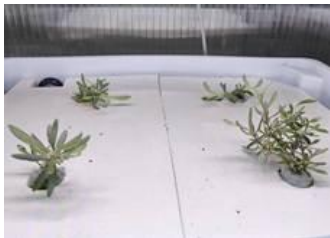


Figura 3-4: (a) biomassa di Ulva (3 potature), (b) temperatura dell'acqua nel periodo

3.1.3 Altre alofite

Oltre alle due specie previste nella proposta progettuale, sono state effettuate osservazioni di tipo qualitativo e semi-quantitativo riguardo l'accrescimento di altre tre specie di piante alofite commestibili e autoctone, come riassunto in Tab 3.1.

Tabella 3-1: Piante alofite perenni coltivate nell'impianto pilota

Nome comune	Sarcocornia	Alimione	Inula
Nome scientifico	<i>Salicornia fruticosa</i>	<i>Halimione portulacoides</i>	<i>Inula crithmoides</i>
Data inizio osservazione	16/10/2024	13/11/2024	03/12/2024
Foto all'inserimento			
Foto a fine febbraio			
Utilizzi	Simile alla salicornia, ma perenne, è anche lei ricca di iodio, bromo e vitamina C. In passato veniva utilizzata per prevenire lo scorbuto. Possono essere utilizzate come contorno di verdure fresche, condite con olio e limone oppure conservate sotto aceto	Le foglie possono essere consumate fresche, in insalata, mentre le estremità dei rami più giovani possono essere conservate sotto aceto	È una pianta che contiene molti oli essenziali. Può essere consumata sia cruda che cotta. Da questa pianta è anche possibile estrarre l'inulina, un carboidrato utilizzato come integratore alimentare

Nonostante la collocazione in serra sia avvenuta al di fuori del normale periodo vegetativo, le temperature miti all'interno della serra, il condizionamento della temperatura dell'acqua tra i 15 e i 20 ° C e la presenza di illuminazione a led per 10 ore al giorno hanno consentito alle talee di crescere rapidamente, dopo una iniziale fase di assestamento. Partendo da una biomassa individuale di 3-5 g, tutte e tre le specie sono infatti cresciute fino a raggiungere, a febbraio, una biomassa media di circa 100 g. Anche se la sperimentazione è stata effettuata su pochi esemplari, questi primi risultati sembrano indicare la possibilità di coltivare queste specie in serra tutto l'anno, senza necessariamente seguire i normali cicli vegetativi naturali.

3.2 Variabili abiotiche

Le statistiche descrittive relative alle serie storiche di temperatura dell'acqua, salinità, ossigeno disciolto e pH per ogni linea sono riassunte in Tab. 3.2, che presenta i due più comuni indici di posizione, cioè il valore medio e mediano, e di dispersione, cioè la deviazione standard, STD, e il range interquartile, IQR, i valori minimi e massimi.

Per quanto riguarda la concentrazione di ossigeno disciolto, i valori medi e mediani della concentrazione sono molto simili tra le due linee e la loro variabilità è limitata: il 50% dei dati è compreso tra il 92.5 e il 97.5% mentre i valori minimi non sono mai scesi al di sotto del 70%. Ciò indica condizioni ottimali per la richiesta alimentare e il benessere delle orate (Bolzonella&al. 2023). Il pH si è mantenuto a livelli accettabili sia per il pesce sia per i produttori primari. Si è registrata una escursione annuale piuttosto ampia di temperatura che, tuttavia, non ha compromesso il funzionamento del sistema acquaponico. Grazie all'abbondante ossigenazione, le orate hanno superato il periodo estivo, potenzialmente critico. L'abbassamento della temperatura in inverno ha ridotto l'efficienza del biofiltro ma in questo periodo anche l'appetito delle orate si riduce, comportando una diminuzione delle escrezioni azotate. Il livello di TAN, da cui si può calcolare la concentrazione di ammoniaca libera conoscendo il pH, non è quindi mai salito a livelli di guardia. Ciò è evidente dalle statistiche descrittive riportate in Tab. 3.3, relative alle variabili abiotiche rilevate settimanalmente. La concentrazione di TAN è rimasta al di sotto di 0.4 mgN/L: al pH medio, ciò corrisponde ad una concentrazione massima di NH_3 pari a 0.06 mgN/L. La concentrazione di nitrito non ha mai superato 0.3 mgN/L. La concentrazione di nitrato ha raggiunto valori elevati, in quanto la superficie disponibile per la coltivazione idroponica non è proporzionata alla biomassa del pesce allevato nel comparto RAS, come si vedrà più in dettaglio nel Deliverable D1.4.2, in cui sono presentati i risultati del prototipo di Digital Twin applicato all'impianto pilota. Ciò ha richiesto alcuni ricambi idrici, effettuati principalmente in agosto 2024 e febbraio 2025.

La complessità dei processi che hanno luogo nel sistema acquaponico e la loro dinamicità è ben illustrata in Fig. 3.4, che mostra l'evoluzione della razione alimentare giornaliera delle concentrazioni di TAN, NO_3 , RP, ALK e del pH nella linea SA da aprile 2024 a febbraio 2025. Come si può notare, la concentrazione di TAN è correlata alla razione alimentare, a propria volta modulata dalla temperatura, vedi Fig. 3.1. La concentrazione di nitrato aumenta da maggio ad agosto, quando viene effettuata la prima diluizione, rimuovendo la metà del volume dell'acqua circolante nel sistema e sostituendolo con acqua di mare artificiale, qui utilizzata per garantire la riproducibilità dei risultati. Nello stesso periodo, si nota un progressivo decremento dell'alcalinità: ciò è dovuto all'attività del biofiltro che, in accordo con (Dos Santos&al., 2023) rimuove una quantità di alcalinità superiore a quella immessa nelle vasche del RAS dalle escrezioni di TAN. La diminuzione di alcalinità comporta una variazione sistematica negativa del pH, che passa dal valore iniziale pari a circa 8, tipico dell'acqua di mare, al valore di circa 7.2. La regolazione fine dell'alcalinità e del pH avrebbero richiesto l'aggiunta di una base debole, quale ad esempio il bicarbonato di sodio, per compensare la perdita di alcalinità. Poiché l'acidità è rimasta comunque a livelli tollerabili, ciò non è stato fatto. In seguito alla diluizione, la concentrazione di nitrato è circa dimezzata ed è continuata a scendere nel periodo autunnale, in cui la biomassa di salicornia era maggiore e l'apporto di azoto dal metabolismo del pesce è diminuito.

Tabella 3-2: Statistiche descrittive delle variabili abiotiche monitorate mediante sensori automatici ogni 15 minuti. Le statistiche si riferiscono ai dati processati utilizzando la piattaforma BQC.

	Media	Mediana	STD	IQR	Min	Max
Temperatura AL [°C]	22.26	19.80	9.22	4.87	14.11	32.19
Temperatura SA [°C]	23.03	23.58	9.28	5.22	11.14	32.32
Salinità AL [ppm]	17.50	17.69	3.45	2.21	10.52	24.19
Salinità SA [ppm]	17.49	17.45	1.26	1.09	0.26	21.77
DO AL [mg/L]	8.30	8.24	1.91	1.02	5.79	10.50
DO SA [mg/L]	8.26	7.86	1.83	1.14	5.89	11.36
DO AL [%sat]	95.62	96.19	6.14	4.16	71.53	103.96
DO SA [%sat]	95.41	94.97	5.45	4.70	79.65	109.43
pH AL	7.84	7.90	0.43	0.23	7.27	8.22
pH SA	7.75	7.78	0.21	0.16	7.23	8.11

Tabella 3-3: Statistiche descrittive delle variabili abiotiche monitorate mediante campionamenti e misure settimanali.

	Media	Mediana	STD	IQR	Min	Max
TAN AL [mgN]/L]	0,17	0,16	0,08	0,13	0,04	0,40
TAN SA [mgN-L]	0,16	0,15	0,08	0,13	0,04	0,40
NO2 AL [mgN-NO ₃ /L]	0,07	0,06	0,05	0,04	0,01	0,27
NO2 SA [mgN-NO ₃ /L]	0,08	0,07	0,04	0,06	0,003	0,18
NO3 AL [mgN-NO ₃ /L]	38,56	32,15	21,40	33,59	6,68	117,65
NO3 SA [mgN-NO ₃ /L]	40,94	37,94	18,82	18,92	11,13	120,81
RP AL [mgP/L]	6,46	5,06	5,29	4,95	0,48	21,20
RP SA [mgP/L]	4,91	4,65	2,38	3,56	0,57	9,46
ALK AL [mgCaCO ₃ /L]	170,45	148,00	57,86	112,50	65,00	65,00
ALK SA [mgCaCO ₃ /L]	170,45	148,00	57,86	112,50	65,00	65,00

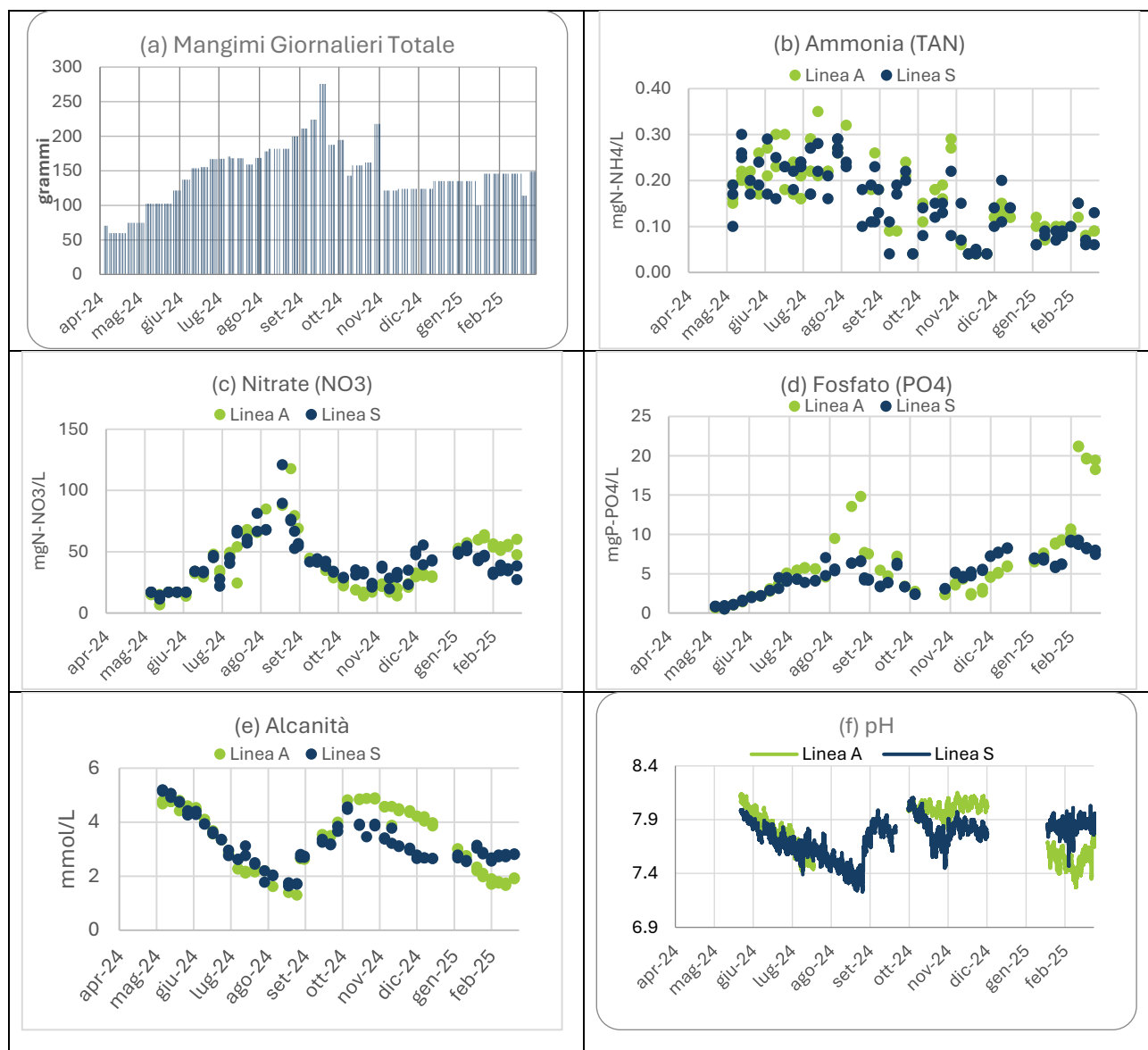


Figura 3-5: Serie temporali (a) di mangime di pesci (cumulativo), delle concentrazioni (b) TAN, (c) NO₃, (d) Fosfato, (e) alcalinità e (f) pH.

3.3 Test ecotossicologici

L'analisi degli effetti sulla capacità riproduttiva del riccio di mare *Paracentrotus lividus* è stata condotta nei primi due campionamenti dell'impianto acquaponico. Lo studio ha valutato la percentuale di uova non fecondate in relazione ai campioni prelevati dagli otto punti dell'impianto. Per ogni campionamento sono state testate tre diverse concentrazioni del campione (100%, 50% e 25%) per la valutazione dell'EC₂₀ e dell'EC₅₀, è stata poi prestata particolare attenzione alla concentrazione del 100% (campione tal quale) che ha evidenziato gli effetti più significativi. Ogni campione presentava una propria caratteristica composizione di nutrienti (NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺, NO₂⁻), riflettendo le condizioni specifiche di ciascun punto del sistema. I risultati hanno evidenziato differenze significative tra i due campionamenti, con un'evoluzione marcata della risposta biologica che riflette i cambiamenti nelle condizioni

dell'impianto. I risultati mostrano un'evoluzione interessante tra i due campionamenti, rivelando la capacità del test di identificare alterazioni precoci nella qualità dell'acqua. Nel primo campionamento di maggio 2024, sia l'EC20 che l'EC50 risultano superiori al 100% in tutti i punti di campionamento, indicando **che la massima concentrazione testata non è in grado di indurre effetti significativi sulla fecondazione**. Questa risposta stabilisce una chiara linea di base per la valutazione del sistema. Il secondo campionamento di giugno 2024 mostra un quadro più articolato: mentre **i valori di EC50 rimangono superiori al 100%, indicando l'assenza di effetti severi**, i **valori di EC20** iniziano a mostrare una risposta in alcuni punti di campionamento scendendo al di sotto del 90%, evidenziando **l'inizio di effetti subletali**. Questa caratteristica del test, ovvero la capacità di rilevare effetti precoci (EC20) pur mantenendosi in un range di tossicità non critico (EC50 >100%), lo rende particolarmente adatto come sistema di early warning per il monitoraggio dell'impianto acquaponico.

Nel saggio di fecondazione sui campioni di maggio 2024 su riccio di mare, si osserva una variabilità relativamente contenuta, con valori che oscillano tra il 5% e il 15%. I punti UF-IN e UF-OUT mostrano le percentuali più elevate di uova non fecondate (circa 15%), corrispondenti anche alle concentrazioni più alte di nutrienti (NO₃: 95.4 e 99.4 mg/L; PO₄: 8.5 e 5.6 mg/L). Il secondo campionamento, effettuato a giugno 2024, mostra un incremento significativo nella percentuale di uova non fecondate rispetto al primo campionamento, con valori che riflettono l'aumento delle concentrazioni di nutrienti nel sistema, vedi Fig. 3.5. Il campione prelevato all'ingresso dell'acqua dei pesci della linea Salicornia presenta la percentuale più elevata di uova non fecondate (circa 45%), coincidente con le massime concentrazioni di nutrienti registrate (TN: 274.8 mg/L, PO₄-: 15.4 mg/L). Si osserva un gradiente di effetto lungo la linea della Salicornia, con una riduzione dell'inibizione nel punto FT-OUT (35%) e un'ulteriore diminuzione nei punti SA-IN e SA-OUT (20-30%). La linea dell'Ulva mostra un profilo più uniforme, con percentuali di uova non fecondate che si attestano intorno al 30-35% e concentrazioni di nitrati relativamente costanti (NO₃: 188-206 mg/L). I risultati dell'analisi di regressione tra la concentrazione di nitrato e di fosfato la percentuale di uova non fecondate nel riccio di mare *P. lividus* sono riportati integralmente nell'appendice A. Essi evidenziano una correlazione elevata e significativa in entrambi i casi. Per quanto riguarda il nitrato, il coefficiente di correlazione ($R = 0.978$) e il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.956$) indicano che il 95.6% della variabilità nella percentuale di uova non fecondate può essere spiegata dalla concentrazione di nitrati nell'intervallo di concentrazioni osservate (0-250 mg/L NO₃-), suggerendo un effetto dose-dipendente costante. Risultati simili sono stati ottenuti per il fosfato: coefficiente di correlazione elevato e statisticamente significativo ($R = 0.91$, $p < 0.01$) e coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.829$) indica che l'82.9% della variabilità nella percentuale di uova non fecondate può essere spiegata dalla concentrazione di fosfati.

La risposta fisiologica dell'alga unicellulare *Isochrysis galbana* alle acque dell'impianto acquaponico è stata valutata attraverso l'analisi dell'inibizione nella sintesi dei principali pigmenti fotosintetici, clorofilla a (Chl a), clorofilla c (Chl c) e carotenoidi totali rispetto ad un campione di controllo negativo. I risultati sono esposti in dettaglio nell'appendice A e qui riassunti. *I. galbana* esposta ai campioni contenenti diverse concentrazioni di azoto e fosfato ha mostrato una notevole variabilità nei contenuti di clorofilla e carotenoidi. In particolare, **concentrazioni eccessive di azoto hanno determinato un'inibizione della sintesi di tutti i pigmenti fotosintetici**.

I risultati del primo campionamento, effettuato a fine maggio 2024, evidenziano una percentuale di inibizione contenuta (<25%) in tutti i punti di campionamento. I risultati del secondo campionamento, condotto a fine giugno 2024, rivelano un marcato cambiamento delle condizioni dell'impianto. I livelli di inibizione della sintesi dei pigmenti in *Isochrysis galbana* sono aumentati drasticamente, riflettendo un accumulo significativo di nutrienti nel sistema (Fig. 3.5). Il terzo campionamento, effettuato a metà settembre 2024, mostra i primi risultati dopo la diluizione e la conseguente rimozione di nitrato e fosfato in eccesso. La linea ex-alghe in cui da settembre è stata inserita l'alofita *Sarcocornia* mostra i livelli più elevati di inibizione, con valori che raggiungono il 65-70% per clorofilla a e carotenoidi totali, e circa il 50% per la clorofilla c. Questi valori corrispondono a concentrazioni elevate di nutrienti (NO₃: 224-229 mg/L, PO₄: 12.30-14.40 mg/L). La linea della *Salicornia* presenta un'inibizione più moderata e uniforme tra i pigmenti, con valori che si attestano intorno al 50% per tutti e tre i parametri. Le concentrazioni di nutrienti in questa sezione sono intermedie (NO₃: 134-192 mg/L, PO₄: 11.80-13.20 mg/L). I risultati del quarto campionamento, condotto a metà ottobre 2024, evidenziano una significativa evoluzione del sistema acquaponico, caratterizzata da una sostanziale riduzione dell'inibizione in tutti i punti di campionamento, coerente con i dati riportati in Fig. 3.5. Questo miglioramento è particolarmente evidente nella nuova linea della *Sarcocornia*, dove l'inibizione si è ridotta a valori tra il 5% e il 20%, accompagnata da una stabilizzazione delle concentrazioni di nutrienti (NO₃: 67-77 mg/L, PO₄: 8.05-9.76 mg/L). La linea della *Salicornia* mantiene livelli di inibizione leggermente più elevati, con valori intorno al 30-45% e concentrazioni di azoto superiori (NO₃: 96-130 mg/L).

L'analisi di correlazione non parametrica ha evidenziato interessanti relazioni tra i parametri monitorati nell'impianto acquaponico. Come prevedibile, i nitrati e i fosfati mostrano le correlazioni più forti (0.83), derivando entrambi dai metaboliti escreti dal pesce. Un aspetto rilevante emerge dall'analisi delle correlazioni tra i pigmenti fotosintetici. La quasi perfetta correlazione tra clorofilla a e c (0.96), insieme alle forti correlazioni con i carotenoidi totali (0.96-0.93), suggerisce una risposta fisiologica coordinata di *I. galbana* alle condizioni ambientali. Questo indica che **lo stress indotto dai nutrienti influenza in modo sistemico l'intero apparato fotosintetico dell'alga.**

L'analisi di regressione tra nitrati (NO₃-), clorofilla a, clorofilla c e carotenoidi mostra correlazioni negative e statisticamente significative, rispettivamente: $R = 0.941$ $p < 0.01$; $R = 0.888$ $p < 0.01$; $R = 0.879$ $p < 0.01$). I coefficienti di determinazione indicano almeno il 75% della variabilità della concentrazione dei pigmenti può essere spiegata da quella del nitrato. Inoltre, i risultati concordano nell'indicare che valori di concentrazione di nitrato superiori a 200 mg/L possano causare la marcata inibizione della sintesi dei tre pigmenti. Questa evidenza conferma un effetto inibitorio generalizzato del nitrato sulla sintesi dei pigmenti fotosintetici in *I. galbana*, e, quindi, un impatto sistemico dei nitrati sul metabolismo fotosintetico dell'alga.

3.4 Consumi energetici

Tabella 3-4: Consumi energetici annuali stimati in base ai consumi misurati nel periodo 27 maggio 2024 – 28 febbraio 2025.

	No. Di Unità	Consumo Unitario (kWh/Anno)	Consumo Totale (kWh/anno)
Pompa RAS	2	3,366	6,732
Pompa GH	2	1,450	2,900
Luci RAS	2	308	616
Luci GH	2	831	1,662
Pompa Soffiante	1	10,545	10,545
Termoregolatore	2	1,476	2,952
Filtro Meccanico	2	9	18
Totale			25,400

I consumi energetici dell'impianto pilota sono stati piuttosto elevati, rispetto alla biomassa prodotta, trattandosi di una **infrastruttura progettata principalmente per scopi di ricerca applicata** e dimostrativi e, quindi, **non ottimizzata ai fini produttivi**. L'incidenza percentuale dei dispositivi è invece rappresentata in Fig. 3.6. Come si può notare, il dispositivo per l'areazione, pompa soffiante, utilizza più del 40% dell'energia elettrica totale, mentre le due pompe che regolano la circolazione idrica utilizzano cumulativamente circa il 36%. Questi dispositivi sono rimasti sempre attivi, quindi i loro consumi possono essere stimati con buona approssimazione dalla potenza installata. I dispositivi per la regolazione della temperatura contribuiscono per circa il 10%: in questo caso, il monitoraggio dei consumi energetici è importante, in quanto il loro funzionamento è limitato ad alcuni periodi dell'anno, come mostra il grafico di Fig. 3.7.

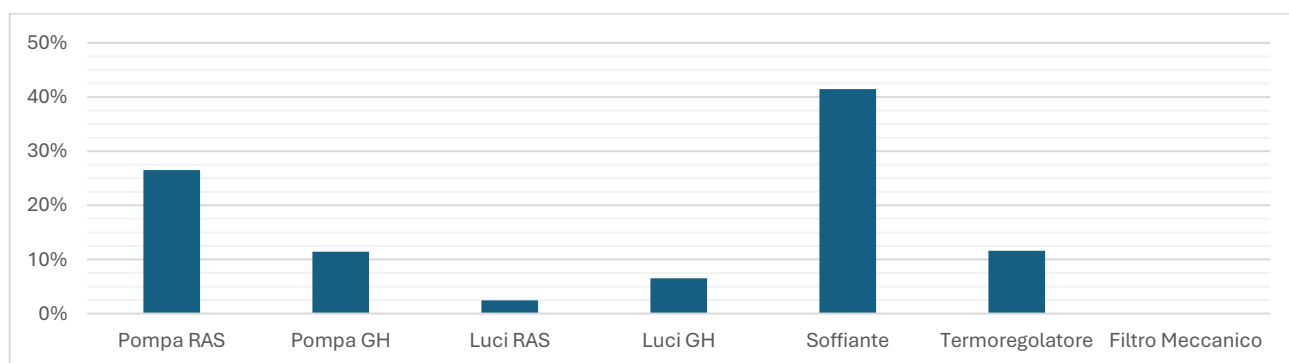


Figura 3-6: Contributi percentuali dei principali dispositivi al consumo annuale stimato di energia elettrica.

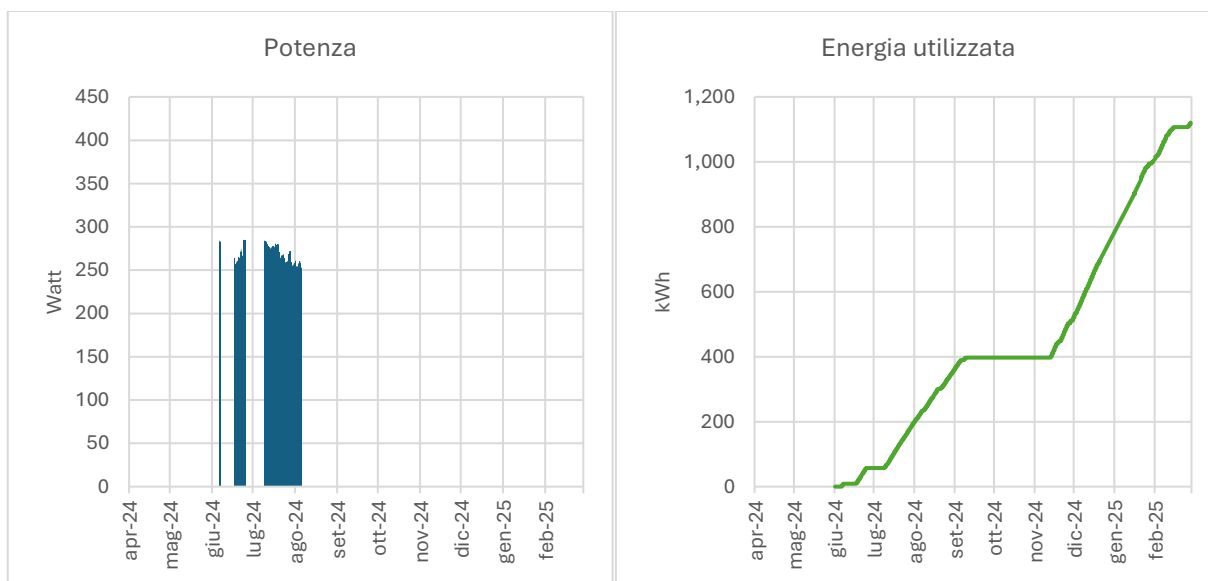


Figura 3-7: Serie storiche dei consumi del dispositivo per la regolazione della temperatura dell'acqua.

4. LINEE GUIDA PER L'ACQUAPONICA MARINA

L'acquaponica marina non è ancora una tecnologia produttiva consolidata e, in qualche misura, standardizzata, come lo è ora l'acquaponica in cui si co-producono pesce di acqua dolce e diverse specie di piante di interesse commerciale. In particolare, non sono ancora presenti nell'area di programma impianti di acquaponica marina a scala produttiva e le principali esperienze precedenti sono state condotte nell'ambito di progetti di ricerca nei programmi PRIMA e H2020. Seppur rilevanti, i risultati ottenuti in questi progetti sono essenzialmente di carattere qualitativo: in particolare, nell'ambito del progetto H2020 NewTechAqua venne dimostrata la fattibilità della produzione di cefalo e salicornia in un sistema a ricircolo, senza tuttavia quantificare le rese in relazione alle condizioni ambientali e agli ingressi di materia ed energia richiesti.

Il progetto BeBlue si proponeva di andare oltre lo stato dell'arte delle conoscenze sinora acquisite adottando un approccio quantitativo, finalizzato a fornire elementi utili al trasferimento tecnologico verso il settore agroalimentare. I risultati illustrati nel capitolo precedente, assieme a quelli esposti nel Deliverable D1.4.2 e al prototipo di "gemello digitale", descritto nel Deliverable D1.4.1 e a breve accessibile gratuitamente via web attraverso la piattaforma "DiGiPonic" dimostrano, a nostro parere, che tale obiettivo sia stato raggiunto.

A partire da questi risultati, in questo capitolo, vengono riassunte alcune considerazioni utili a tracciare un percorso di ottimizzazione che conduca alla progettazione e gestione di impianti di acquaponica marina sostenibili dal punto di vista economico ed ambientale.

4.1 Il sistema di monitoraggio

Il sistema di monitoraggio installato nell'impianto pilota venne progettato allo scopo di massimizzare la quantità e qualità dei dati rilevati utili a identificare, calibrare e validare il prototipo di Digital Twin descritto nel Deliverable D1.4.2. Per questa ragione, è in qualche

misura ridondante e potrebbe essere semplificato in impianti finalizzati alla produzione, come indicato di seguito.

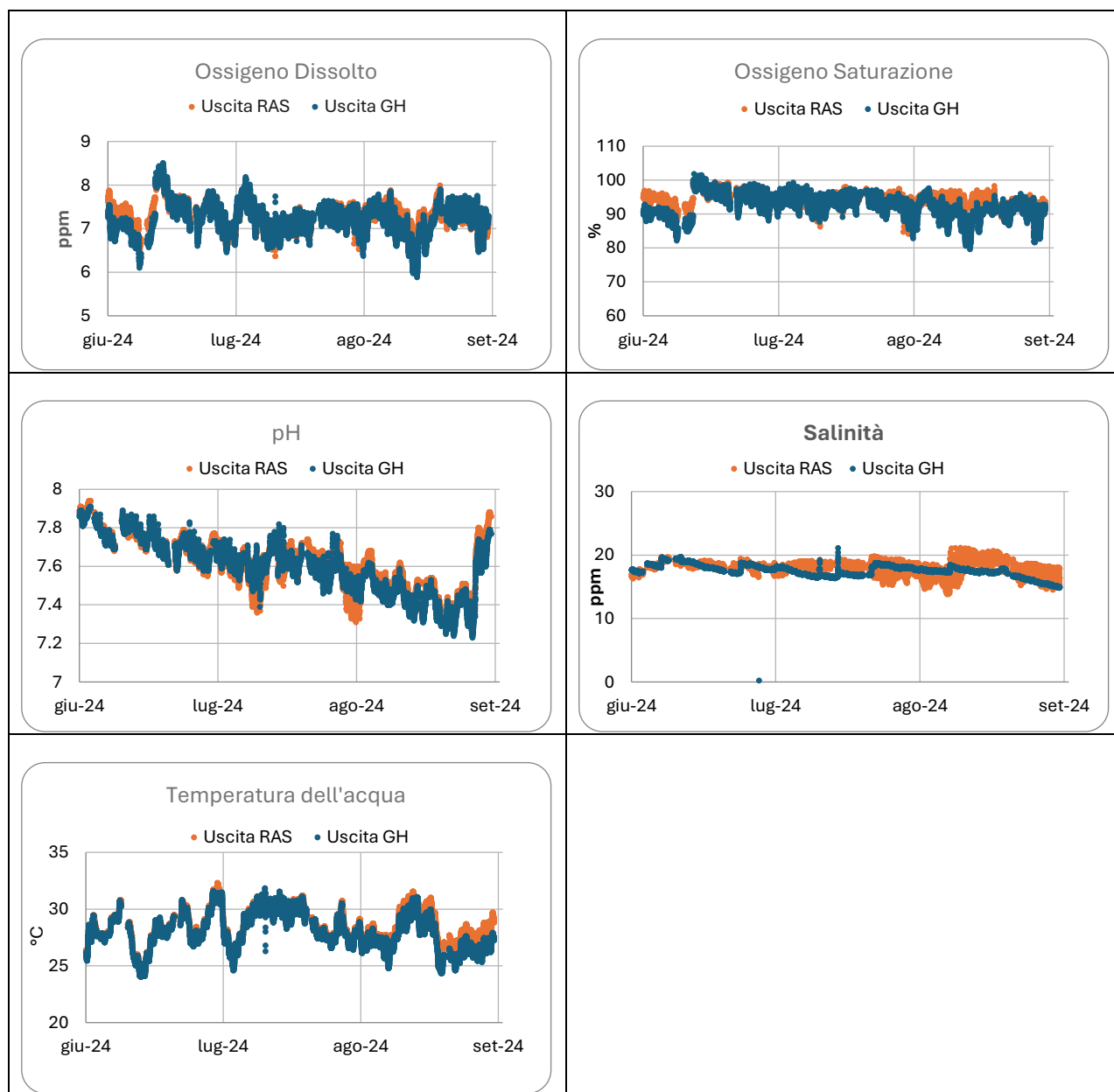


Figura 4-1: Valori rilevati in due punti nella linea SA dell'impianto.

Monitoraggio automatico della qualità dell'acqua. Il sistema di monitoraggio automatico temperatura dell'acqua, salinità, ossigeno disciolto e pH ha fornito importanti informazioni e se ne raccomanda l'installazione. Tuttavia, oltre ad un certo investimento iniziale, esso richiede continua attenzione alla qualità dei dati e interventi di calibrazione delle sonde piuttosto frequenti, incidendo anche sui costi operativi. Diviene quindi importante ottimizzare il numero di sensori automatici: i risultati ottenuti nel Progetto BeBlue suggeriscono che un sensore possa essere sufficiente per sistemi di piccola/media dimensione, come quelli descritti nel Deliverable D.2.1.1: come si può notare in Fig. 4.1, I valori rilevati in due punti dell'impianto, in uscita dal RAS e in uscita dalla serra idroponica, sono molto simili per quanto riguarda la temperatura e la salinità e non troppo diversi per le altre due variabili. Ciò potrebbe essere dovuto anche alle piccole dimensioni dell'impianto pilota, ma un approccio graduale, ad es. l'installazione di un

senore, la verifica del funzionamento e la stima della variabilità in impianto con strumenti portatili sembrerebbe essere la via migliore per conciliare costi e benefici del monitoraggio automatico.

Monitoraggio automatico di temperatura dell'aria, umidità relativa e PAR. Il costo iniziale è inferiore rispetto al monitoraggio della qualità dell'acqua e i sensori installati nell'impianto pilota si sono rivelati robusti. Il monitoraggio di questi parametri è essenziale nella serra idroponica ma misure in continuo di umidità e temperature dell'aria sono importanti anche nel RAS, in quanto influenzano gli scambi di calore tra acqua e aria: i consumi dei dispositivi di condizionamento della temperatura dell'acqua possono quindi essere modulati in relazione ai valori rilevati.

Monitoraggio settimanale delle variabili chimiche. Il monitoraggio delle variabili chimiche è molto rilevante, sia per assicurarsi che i valori di composti potenzialmente tossici, come l'ammoniaca, rimangano al di sotto delle soglie di tolleranza, sia per valutare il bilanciamento tra metaboliti prodotti dal pesce e loro assimilazione da parte dei produttori primari. Esso è stato effettuato mediante spettrofotometro e kit analitici specifici per ogni variabile. Test effettuati comparando i dati raccolti con valori ottenuti mediante metodologie standard hanno indicato che questo tipo di strumentazione, relativamente poco costosa e di semplice utilizzo, fornisca valori di TAN, NO₂, NO₃, RP e Alcalinità, sufficientemente affidabili. La cadenza settimanale si è rivelata adeguata ma la selezione della frequenza di campionamento dipende in larga misura dalla variabilità esibita dai parametri. Questa potrebbe essere più contenuta ed è sito-specifica: dopo un periodo di prova, potrebbe essere ridotta, diminuendo così i costi operativi di personale e consumabili.

Monitoraggio mediante biosaggi. I risultati hanno evidenziato l'efficacia dell'utilizzo combinato di due bioindicatori, il riccio di mare *Paracentrotus lividus* e l'alga unicellulare *Isochrysis galbana*, nel monitoraggio della qualità delle acque di un impianto acquaponico. I due organismi hanno mostrato risposte complementari e coerenti all'accumulo di nutrienti nel sistema. Si sottolinea, tuttavia, che non sono mai state raggiunte soglie di tossicità acuta, come dimostrato dal fatto che anche nei campioni non diluiti (tal quale) non si è mai raggiunto il 100% di inibizione. I test di fecondazione con il riccio di mare *P. lividus* hanno evidenziato una chiara relazione dose-dipendente tra le concentrazioni di nutrienti e l'inibizione della capacità riproduttiva, con una correlazione particolarmente forte con i nitrati ($R^2 = 0.956$, $p < 0.01$). Parallelamente, l'alga unicellulare *I. galbana* ha mostrato alterazioni significative nella sintesi dei pigmenti fotosintetici, con un pattern di risposta che riflette l'evoluzione dell'impianto attraverso i quattro campionamenti. La forte correlazione negativa tra nutrienti e pigmenti ($R = -0.93$ per NO₃- vs clorofilla a) conferma la sensibilità di questo organismo come indicatore dello stress da nutrienti. Dal punto di vista metodologico, il protocollo sviluppato presenta indubbi vantaggi: rapidità di esecuzione, riproducibilità dei risultati, sostenibilità economica e una facilità di implementazione che lo rende appetibile anche per piccole realtà produttive. Infatti, la strumentazione utilizzata, incentrata su uno spettrofotometro portatile da campo, rappresenta un dispositivo ampiamente diffuso nel monitoraggio dell'acquacoltura, dal costo contenuto che incide marginalmente sull'investimento complessivo. Questo strumento, già comunemente impiegato per le analisi dei nutrienti, può essere utilizzato allo stesso modo per la valutazione dei pigmenti fotosintetici, consentendo di mantenere bassi i costi operativi e rendendo il protocollo accessibile e sostenibile.

4.2 Bilancio di Azoto e Potenzialità produttive

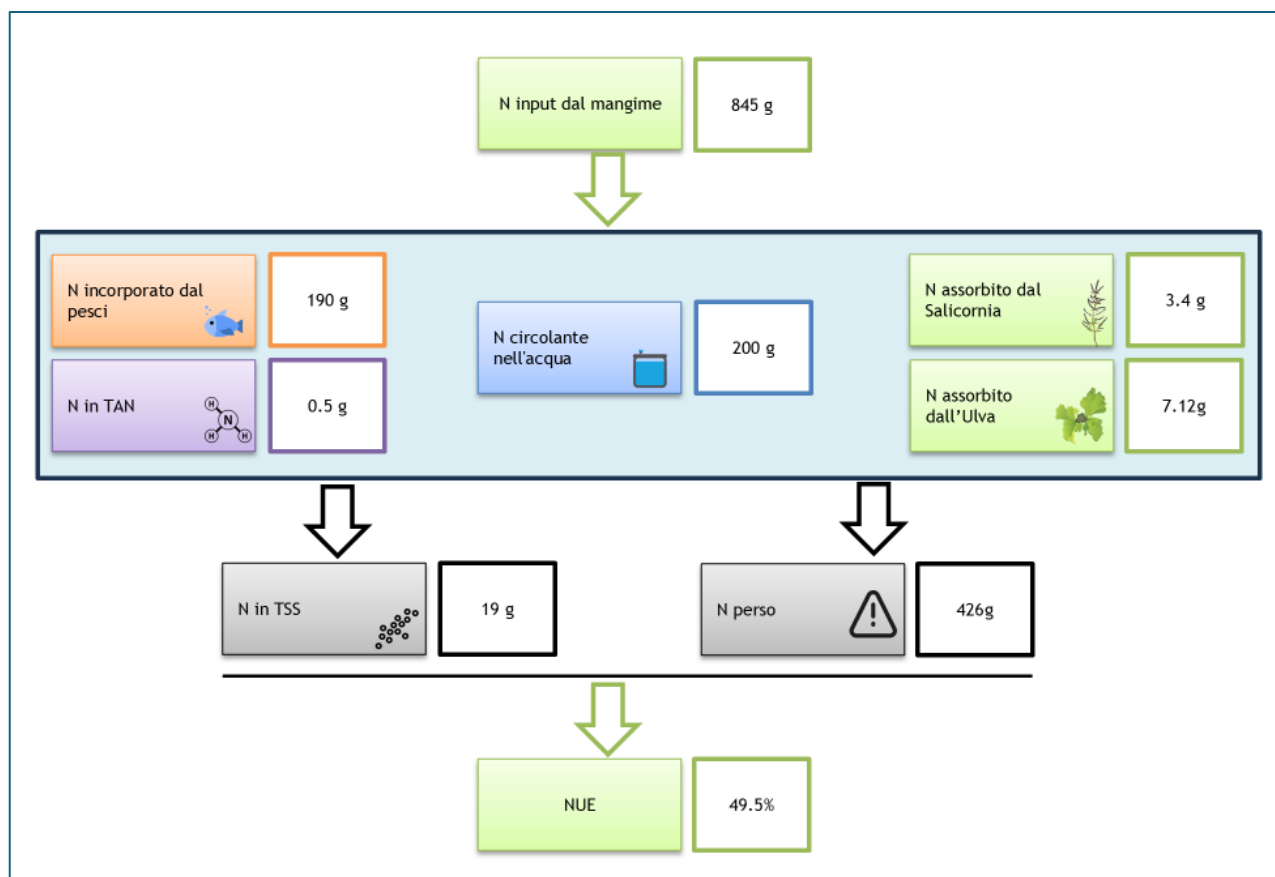


Figura 4-2: Bilancio del NUE

La sperimentazione della produzione di macroalghe e piante alofite ha avuto due esiti diversi: nel primo caso, si sono ottenuti tassi di crescita molto elevati ma per un periodo breve, compreso tra aprile e fine giugno. Nel secondo, le osservazioni quantitative riguardanti salicornia indicano tassi di crescita decisamente interessanti, pari a circa 140 g/mese, mentre quelle più qualitative relative a Sarcocornia, Limione e Inula suggeriscono che anche queste specie possano essere facilmente prodotte in un impianto a ricircolo lungo tutto l'arco dell'anno. I dati riportati in Fig. 3.5 mostrano tuttavia che

, come prevedibile, l'impianto pilota non è dimensionato in maniera ottimale, in quanto, anche una densità di biomassa di pesce molto bassa, non superiore ai 6 kg/m³, ha condotto ad un eccesso di nitrato, richiedendo interventi di diluizione. La stima del potenziale produttivo di salicornia rispetto alla biomassa di orate è approfondita nel Deliverable D1.4.2 utilizzando i risultati del prototipo di Digital Twin. Vengono qui presentate alcune considerazioni, basate essenzialmente sulle osservazioni. In un sistema acquaponico possono aver luogo processi che liberano azoto in atmosfera e ne limitano l'utilizzo da parte dei produttori primari (Wongkiewa & al., 2017). Supponendo che tali processi siano, in prima approssimazione, trascurabili, l'azoto ammoniacale rilasciato dalle orate nel periodo da 05 maggio a 20 agosto 2024, in cui non è stato effettuato alcun importante ricambio idrico, si è accumulato essenzialmente come nitrato, essendo stato assimilato in misura molto limitata dai produttori primari. I risultati del bilancio di massa rispetto a questo periodo sono sintetizzati in Fig. 4.2. se ne riassume di seguito la

logica seguita. Sottraendo la concentrazione misurata il 20 agosto da quello misurata il 05 maggio nella linea a salicornia, si ottengono 0.0738 gN/L, moltiplicando per il volume si ottengono circa 200 grammi di azoto. Secondo la letteratura, la composizione elementale di salicornia è molto variabile: considerando il valore riportato in (O'Leary, 1985), la frazione proteica è pari a circa 5.7% di peso secco, che si traduce in 0.09 % di azoto in peso fresco. Quindi, utilizzando al meglio l'azoto accumulatosi sotto forma di nitrato nei quattro mesi considerati si sarebbero potuti effettuare due cicli produttivi di salicornia: selezionando le piante migliori, si sarebbero potuti ottenere circa 300 grammi per pianta peso fresco per ciclo. Ogni pianta avrebbe sequestrato 0.17 grammi di azoto per ciclo: ipotizzando una densità di semina pari a 100 piante/m² (Shpigel et al., 2013), un metro quadro di superficie coltivabile avrebbe rimosso circa 17gN . Considerando i due cicli, sarebbe stato produrre circa 720 kg di biomassa, utilizzando 24 metri quadri.

4.3 Consumi energetici

I consumi energetici rappresentano uno dei maggiori costi operative, probabilmente il più elevato in uno scenario in cui l'impianto venga digitalizzato e automatizzato, riducendo i costi di personale. I consumi generate dall'impianto pilota sono decisamente elevate e non rappresentativi di quelli di un impianto reale. I dati raccolti nel monitoraggio suggeriscono le seguenti azioni di ottimizzazione:

Pompaggio dell'acqua: in impianti a bassa densità di biomassa, come quelli acquaponici accoppiati, è possibile ridurre la velocità di circolazione dell'acqua, senza che la concentrazione dei metaboliti emessi dal pesce raggiungano soglie di pericolo;

Areazione: la pompa per l'insuflaggio dell'aria è rimasta sempre in funzione, contribuendo per circa il 40% al consumo totale di energia elettrica. Ciò ha consentito di mantenere concentrazioni ottimali di ossigeno disciolto, molto vicine e in alcuni casi addirittura superiori al valore di saturazione. Servendosi del Sistema di monitoraggio automatico, sarebbe però possibile ridurre il tempo di funzionamento, in quanto la specie selezionata si trova in condizioni ottimali nell'intervallo 70-100% di saturazione.

Condizionamento della temperatura dell'acqua: il funzionamento dei dispositivi non è stato ottimizzato, in quanto il sistema di monitoraggio della temperatura dell'aria è stato acquisito solo di recente. La modellazione degli scambi termici acqua-aria potrebbe guidare l'azionamento di questi dispositivi.

5. CONCLUSIONI

I risultati presentati nei capitoli precedente e nell'Appendice A, evidenziano che l'attività A1.2 "Test di nuovi prodotti: l'acquaponica marina" ha pienamente raggiunto il principale obiettivo previsto in fase progettuale, dimostrando la possibilità di: i) produrre di piante terrestri commestibili in grado di tollerare salinità elevate, quali la salicornia ii) produrre, in ambiente controllato in un sistema a ricircolo la lattuga di mare. Si tratta, in entrambi i casi, di prodotti di elevato valore economico, sempre più utilizzati non solo nell'alimentazione ma anche in nutraceutica.

L'esperienza maturata in questa attività e la mole di dati raccolti ha consentito di raccogliere dati e informazioni preziosi per l'ulteriore sviluppo dell'acquaponica marina. Utilizzando il concetto di Livello di Maturità Tecnologica o "TRL" – Technological Readiness Level, si può stimare che i risultati di BeBlue abbiano consentito di **raggiungere per la prima volta nell'area di programma TRL 7**, "Dimostrazione di un prototipo in ambiente operativo", partendo da TRL 4 "Tecnologia convalidata in laboratorio", così come desumibile da precedenti esperienze in progetti di ricerca, quali "SIMTAP" <https://www.simtap.eu/>, finanziato nell'ambito del programma PRIMA "NewTechAqua", <https://cordis.europa.eu/project/id/862658>, finanziato nell'ambito del programma H2020.

I dati quantitativi raccolti, infatti, hanno consentito di:

- ottenere **stime quantitative dei tassi di crescita di salicornia e lattuga di mare**, in relazione ai fattori che possono condizionarli, quali concentrazioni di sostanze disciolte, temperatura dell'acqua e dell'aria;
- valutare vantaggi e svantaggi di diverse strategie di monitoraggio, ivi inclusi i test ecotossicologici, sia in termini di costi iniziali che operativi;
- valutare in maniera puntuale i consumi energetici del sistema, premessa indispensabile per orientare la loro ottimizzazione;
- quantificare i bilanci di massa, in particolare dell'azoto, aprendo la via ad una miglior comprensione dei, complessi, processi biologici e chimici che hanno luogo in un sistema acquaponico;
- fornire una solida base dati per lo sviluppo e validazione del modello dinamico, sviluppato nell'attività A1.4 e descritto nel Deliverable D1.4.2, che costituisce l'elemento fondamentale del "gemello digitale" o Digital Twin di un sistema acquaponico.

L'ultimo risultato è di estremo rilievo per l'ulteriore sviluppo dell'acquaponica marina: il modello dinamico, accessibile gratuitamente attraverso un'interfaccia utente che sarà finalizzata nell'ultimo semestre di progetto, consente infatti valorizzare e generalizzare i risultati

qui presentati, utilizzandoli sia in fase di progettazione sia in fase di ottimizzazione della gestione.

6. Bibliografia

Fore M., Frank K., Norton T., Svendsen E., Alfredsen J.O., Dempster T., Eguiraun H., Watson W., Stahl A., Sunde L.M., Schellewald C., Skoien K.R., Alver M.O., Berckmans D., 2018. Precision fish farming: a new framework to improve production in aquaculture. *Biosyst Eng* 173:176–193. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2017.10.014>

Royer, E. & Pastres, R., 2022. Data assimilation as a key step towards the implementation of an efficient management of dissolved oxygen in land-based aquaculture. *Aquaculture International*. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-01028-w>.

dos Santos, A. M., Bernardino, L. F., Attramadal, K. J. K., & Skogestad, S. (2023a). Steady-state and dynamic model for recirculating aquaculture systems with pH included. *Aquacultural Engineering*, 102, 102346. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2023.102346>

Bolzonella, M., Rizzi, R. Pastres, R. Modelling system for the eco-intensification of a seabass and seabream inland fish farming. Deliverable D4.2 NewTechAqua H2020 project. <https://cordis.europa.eu/project/id/862658>.

Shpigel, M., Ben-Ezra, D., Shauli, L., Sagi, M., Ventura, Y., Samocha, T., & Lee, J. J. (2013). Constructed wetland with *Salicornia* as a biofilter for mariculture effluents. *Aquaculture*, 412–413, 52–63. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.038>

O'Leary, J. W., Glenn, E. P., & Watson, M. C. (1985). Agricultural production of halophytes irrigated with seawater. *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water*, 311–321. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5111-2_21

Sumeth Wongkiewa, Zhen Hub, Kartik Chandranc, Jae Woo Leed, Samir Kumar Khanala,* Nitrogen transformations in aquaponic systems: A review. *Aquacultural Engineering* 76 (2017) 9–19

7. APPENDICE A

A cura di Matteo Maglito e Marco Francese

INTRODUZIONE

Monitoraggio della qualità dell'acqua

I **test ecotossicologici** rappresentano uno strumento essenziale nel **monitoraggio degli impianti di acquaponica, fornendo informazioni complementari** e spesso più approfondite rispetto ai tradizionali **parametri chimico-fisici**. Mentre questi ultimi (pH, temperatura, ossigeno disciolto, livelli di sostanze azotate e fosfate) descrivono le condizioni ambientali istantanee dell'impianto, i test ecotossicologici valutano l'effettivo impatto biologico di tali condizioni, rivelando **effetti sub-letali e letali** che potrebbero sfuggire alle analisi chimiche convenzionali.

La particolare sensibilità degli organismi utilizzati nei test ecotossicologici permette di rilevare precocemente alterazioni ambientali, fungendo da **sistema di allarme anticipato** per potenziali criticità del sistema. Un esempio significativo è il **monitoraggio dell'eutrofizzazione**, fenomeno complesso innescato dall'eccesso di nutrienti (principalmente azoto e fosforo) che può compromettere severamente l'equilibrio dell'ecosistema acquaponico. In questo contesto, i test ecotossicologici consentono di valutare tempestivamente gli effetti biologici dell'accumulo di nutrienti, permettendo interventi preventivi mirati.

L'integrazione tra test ecotossicologici e analisi chimico-fisiche costituisce un approccio olistico alla valutazione del rischio ambientale, fondamentale per **comprendere le complesse interazioni tra i diversi composti chimici e i loro effetti sinergici sugli organismi acquatici**. Questo metodo integrato supporta una gestione più consapevole e sostenibile dell'impianto, garantendo condizioni ottimali per la crescita di pesci e piante e promuovendo la stabilità a lungo termine dell'intero sistema acquaponico.

CONTESTO E METODOLOGIA

Per valutare la qualità delle acque dell'impianto di acquaponica marina, situato al Campus Scientifico di Mestre dell'Università di Ca' Foscari Venezia, sono stati selezionati due **organismi bioindicatori**: il **riccio di mare *Paracentrotus lividus*** e la **microalga marina *Isochrysis galbana***. La scelta di questi organismi è stata determinata sia per la loro **elevata sensibilità ai nutrienti** come i composti azotati e fosfati, componenti critici nei sistemi acquaponici, sia per la **semplicità e rapidità dei protocolli di test**.

Paracentrotus lividus

Il **saggio di fecondazione** (spermiotossicità) con il riccio di mare *Paracentrotus lividus* è stato condotto seguendo il protocollo standardizzato descritto in ISPRA, Quaderni – Ricerca Marina 11/2017. Il test prevede l'esposizione di una quantità definita di gameti maschili alle soluzioni da analizzare, con l'obiettivo di **valutare l'eventuale inibizione della loro capacità fecondante**. Il protocollo prevede una fase iniziale di esposizione dello sperma al campione della durata di 1 ora, seguita da una fase di fecondazione di 20 minuti. Successivamente, si procede alla lettura del test al microscopio ottico. L'**endpoint** valutato è la **percentuale di uova che non mostrano la membrana di fecondazione**, visibile come un alone chiaro intorno all'uovo. Nel processo di analisi vengono considerate fecondate solo le uova che presentano questa membrana completamente o parzialmente formata, mentre vengono considerate non fecondate sia le uova immature che quelle che mostrano segni di danneggiamento (Fig. A-1). L'influenza delle sostanze tossiche sulla fecondazione è legata principalmente al loro effetto sulla motilità degli spermatozoi. Gli spermatozoi sono particolarmente sensibili alle variazioni di pH, temperatura e pressione osmotica, che possono compromettere sia la loro capacità di movimento che i meccanismi molecolari necessari per il riconoscimento e la penetrazione dell'ovocita. **Le diverse forme azotate disciolte possono interferire significativamente con il processo di fecondazione.** L'**ammoniaca** ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) può alterare direttamente la motilità spermatica attraverso modificazioni del pH intracellulare e della funzionalità mitocondriale, compromettendo la capacità degli spermatozoi di raggiungere l'ovocita. I **nitrati** (NO_3^-), sebbene meno tossici, a concentrazioni elevate possono interferire con il metabolismo energetico degli spermatozoi, riducendo la loro efficienza di movimento. I **nitriti** (NO_2^-) sono particolarmente critici poiché possono compromettere i meccanismi di fosforilazione ossidativa necessari per la motilità spermatica e possono inoltre interferire con le proteine di superficie coinvolte nel riconoscimento gamete-specifico.

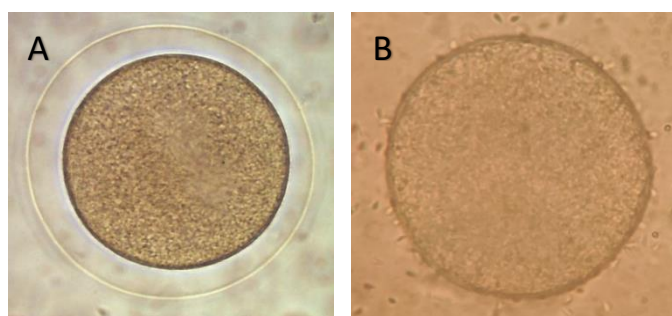


Figura A-1 - Uovo di *Paracentrotus lividus*
(A) fecondato e (B) non fecondato

Isochrysis galbana

Isochrysis galbana (Fig. A-2) è una microalga marina unicellulare che è stata scelta come organismo test per la sua particolare **sensibilità ai composti azotati**. Sebbene questi composti siano la principale fonte di nutrimento, **alte concentrazioni** di azoto e fosforo possono creare **alterazioni nella loro fisiologia**, rendendo questo organismo particolarmente adatto al monitoraggio della qualità delle acque in sistemi acquaponici marini, dove il controllo dei composti azotati e fosfati risulta cruciale. La risposta dell'organismo all'esposizione ai nutrienti in eccesso si manifesta attraverso modifiche significative nella produzione di tre principali pigmenti: **clorofilla a, clorofilla c e carotenoidi totali**. Le diverse forme azotate presenti nell'acqua influenzano in modo specifico la sintesi di questi pigmenti. L'**ammoniaca**, che rappresenta la forma più tossica, causa rapide alterazioni nel contenuto pigmentario attraverso modifiche del pH intracellulare e del metabolismo energetico. I **nitrati**, pur essendo una fonte di azoto utilizzabile dall'organismo, quando presenti in concentrazioni eccessive possono indurre stress ossidativo compromettendo la sintesi dei pigmenti. I **nitriti**, invece, interferiscono principalmente con i processi di trasporto degli elettroni nella fotosintesi, influenzando direttamente l'efficienza fotosintetica e la conseguente produzione di pigmenti.

Per la conduzione dei test, è stato seguito il protocollo stabilito dal metodo APAT-IRSA/CNR (Manuali e Linee Guida 29/2003). Le alghe, prelevate dalla coltura madre, sono state esposte ai campioni per un periodo di 96 ore. Al termine dell'esposizione, la biomassa algale è stata raccolta e i pigmenti sono stati estratti utilizzando acetone al 90% come solvente, con un'incubazione di 24 ore. La quantificazione finale della concentrazione dei pigmenti è stata effettuata attraverso misure spettrofotometriche a diverse lunghezze d'onda appropriata.

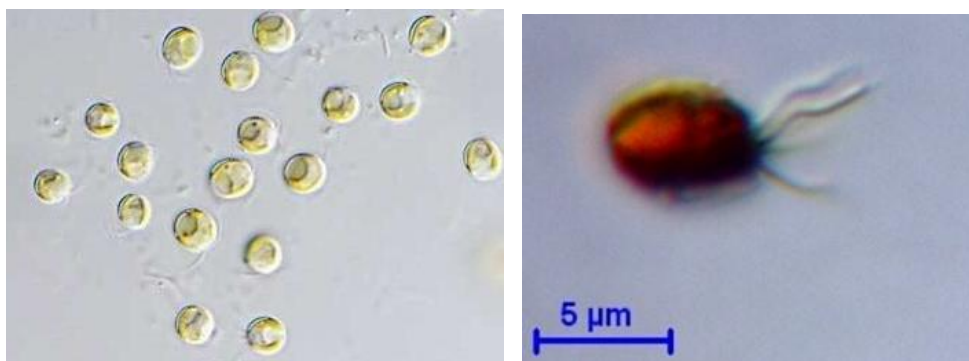


Figura A-2 - *Isochrysis galbana*

APPLICAZIONE PRATICA

L'implementazione di un sistema di monitoraggio biologico basato sulla microalga *Isochrysis galbana* si propone come strumento **complementare alle analisi chimiche** negli impianti acquaponici. L'importanza di integrare questo approccio biologico risiede nella sua capacità di fornire una valutazione più integrata dello stato del sistema. Mentre le analisi chimiche

forniscono una "fotografia" istantanea dei parametri dell'acqua, l'utilizzo di bioindicatori permette di **valutare l'effetto biologico cumulativo** delle condizioni dell'impianto, fungendo da sistema ricognitivo per potenziali criticità. I bioindicatori possono dunque rivelare problematiche che potrebbero non essere immediatamente evidenti attraverso le sole analisi chimiche, permettendo **l'early warning** e quindi interventi preventivi per una gestione più efficiente dell'impianto.

Isochrysis galbana è stata scelta per la sua ampia **disponibilità commerciale** e il **diffuso utilizzo** nel settore dell'acquacoltura. Questa alga unicellulare è comunemente impiegata come coltura alimentare per gli stadi larvali di molluschi, crostacei e avannotti di diverse specie ittiche marine, rendendone agevole il reperimento presso fornitori specializzati. La sua ampia diffusione e l'utilizzo in ambito marino la rendono uno strumento particolarmente adatto per il monitoraggio biologico degli impianti acquaponici salati, unendo una solida base di conoscenza scientifica con la praticità del metodo, adottabile anche da un allevatore o un agricoltore.

Infatti, già la sola osservazione visiva del colore delle alghe in una cuvette può fornire indicazioni preliminari significative sulla salute dell'impianto: una **colorazione** che si discosta dal tipico tono dorato-brunastro può segnalare alterazioni dei parametri di crescita, stress metabolico o squilibri nutrizionali. Per un'analisi più dettagliata del contenuto dei pigmenti, è possibile ricorrere a **tecniche spettrofotometriche** che consentono di determinare con precisione la composizione e la concentrazione dei pigmenti fotosintetici, fornendo informazioni quantitative sullo stato metabolico e lo stress delle microalghe.

Un importante aspetto tecnico è rappresentato dalla possibilità di **collegare alcuni fotobioreattori** per la crescita della popolazione di alghe unicellulari, direttamente all'impianto acquaponico senza richiedere modifiche strutturali complesse, permettendo un'implementazione rapida e poco invasiva. Vi è dunque la possibilità di implementare il sistema come **soluzione "self-made"**, dopo una formazione iniziale adeguata ad allevatori o agricoltori. Dal punto di vista economico, dunque, il sistema può essere interessante anche per piccoli produttori. Il setup iniziale richiede un investimento contenuto per l'acquisto di attrezzature base come un fotobioreattore e uno spettrofotometro portatile da campo, che può essere lo stesso da utilizzare per le analisi chimiche. I costi di gestione sono limitati principalmente all'acquisto del terreno di coltura e dei materiali di consumo, rendendo il sistema sostenibile nel lungo termine. L'investimento iniziale può essere ammortizzato attraverso la **riduzione della frequenza delle analisi chimiche esterne** e, soprattutto, grazie alla prevenzione di problematiche che potrebbero richiedere interventi costosi. Infine, i produttori possono sviluppare un proprio database di riferimento specifico per il loro impianto, integrando il monitoraggio biologico con le normali pratiche di gestione.

Mentre l'alga unicellulare descritta qui sopra si configura come un bioindicatore accessibile, utilizzabile anche da personale non specializzato, il test con il **riccio di mare *Paracentrotus lividus*** richiede invece competenze più specifiche e un contesto di laboratorio. Ciò nonostante, il test con il riccio di mare resta comunque un metodo rapido, semplice e veloce per il monitoraggio biologico, garantendo un'efficacia diagnostica significativa.

MANTENIMENTO DEGLI ORGANISMI TEST

Gli esemplari di *Paracentrotus lividus* utilizzati nella sperimentazione sono stati **prelevati nel Golfo di Trieste** nel novembre 2023 e mantenuti presso lo stabulario della sede Shoreline, situato in Area Science Park di Padriciano (TS) per l'intera durata dei test. Le condizioni di **stabulazione** sono state costantemente **monitorate** per garantire il benessere degli organismi, con particolare attenzione al controllo della temperatura, della salinità, dell'ossigenazione e della qualità dell'acqua. Gli acquari sono stati regolarmente **puliti** e dotati di sistemi di filtrazione adeguati. Gli organismi sono stati adeguatamente **alimentati** per il mantenimento attivo delle gonadi e mantenuti con un fotoperiodo appropriato. Dopo un periodo di acclimatazione, gli esemplari sono stati **identificati per sesso** e separati in vasche distinte per maschi e femmine (Fig. A-3). È importante sottolineare che durante l'intera sperimentazione lo stato di salute degli organismi è stato costantemente monitorato, non mostrando mai segni di compromissione.



Figura A-3 - *Paracentrotus lividus* (A) femmine e (B) maschi

Le colture di *Isochrysis galbana* sono state mantenute nelle medesime strutture, in **condizioni ambientali controllate** con particolare attenzione alla temperatura, al regime luminoso e all'ossigenazione (Fig. A-4). Le microalghe sono state coltivate utilizzando il terreno di coltura Guillard f/2, con un ricambio settimanale delle colture per mantenere popolazioni in fase di crescita ottimale.

Per entrambi gli organismi è stata **utilizzata acqua marina naturale** sottoposta a un rigoroso processo di **sterilizzazione**, che ha previsto sia il trattamento con raggi UV sia la filtrazione attraverso filtri in fibra di vetro da 0,22 micrometri. Questo protocollo di gestione ha permesso di garantire condizioni ottimali per il mantenimento degli organismi e l'affidabilità dei test ecotossicologici effettuati.



Figura A-4 - Stabulazione delle colture algali

PIANO DI CAMPIONAMENTO

Lo studio è stato condotto attraverso **quattro campionamenti effettuati tra maggio e ottobre 2024**. Nella configurazione iniziale, presente durante i primi due campionamenti (maggio e giugno 2024), l'impianto era costituito da due linee produttive: una dedicata alla *Salicornia europaea* e una all'*Ulva lactuca*. A partire dal terzo campionamento (settembre 2024), l'impianto è stato modificato sostituendo la linea dell'*Ulva* con una nuova linea dedicata alla *Sarcocornia*.

Ogni campionamento ha previsto la raccolta di campioni di acqua in quattro punti per ogni linea dell'impianto (Tab. 1), essi comprendevano **l'ingresso e l'uscita dalle vasche dei pesci**, e la **sezione di coltivazione**, anch'essa monitorata in **entrata e uscita** (Fig. A-5). Per ogni punto di campionamento sono stati prelevati 250 mL di acqua, sui quali sono state effettuate sia le **analisi dei parametri chimico-fisici** sia i **test ecotossicologici**. Il *Paracentrotus lividus* è stato utilizzato come organismo test nei primi due campionamenti, mentre *Isochrysis galbana* è stata impiegata in tutti e quattro i campionamenti, permettendo di monitorare l'evoluzione del sistema anche dopo la modifica strutturale dell'impianto.

Punti di campionamento		SALICORNIA	ULVA	SARCOCORNIA
a	Ingresso acqua vasche pesci	SF_IN	UF_IN	sarF_IN
b	Uscita acqua vasche pesci	SF_OUT	UF_OUT	sarF_OUT
c	Entrata acqua coltivazioni	SP_IN	UP_IN	sarP_IN
d	Uscita acqua coltivazioni	SP_OUT	UP_OUT	sarP_OUT

Tabella A-1 – Descrizione dei punti di campionamento

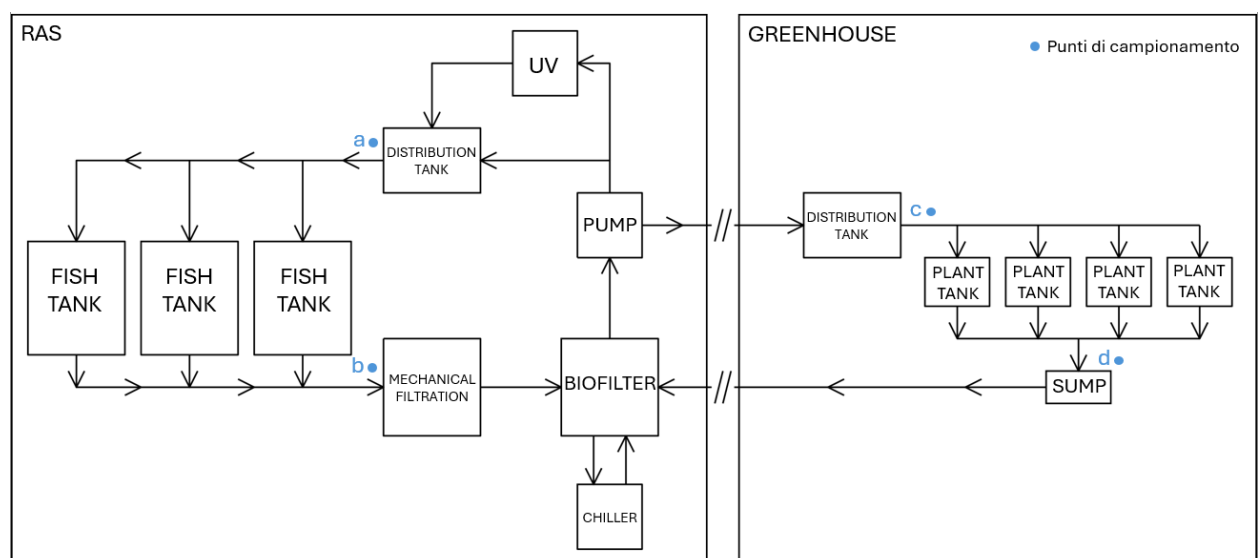


Figura A-5 - Schema impianto pilota di Mestre. I punti blu rappresentano i punti di campionamento: (a) ingresso acqua per i pesci, (b) uscita acqua dei pesci, (c) ingresso acqua per le coltivazioni, (d) uscita acqua delle coltivazioni



Figura A-6 - Campionamento dell'impianto di acquaponica di Mestre

ANALISI STATISTICA

I dati raccolti nei test ecotossicologici sono stati sottoposti a un'analisi statistica completa per valutare gli effetti dei nutrienti sugli organismi test. Per il test di fecondazione con riccio di mare *P. lividus*, è stata calcolata la **percentuale media di uova non fecondate** e la relativa deviazione standard per ogni punto di campionamento. Per valutare la tossicità dei campioni è stato calcolato l'**EC20** e l'**EC50** (concentrazione che causa un effetto sul 20% e 50% della popolazione) attraverso un'analisi probit delle percentuali di effetto ottenute nelle diverse diluizioni (100%, 50%, 25%) di ogni campione. Questo parametro ha permesso di quantificare e confrontare la tossicità relativa dei diversi punti di campionamento.

Per l'alga unicellulare *I. galbana*, sono state analizzate le **percentuali di inibizione della produzione dei pigmenti** (clorofilla a, c e carotenoidi totali) rispetto al controllo negativo. Per ogni campione sono state calcolate le medie e le deviazioni standard, rappresentate successivamente tramite **grafici a barre**. L'altezza delle barre rappresenta la percentuale di inibizione dei pigmenti. Barre più basse indicano una minor inibizione, indicando un buono stato di salute fisiologica dell'organismo. Al contrario, barre più alte rappresentano un'elevata percentuale di inibizione, segno di un significativo stress fisiologico che interferisce con la normale produzione dei pigmenti fotosintetici. Nella parte superiore dei grafici vengono rappresentate le **concentrazioni di nitrati** (NO_3^-) e **fosfati** (PO_4^{3-}) per ciascun campione.

Per valutare le **relazioni tra i parametri chimici** (NO_3^- , PO_4^{3-} , NH_4^+ , NO_2^-) e gli **effetti biologici osservati**, sono state effettuate analisi di **correlazione di Spearman** e **regressioni lineari**. Il coefficiente di correlazione di Spearman è stato scelto per la sua robustezza e capacità di identificare relazioni monotone non necessariamente lineari. Per le correlazioni più significative, sono state sviluppate regressioni lineari per quantificare la relazione tra le variabili, calcolando il coefficiente di determinazione (R^2), coefficiente di correlazione (R) e significatività statistica (p-value).

RISULTATI

Paracentrotus lividus

L'analisi degli **effetti sulla capacità riproduttiva del riccio di mare *Paracentrotus lividus*** è stata condotta nei primi due campionamenti dell'impianto acquaponico, utilizzando questo organismo come bioindicatore della qualità delle acque. Lo studio ha valutato la **percentuale di uova non fecondate** in relazione ai campioni prelevati dagli otto punti strategici dell'impianto: punti di ingresso e uscita delle vasche dei pesci SF-IN/OUT e delle zone di coltivazione SP-IN/OUT per la linea della Salicornia, e analogamente UF-IN/OUT e UP-IN/OUT per la linea dell'Ulva. Per ogni punto di campionamento sono state testate tre diverse concentrazioni del campione (100%, 50% e 25%) per la valutazione dell'**EC20** e dell'**EC50**, è stata poi prestata particolare attenzione alla **concentrazione del 100%** (campione tal quale) che ha evidenziato gli effetti più significativi. Ogni campione presentava una propria caratteristica composizione di nutrienti (NO_3^- , PO_4^{3-} , NH_4^+ , NO_2^-), riflettendo le condizioni specifiche di ciascun punto del sistema. I risultati hanno evidenziato **differenze significative tra i due campionamenti**, con un'evoluzione marcata della risposta biologica che riflette i cambiamenti nelle condizioni dell'impianto. Di seguito vengono presentati in dettaglio i risultati, organizzati cronologicamente e per tipologia di analisi.

Relazione dose – risposta

L'analisi dell'**EC20** e **EC50** nei test di fecondazione con il riccio di mare *P. lividus* ha fornito importanti informazioni sulla sensibilità del sistema di monitoraggio dell'impianto acquaponico. I risultati mostrano un'evoluzione interessante tra i due campionamenti, rivelando la capacità del test di identificare alterazioni precoci nella qualità dell'acqua. Nel **primo campionamento di maggio 2024**, sia l'EC20 che l'EC50 risultano superiori al 100% in tutti i punti di campionamento, indicando che **la massima concentrazione testata non è in grado di indurre effetti significativi sulla fecondazione**. Questa risposta stabilisce una chiara linea di base per la valutazione del sistema. Il **secondo campionamento di giugno 2024** mostra un quadro più articolato: mentre i valori di EC50 rimangono superiori al 100%, indicando l'assenza di effetti severi, i valori di EC20 iniziano a mostrare una risposta in alcuni punti di campionamento scendendo al di sotto del 90%, evidenziando l'**inizio di effetti subletali**. Questa caratteristica del test, ovvero la capacità di rilevare effetti precoci (EC20) pur mantenendosi in un range di tossicità non critico (EC50 >100%), lo rende particolarmente adatto come sistema di **early warning** per il monitoraggio dell'impianto acquaponico.

Valutazione della capacità fecondante di *P. lividus* in risposta ai campioni non diluiti (tal quale)

Percentuale di uova non fecondate di *P. lividus* – primo campionamento

Nel saggio di **fecondazione sui campioni di maggio 2024 su riccio di mare**, si osserva una variabilità relativamente contenuta, con **valori che oscillano tra il 5% e il 15%**. I punti UF-IN e UF-OUT mostrano le percentuali più elevate di uova non fecondate (circa 15%), corrispondenti anche alle concentrazioni più alte di nutrienti (NO₃: 95.4 e 99.4 mg/L; PO₄: 8.5 e 5.6 mg/L). Le barre di errore relativamente contenute suggeriscono una buona riproducibilità dei risultati. È interessante notare come i punti "IN" e "OUT" di ogni coppia mostrano valori simili, suggerendo una certa omogeneità spaziale dell'effetto (Fig. A-7).

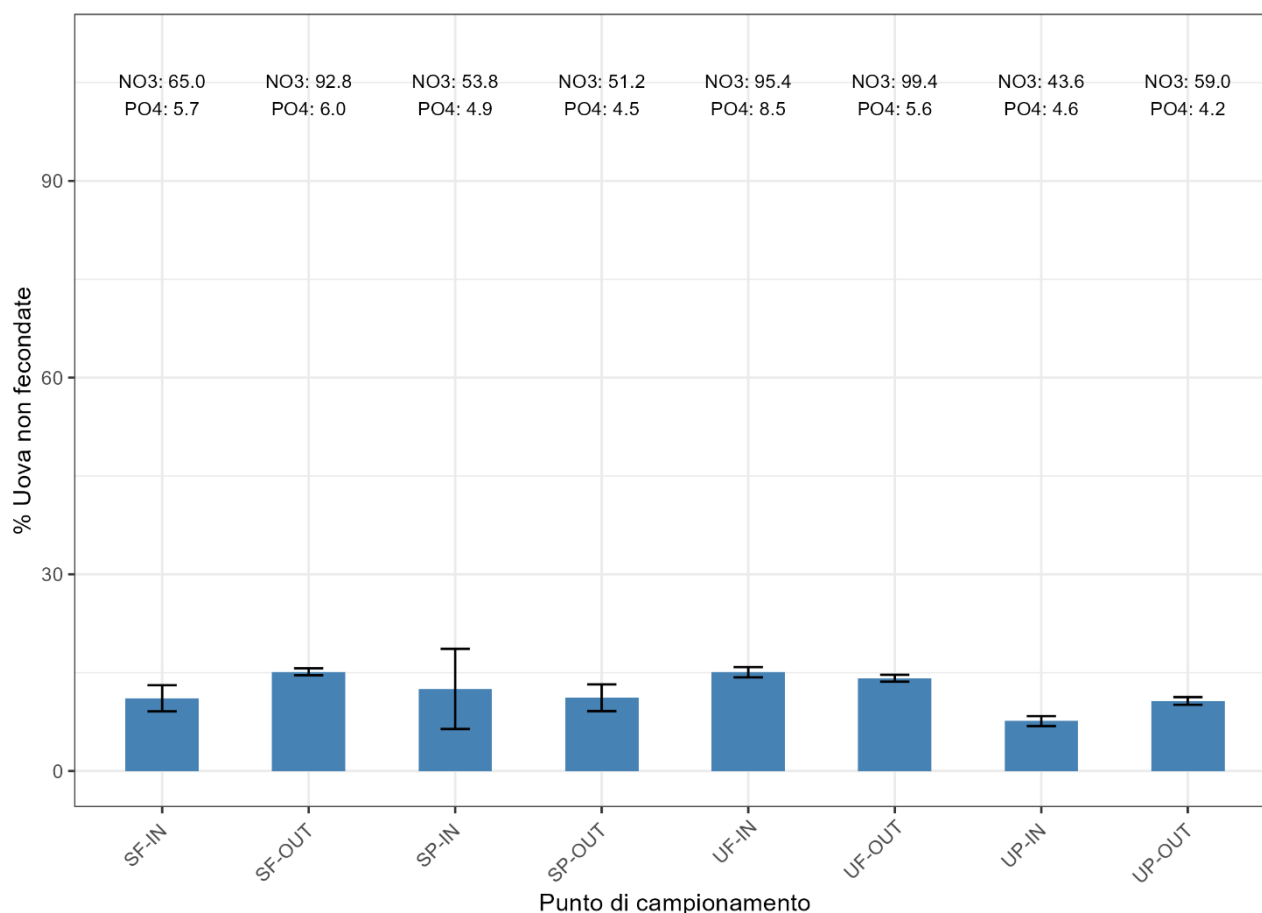


Figura A-7 – Percentuale di uova non fecondate di *P. lividus* in relazione alle concentrazioni di nitrati (NO₃) e fosfato (PO₄) nei diversi punti di campionamento dell'impianto acquaponico, primo campionamento maggio 2024.

Percentuale di uova non fecondate di *P. lividus* – secondo campionamento

I **risultati dei test con riccio di mare sulle acque** del secondo campionamento, effettuato a **giugno 2024**, mostra un **incremento significativo nella percentuale di uova non fecondate** rispetto al primo campionamento, con valori che riflettono l'aumento delle concentrazioni di nutrienti nel sistema (Fig. 8).

Il **punto SF-IN** (ingrasso dell'acqua dei pesci della linea Salicornia) presenta la **percentuale più elevata di uova non fecondate** (circa 45%), coincidente con le massime concentrazioni di nutrienti registrate (TN: 274.8 mg/L, PO_4^{3-} : 15.4 mg/L). Si osserva un gradiente di effetto lungo la linea della Salicornia, con una riduzione dell'inibizione nel punto SF-OUT (35%) e un'ulteriore diminuzione nei punti SP-IN e SP-OUT (20-30%).

La **linea dell'Ulva** mostra un pattern più uniforme, con **percentuali di uova non fecondate** che si attestano intorno al **30-35%** e concentrazioni di nitrati relativamente costanti (NO_3 : 188-206 mg/L).

Le barre di errore relativamente contenute indicano una buona riproducibilità dei risultati, suggerendo una risposta biologica stabile, confermando l'affidabilità dei risultati ottenuti nella valutazione della tossicità dei diversi campioni.

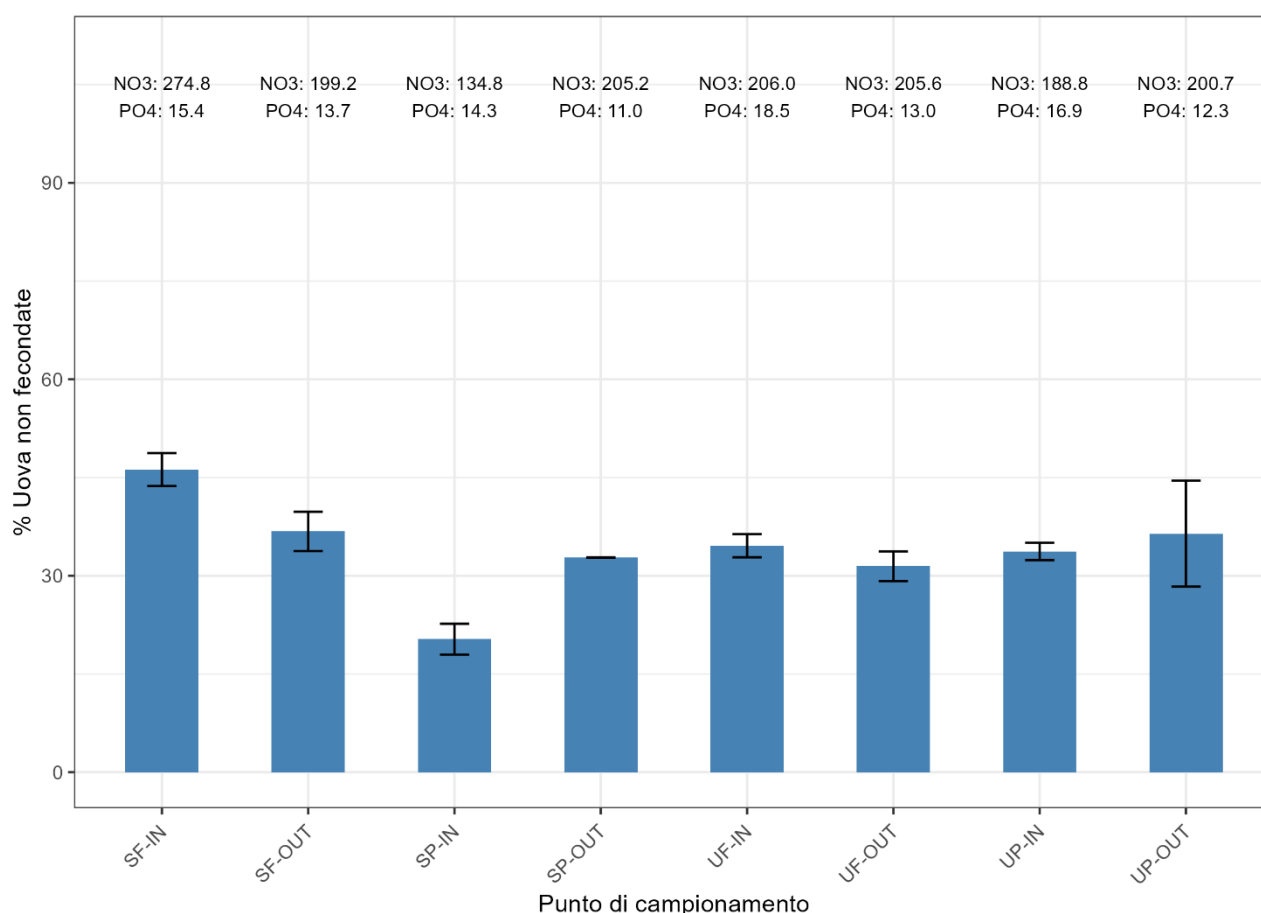


Figura A-8 - Percentuale di uova non fecondate di *P. lividus* in relazione alle concentrazioni di nitrati (NO_3) e fosfato (PO_4) nei diversi punti di campionamento dell'impianto acquaponico, secondo campionamento giugno 2024.

Analisi di regressione tra NO_3^- e percentuale di uova non fecondate

L'analisi di regressione tra la **concentrazione di nitrati** (NO_3^-) e la **percentuale di uova non fecondate** nel riccio di mare *P. lividus* mostra una **relazione estremamente forte e significativa**. Il coefficiente di correlazione ($R = 0.978$) e il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.956$) indicano che il 95.6% della variabilità nella percentuale di uova non fecondate può essere spiegata dalla concentrazione di nitrati, con una significatività statistica elevata ($p <$

0.01) (Fig. A-9). La retta di regressione mostra una chiara tendenza lineare positiva, indicando che **all'aumentare della concentrazione di nitrati si verifica un incremento proporzionale nella percentuale di uova non fecondate**. I punti si distribuiscono in modo molto uniforme lungo la linea di regressione, con una dispersione minima, come evidenziato dall'intervallo di confidenza (area grigia) particolarmente stretto. La relazione appare particolarmente robusta nell'intero range di concentrazioni osservate (0-250 mg/L NO_3^-), suggerendo un effetto dose-dipendente costante. Si può osservare come concentrazioni di nitrati superiori a 200 mg/L corrispondano a percentuali di uova non fecondate superiori al 35%, mentre a basse concentrazioni (< 50 mg/L) l'effetto sulla fecondazione è minimo (< 10%). Questa forte relazione lineare conferma il ruolo cruciale dei nitrati nell'inibizione del processo di fecondazione e supporta l'utilizzo di *P. lividus* come efficace bioindicatore della qualità dell'acqua in sistemi acquaponici.

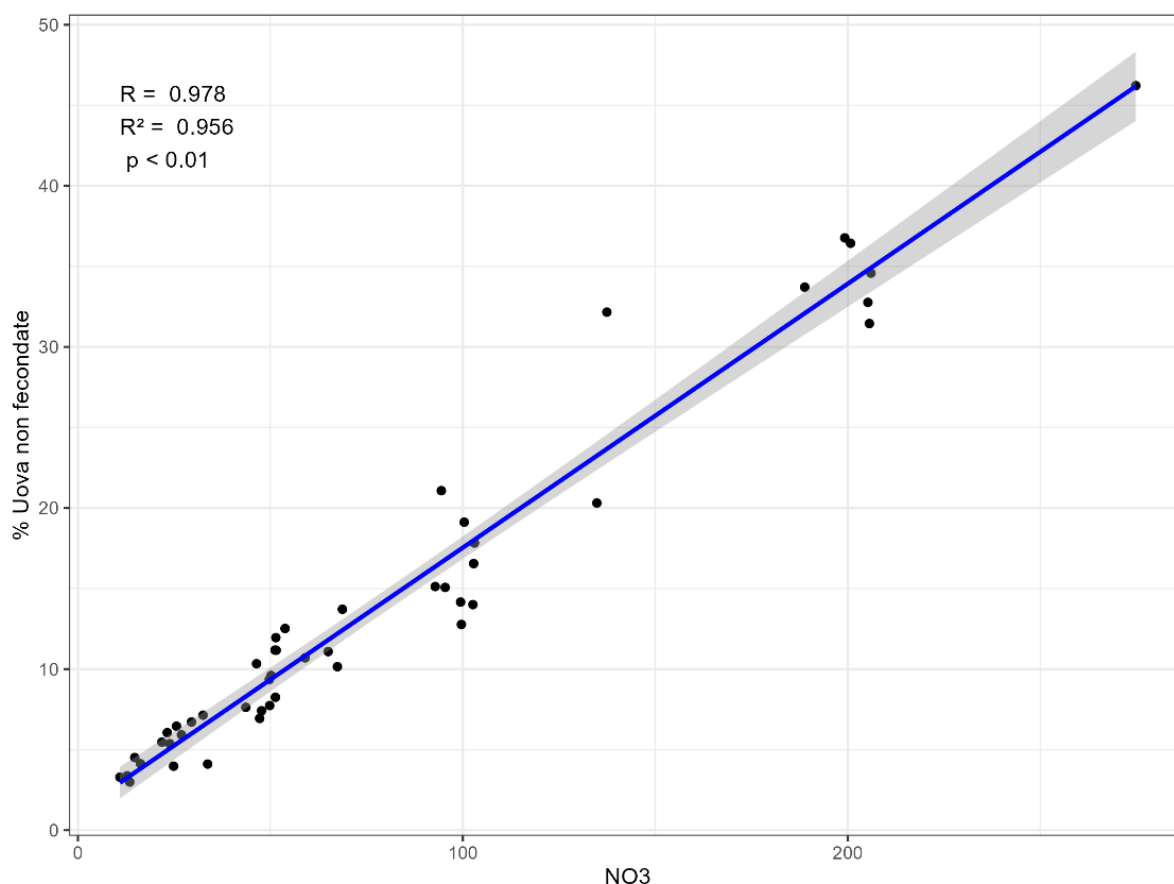


Figura A-9 - Analisi di regressione tra la concentrazione di nitrati e la percentuale di uova non fecondate di *P. lividus*.

Analisi di regressione tra PO_4^{3-} e percentuale di uova non fecondate

L'analisi di regressione tra la **concentrazione di fosfati** (PO_4^{3-}) e la **percentuale di uova non fecondate** mostra una correlazione forte ($R = 0.91$) e statisticamente significativa ($p < 0.01$). Il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.829$) indica che l'82.9% della variabilità nella percentuale di uova non fecondate può essere spiegata dalla concentrazione di fosfati (Fig. 10). Si osserva che **all'aumentare della concentrazione dei fosfati** (da 2 a 15 mg/L) la

percentuale di uova non fecondate aumenta progressivamente, raggiungendo valori superiori al 30% alle concentrazioni più elevate. La retta di regressione evidenzia una relazione lineare positiva, sebbene con una maggiore dispersione dei punti rispetto a quanto osservato per i nitrati. L'intervallo di confidenza (area grigia) appare più ampio, specialmente alle concentrazioni più elevate di fosfati, indicando una maggiore variabilità nella risposta biologica. Questa relazione, sebbene meno stretta rispetto a quella osservata per i nitrati, conferma comunque il ruolo significativo dei fosfati nell'inibizione della fecondazione in *P. lividus* e supporta l'importanza del monitoraggio di questo parametro nei sistemi acquaponici.

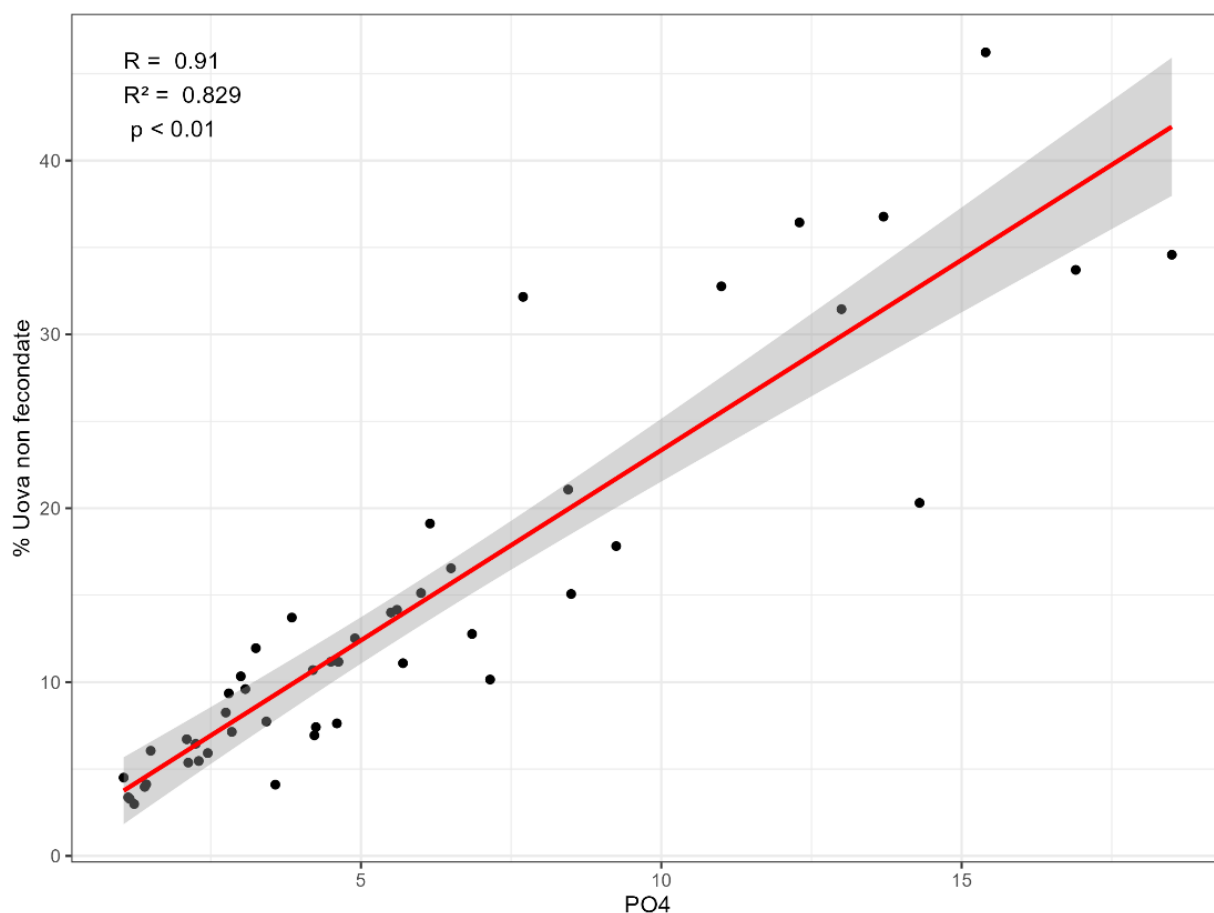


Figura A-10 - Analisi di regressione tra la concentrazione di fosfati e la percentuale di uova non fecondate di *P. lividus*.

Isocrysis galbana

Effetto della concentrazione di azoto e fosfato sul pigmento

In questo studio è stata valutata la risposta fisiologica dell'**alga unicellulare *Isocrysis galbana*** alle acque dell'impianto acquaponico, attraverso l'**analisi dell'inibizione nella sintesi dei principali pigmenti fotosintetici** rispetto al controllo negativo. Lo studio si è

focalizzato sull'analisi delle concentrazioni di **clorofilla a (Chl a)**, **clorofilla c (Chl c)** e **carotenoidi totali**, espressi in mg/L, utilizzando questi parametri come indicatori dello stress fisiologico dell'organismo (Fig. A-11). La ricerca si è sviluppata attraverso quattro campionamenti effettuati tra maggio e ottobre 2024, durante i quali l'impianto ha subito una significativa modifica strutturale. Nei primi due campionamenti, l'impianto operava con due linee produttive dedicate rispettivamente alla *Salicornia* e all'*Ulva lactuca*. A partire dal terzo campionamento, l'*Ulva* è stata sostituita con la *Sarcocornia*.

Nei risultati ottenuti, *I. galbana* esposta ai campioni contenenti diverse concentrazioni di azoto e fosfato ha mostrato una notevole variabilità nei contenuti di clorofilla e carotenoidi. In particolare, concentrazioni **eccessive di azoto** hanno determinato un'**inibizione della sintesi di tutti i pigmenti fotosintetici**. Parallelamente, durante le 96 ore di coltivazione, il **colore** della coltura è mutato dal tipico tono dorato-brunastro intenso a un giallo-marrone chiaro nei campioni con maggiore inibizione dei pigmenti.

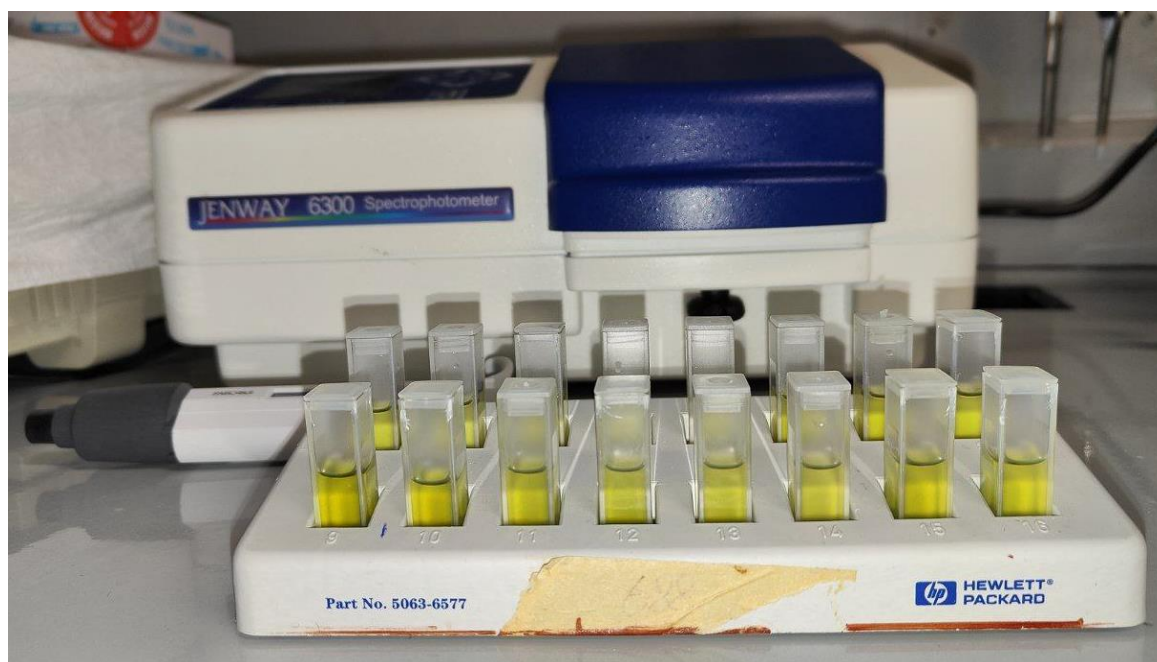


Figura 11 – Pigmenti estratti di *Isocrysis galbana*

Percentuale di inibizione dei pigmenti di *I. galbana* – primo campionamento

Nei risultati del **primo campionamento**, effettuato a fine **maggio 2024**, si osserva una **percentuale di inibizione generalmente contenuta** (<25%) per tutti i parametri analizzati (carotenoidi totali, clorofilla a e clorofilla c) in tutti i punti di campionamento (Fig. A-12). Le **concentrazioni di nutrienti** si mantengono relativamente **moderate**, con valori di nitrati (NO₃) che variano da 43.60 a 99.40 mg/L e fosfati (PO₄) da 4.20 a 8.50 mg/L. La distribuzione

dell'inibizione tra i tre pigmenti è relativamente uniforme. Le barre di errore relativamente contenute indicano una buona riproducibilità dei risultati. È interessante notare come i punti di ingresso (IN) e uscita (OUT) di ogni coppia mostrano valori simili, suggerendo una limitata capacità del sistema di modificare significativamente la qualità dell'acqua in questa fase iniziale. Questi risultati indicano che, in questo primo campionamento, l'impianto acquaponico mantiene condizioni relativamente stabili con un impatto moderato sulla fisiologia di *I. galbana*.

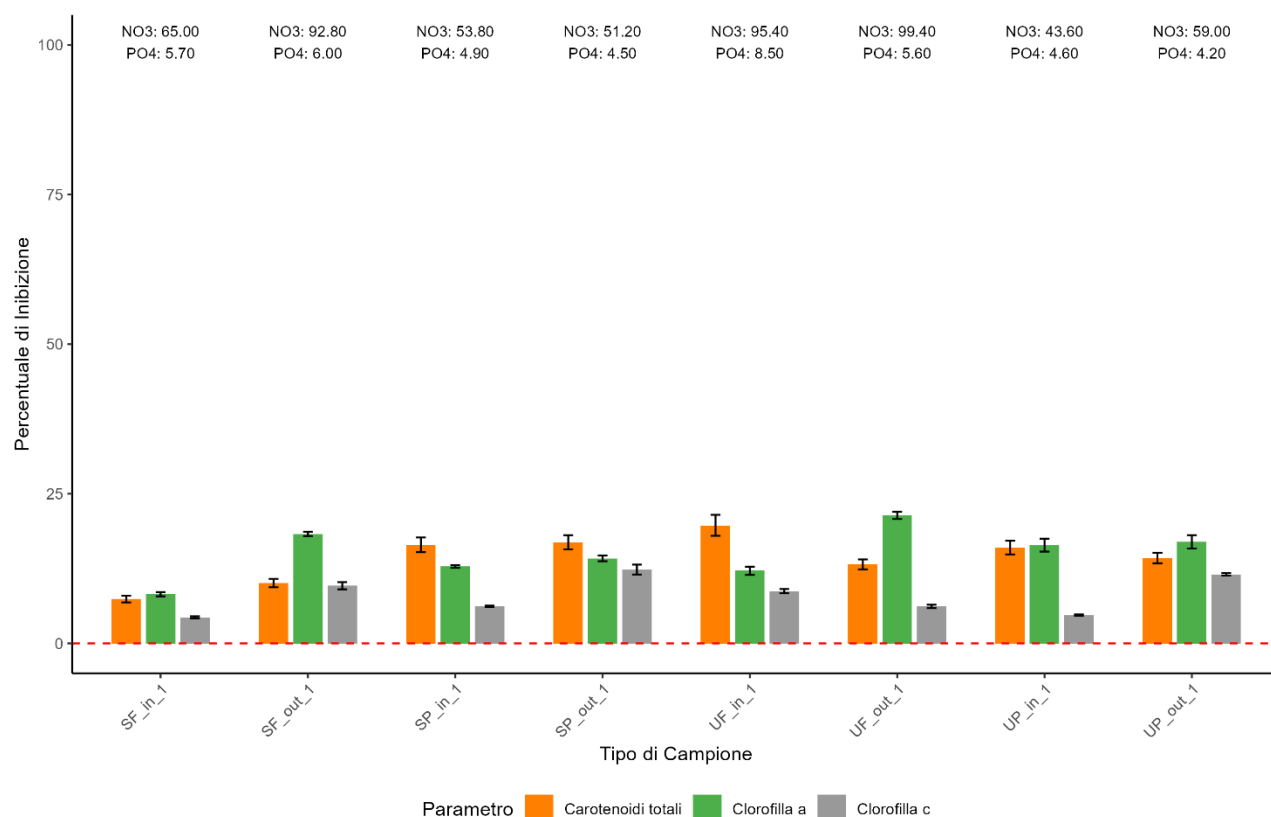


Figura A-12 - Percentuale di inibizione dei pigmenti (carotenoidi totali, clorofilla a e clorofilla c) in *I. galbana* esposta ai campioni di acqua prelevati da diversi punti dell'impianto acquaponico (maggio 2024). L' altezza delle barre rappresenta la percentuale di inibizione dei pigmenti. Barre più basse indicano una minor inibizione, indicando un buono stato di salute fisiologica dell'organismo. Al contrario, barre più alte rappresentano un'elevata percentuale di inibizione, segno di un significativo stress fisiologico che interferisce con la normale produzione dei pigmenti fotosintetici.

Percentuale di inibizione dei pigmenti di *I. galbana* – secondo campionamento

I risultati del **secondo campionamento**, condotto a fine **giugno 2024**, rivelano un quadro significativamente diverso rispetto al primo, evidenziando un marcato cambiamento delle condizioni dell'impianto. I **livelli di inibizione della sintesi dei pigmenti in *Isochrysis galbana* sono aumentati drasticamente**, riflettendo un **accumulo significativo di**

nutrienti nel sistema (Fig. A-13). Particolarmente critica appare la situazione nel punto SF-IN (ingrasso dell'acqua dei pesci della linea Salicornia), dove si registrano i valori più elevati sia di nutrienti (NO₃: 274.80 mg/L, PO₄: 15.40 mg/L) che di inibizione dei pigmenti. In questo punto, la clorofilla a mostra un'inibizione che raggiunge il 65%, seguita dai carotenoidi totali con oltre il 50% e dalla clorofilla c con circa il 40%. Le barre di errore più ampie rispetto al primo campionamento indicano una maggiore variabilità nella risposta biologica, probabilmente dovuta all'intensità dello stress a cui sono sottoposte le alghe. Le concentrazioni elevate di nutrienti osservate in tutti i punti di campionamento, con valori di nitrati che variano da 135 a 275 mg/L e fosfati tra 11 e 18.5 mg/L, suggeriscono che il sistema sta attraversando una fase di significativo squilibrio, con una evidente ripercussione sulla fisiologia dell'organismo test.

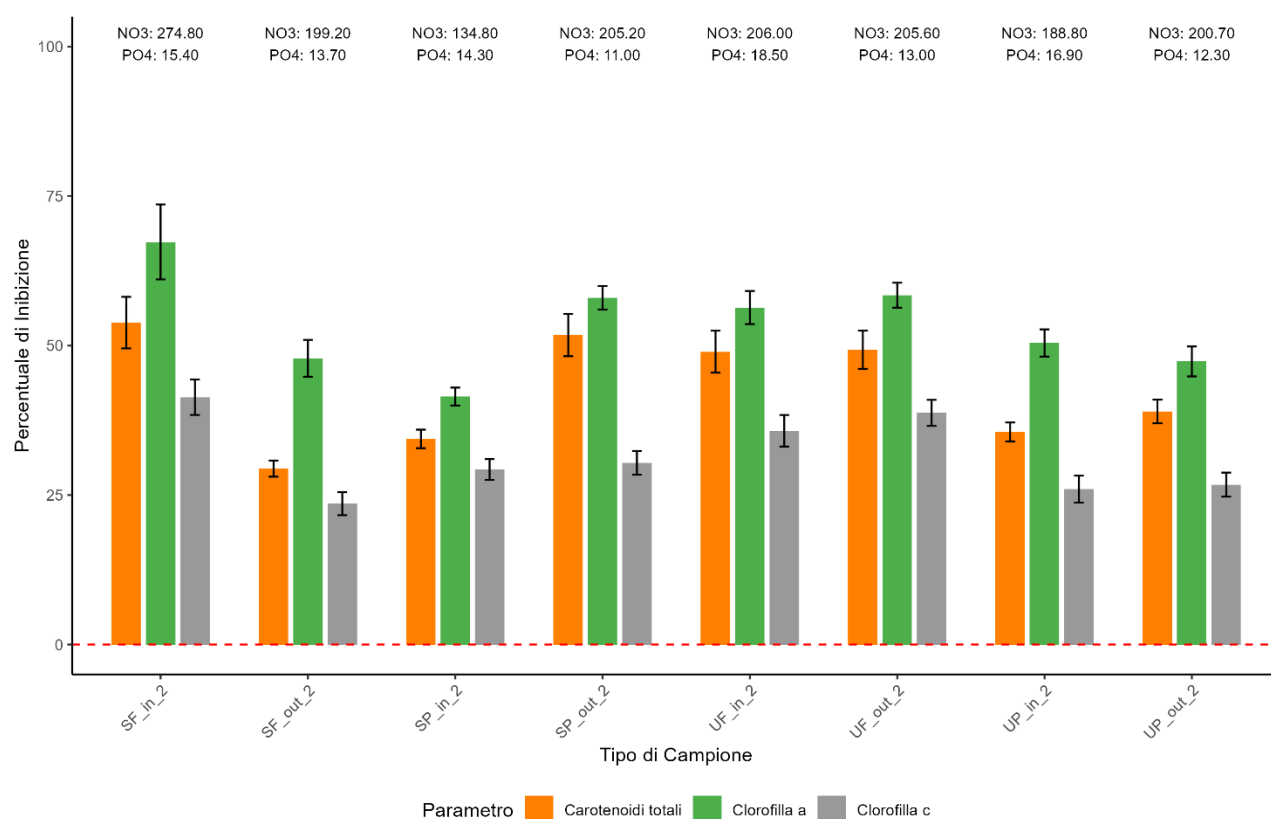


Figura A-13 - Percentuale di inibizione dei pigmenti (carotenoidi totali, clorofilla a e clorofilla c) in *I. galbana* esposta ai campioni di acqua prelevati da diversi punti dell'impianto acquaponico (giugno 2024). L'altezza delle barre rappresenta la percentuale di inibizione dei pigmenti. Barre più basse indicano una minor inibizione, indicando un buono stato di salute fisiologica dell'organismo. Al contrario, barre più alte rappresentano un'elevata percentuale di inibizione, segno di un significativo stress fisiologico che interferisce con la normale produzione dei pigmenti fotosintetici.

Percentuale di inibizione dei pigmenti di *I. galbana* - terzo campionamento

Il **terzo campionamento**, effettuato a metà **settembre 2024**, mostra i primi risultati dopo la sostituzione dell'*Ulva* con la *Sarcocornia* (Fig. A-14). È importante notare che i dati relativi alla parte di impianto dedicata alla coltivazione della *Sarcocornia* non sono disponibili, in quanto

la linea era stata appena avviata. La nuova linea della *Sarcocornia* (sarF) mostra i livelli più elevati di inibizione, con valori che raggiungono il 65-70% per clorofilla a e carotenoidi totali, e circa il 50% per la clorofilla c. Questi valori corrispondono a concentrazioni elevate di nutrienti (NO₃: 224-229 mg/L, PO₄: 12.30-14.40 mg/L). La linea della *Salicornia* presenta un'inibizione più moderata e uniforme tra i pigmenti, con valori che si attestano intorno al 50% per tutti e tre i parametri. Le concentrazioni di nutrienti in questa sezione sono intermedie (NO₃: 134-192 mg/L, PO₄: 11.80-13.20 mg/L).

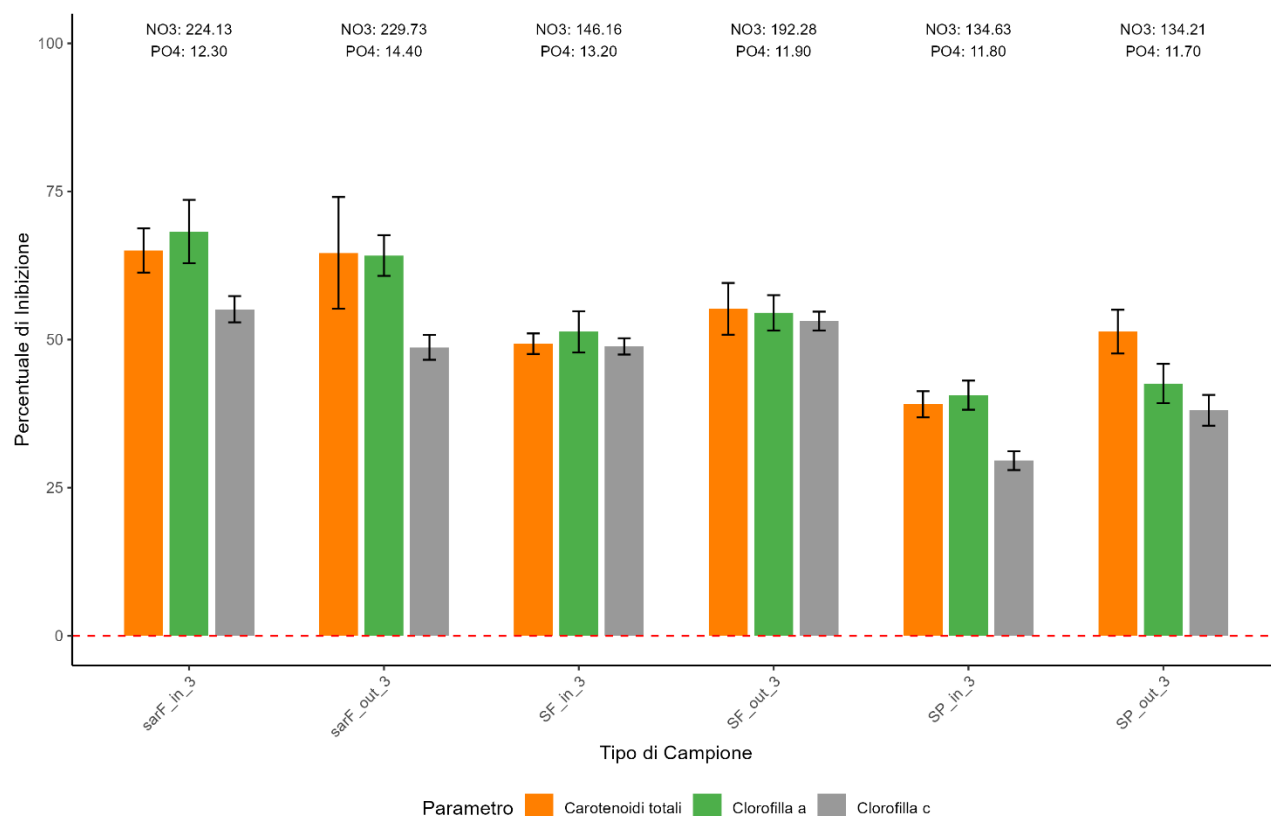


Figura A-14 - Percentuale di inibizione dei pigmenti (carotenoidi totali, clorofilla a e clorofilla c) in *I. galbana* esposta ai campioni di acqua prelevati da diversi punti dell'impianto acquaponico (settembre 2024). L'altezza delle barre rappresenta la percentuale di inibizione dei pigmenti. Barre più basse indicano una minor inibizione, indicando un buono stato di salute fisiologica dell'organismo. Al contrario, barre più alte rappresentano un'elevata percentuale di inibizione, segno di un significativo stress fisiologico che interferisce con la normale produzione dei pigmenti fotosintetici.

Percentuale di inibizione dei pigmenti di *I. galbana* – quarto campionamento

I risultati del **quarto campionamento**, condotto a metà **ottobre 2024**, evidenziano una significativa evoluzione del sistema acquaponico, caratterizzata da una sostanziale **riduzione dell'inibizione in tutti i punti di campionamento** (Fig. A-15). Questo miglioramento è particolarmente evidente nella nuova linea della *Sarcocornia*, dove l'inibizione si è ridotta a valori tra il 5% e il 20%, accompagnata da una stabilizzazione delle concentrazioni di nutrienti (NO₃: 67-77 mg/L, PO₄: 8.05-9.76 mg/L). La linea della *Salicornia* mantiene livelli di inibizione leggermente più elevati, con valori intorno al 30-45% e concentrazioni di azoto superiori (NO₃: 96-130 mg/L).

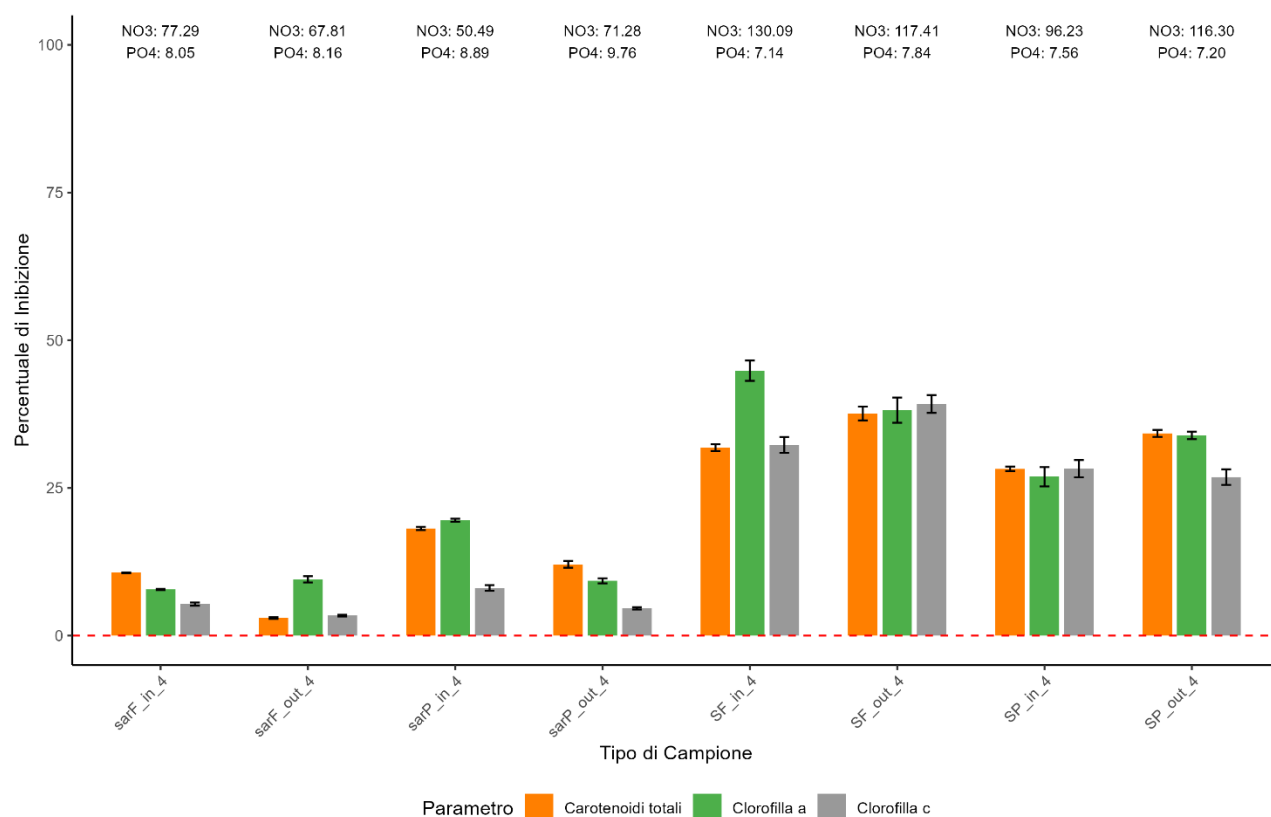


Figura A-15 - Percentuale di inibizione dei pigmenti (carotenoidi totali, clorofilla a e clorofilla c) in *I. galbana* esposta ai campioni di acqua prelevati da diversi punti dell'impianto acquaponico (ottobre 2024). L'altezza delle barre rappresenta la percentuale di inibizione dei pigmenti. Barre più basse indicano una minor inibizione, indicando un buono stato di salute fisiologica dell'organismo. Al contrario, barre più alte rappresentano un'elevata percentuale di inibizione, segno di un significativo stress fisiologico che interferisce con la normale produzione dei pigmenti fotosintetici.

Analisi delle correlazioni

La matrice di correlazione di Spearman (Fig. A-16) ha evidenziato interessanti relazioni tra i parametri monitorati nell'impianto acquaponico. Particolarmente significativo è il pattern di **correlazione tra i diversi nutrienti**, che mostra una forte associazione positiva, suggerendo un **accumulo coordinato** di questi composti nel sistema. I nitrati e i fosfati, in particolare, mostrano le correlazioni più forti (0.83), indicando una dinamica di accumulo parallela. Un aspetto rilevante emerge dall'analisi delle correlazioni tra i pigmenti fotosintetici. La quasi perfetta correlazione tra clorofilla a e c (0.96), insieme alle forti correlazioni con i carotenoidi totali (0.96-0.93), suggerisce una risposta fisiologica coordinata di *I. galbana* alle condizioni ambientali. Questo indica che **lo stress indotto dai nutrienti influenza in modo sistemico l'intero apparato fotosintetico dell'alga**.

L'aspetto più significativo emerge dalle **correlazioni negative tra nutrienti e pigmenti**, che si traduce in una relazione inversa tra variabili. I nitrati mostrano le correlazioni negative più forti con tutti i pigmenti (-0.88 a -0.94), seguiti da fosfati e nitriti con pattern simili.

All'aumentare dei nutrienti, si osserva una progressiva diminuzione della concentrazione dei pigmenti fotosintetici. Queste forti correlazioni negative confermano

l'effetto inibitorio dei nutrienti sulla biosintesi dei pigmenti, con un impatto particolarmente marcato dei nitrati.

Parallelamente, pH e salinità mostrano correlazioni deboli con la maggior parte dei parametri, suggerendo che questi fattori non hanno inciso significativamente sulla risposta biologica osservata. Questo dato indica che le alterazioni nella sintesi dei pigmenti sono principalmente attribuibili all'effetto diretto dei nutrienti piuttosto che a variazioni nelle condizioni chimico-fisiche generali dell'acqua.

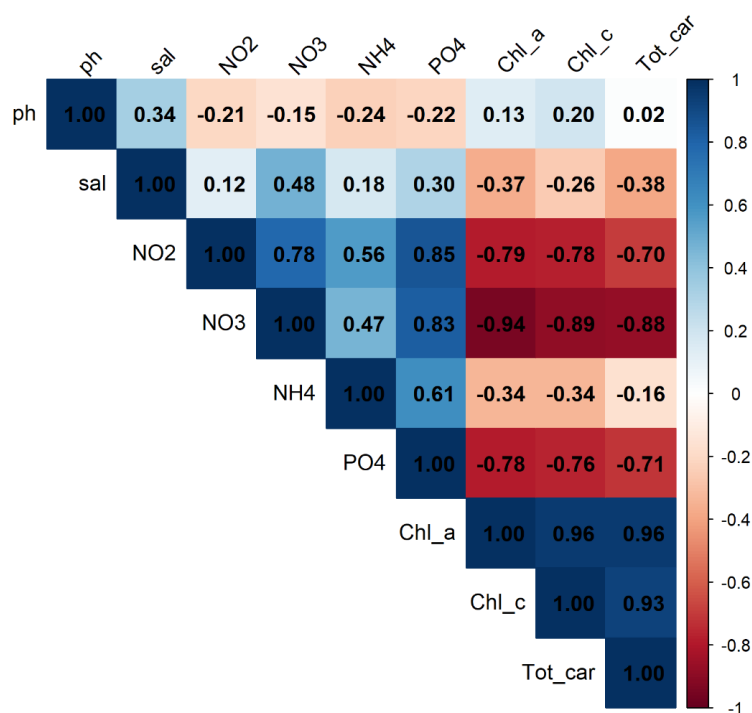


Figura A-16 - Matrice di correlazione di Spearman per i parametri chimico-fisici (pH, salinità, NO₂, NO₃, NH₄, PO₄) e i pigmenti fotosintetici (clorofilla a, clorofilla c e carotenoidi totali) misurati nei test con *I. galbana*. L'intensità del colore e i valori numerici indicano la forza e la direzione della correlazione: blu per correlazioni positive, rosso per correlazioni negative.

Analisi di regressione tra NO₃⁻ e Clorofilla a

L'analisi di **regressione tra nitrati (NO₃⁻) e clorofilla a** mostra una **forte correlazione negativa** ($R = 0.941$) statisticamente significativa ($p < 0.01$). Il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.885$) indica che l'88.5% della variabilità nella concentrazione di clorofilla a può essere spiegata dalla concentrazione di nitrati (Fig. A-17). La retta di regressione mostra una chiara tendenza lineare negativa, con i punti che si distribuiscono in modo relativamente uniforme intorno alla linea di regressione. L'area grigia, che rappresenta l'intervallo di confidenza al 95%, è relativamente stretta, indicando una buona affidabilità del modello predittivo. Si osserva che **all'aumentare della concentrazione di nitrati si verifica una diminuzione progressiva e costante della concentrazione di clorofilla a**. In particolare, quando i valori di NO₃⁻ superano i **200 mg/L**, la concentrazione di clorofilla a scende sotto 0.2 mg/L, suggerendo un forte effetto inibitorio dei nitrati sulla sintesi di questo pigmento fotosintetico. Questa relazione fornisce una chiara evidenza dell'impatto negativo dell'accumulo di nitrati sulla fisiologia di *I. galbana* nel sistema acquaponico.

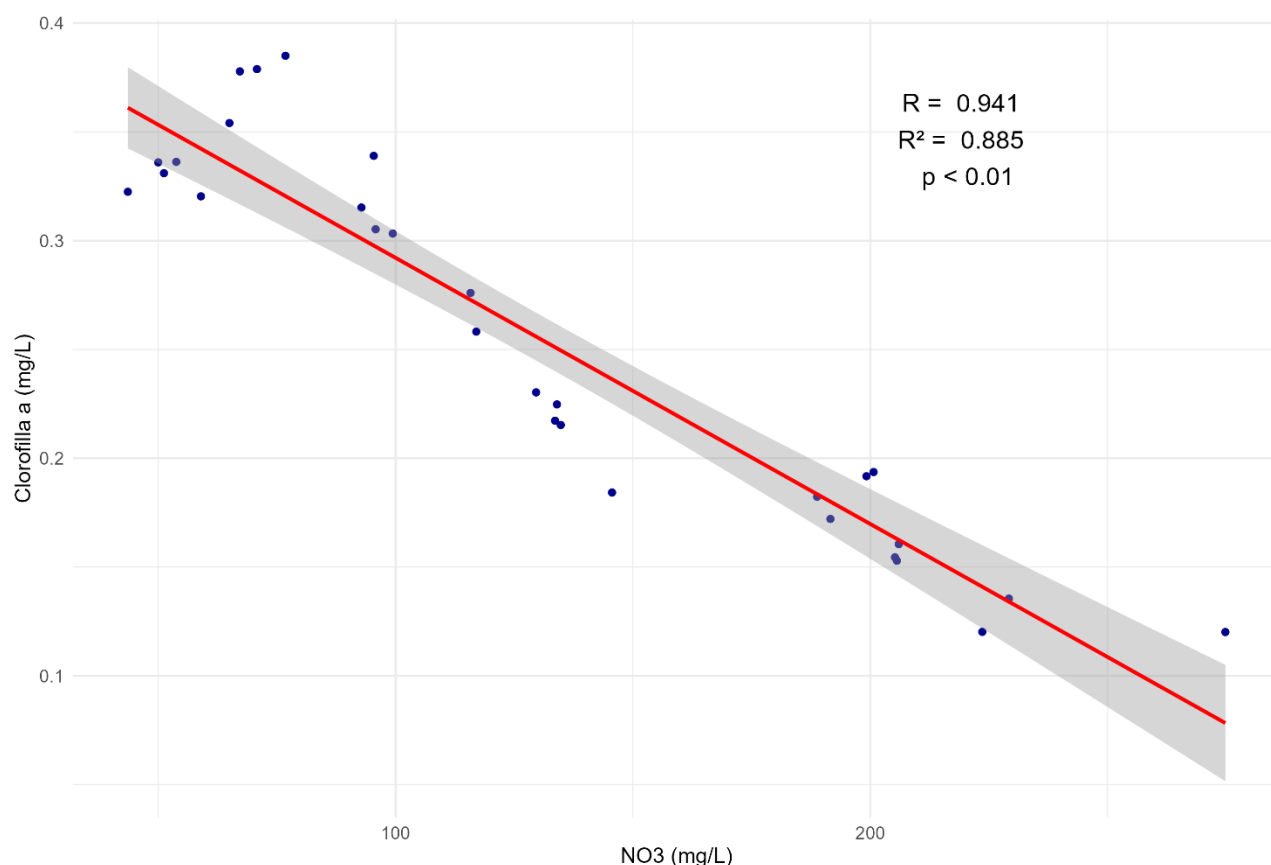


Figura A-17 - Analisi di regressione tra la concentrazione di nitrati e la concentrazione di clorofilla a in *I. galbana*.

Analisi di regressione tra NO_3^- e Clorofilla c

L'analisi di **regressione tra nitrati (NO_3^-) e clorofilla c** mostra una **correlazione negativa forte** ($R = 0.888$) e statisticamente significativa ($p < 0.01$). Il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.788$) indica che il 78.8% della variabilità nella concentrazione di clorofilla c può essere spiegata dalle variazioni di NO_3^- (Fig. A-18). La retta di regressione evidenzia una relazione lineare negativa, sebbene i punti mostrino una dispersione leggermente maggiore rispetto a quanto osservato per la clorofilla a. L'intervallo di confidenza (area grigia) appare più ampio, soprattutto alle concentrazioni elevate di NO_3^- , indicando una maggiore variabilità nella risposta. Si osserva che **all'aumentare della concentrazione di NO_3^- la concentrazione di clorofilla c diminuisce progressivamente**, passando da circa 0.12 mg/L a concentrazioni inferiori a 0.06 mg/L quando i nitrati superano i **200 mg/L**.

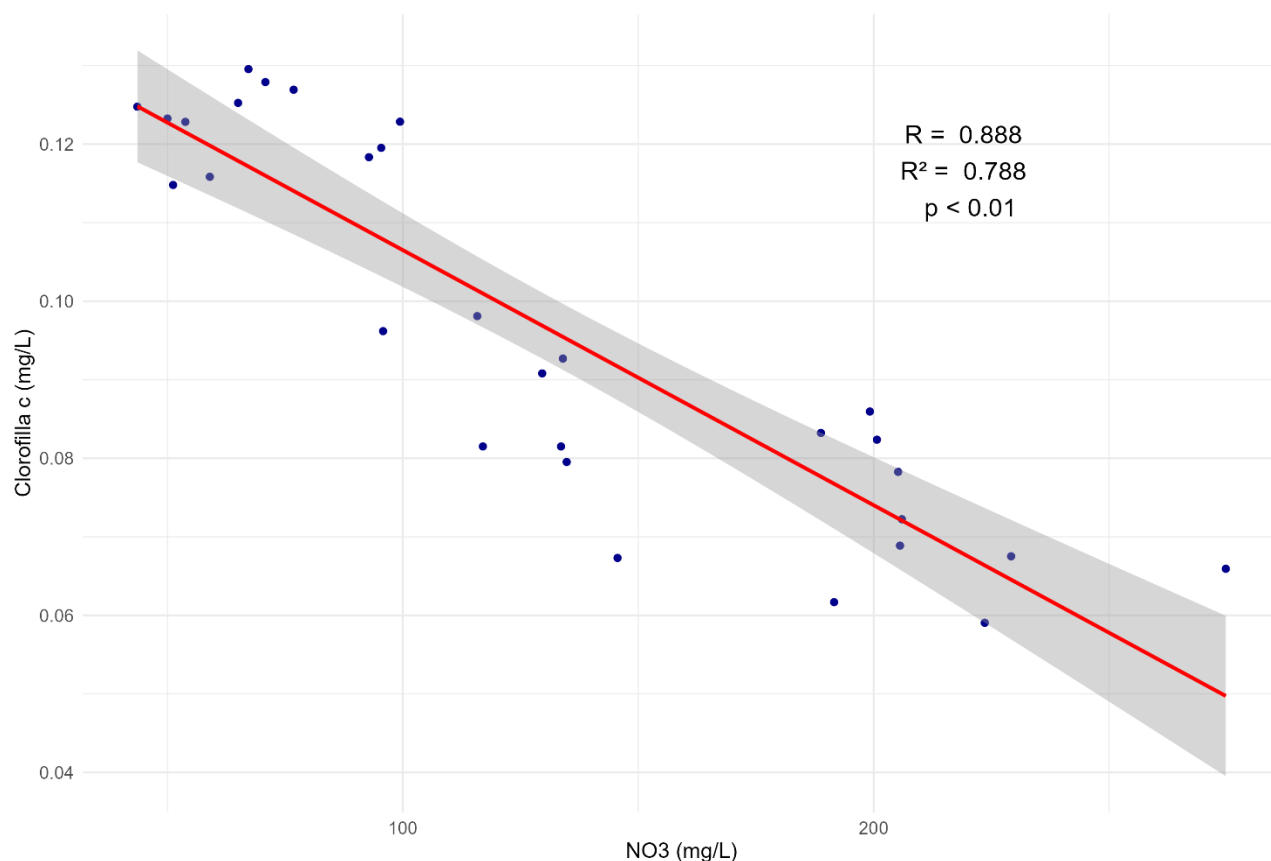


Figura 18 - Analisi di regressione tra la concentrazione di nitrati e la concentrazione di clorofilla c in *I. galbana*.

Analisi di regressione tra NO₃⁻ e Carotenoidi totali

L'analisi di **regressione tra nitrati NO₃⁻ e carotenoidi totali** mostra una **forte correlazione negativa** ($R = 0.879$) statisticamente significativa ($p < 0.01$). Il coefficiente di determinazione ($R^2 = 0.773$) indica che il 77.3% della variabilità nella concentrazione dei carotenoidi totali può essere spiegata dalle variazioni di NO₃⁻ (Fig. A-19). La retta di regressione evidenzia una chiara relazione lineare negativa, con una distribuzione dei punti abbastanza uniforme lungo la linea di tendenza. L'intervallo di confidenza (area grigia) mantiene una larghezza relativamente costante lungo tutto il range di concentrazioni di NO₃⁻, suggerendo una buona affidabilità del modello predittivo. Si osserva che **all'aumentare della concentrazione di nitrati la concentrazione dei carotenoidi totali diminuisce progressivamente**, passando da circa 0.22-0.25 mg/L a concentrazioni inferiori a 0.10 mg/L quando i nitrati superano i **200 mg/L**. Questa risposta è simile a quella osservata per le clorofille, confermando un effetto inibitorio generalizzato dei nitrati sulla sintesi dei pigmenti fotosintetici in *I. galbana*. Il pattern di risposta dei carotenoidi, insieme a quello delle clorofille, suggerisce un impatto sistemico dei nitrati sul metabolismo fotosintetico dell'alga.

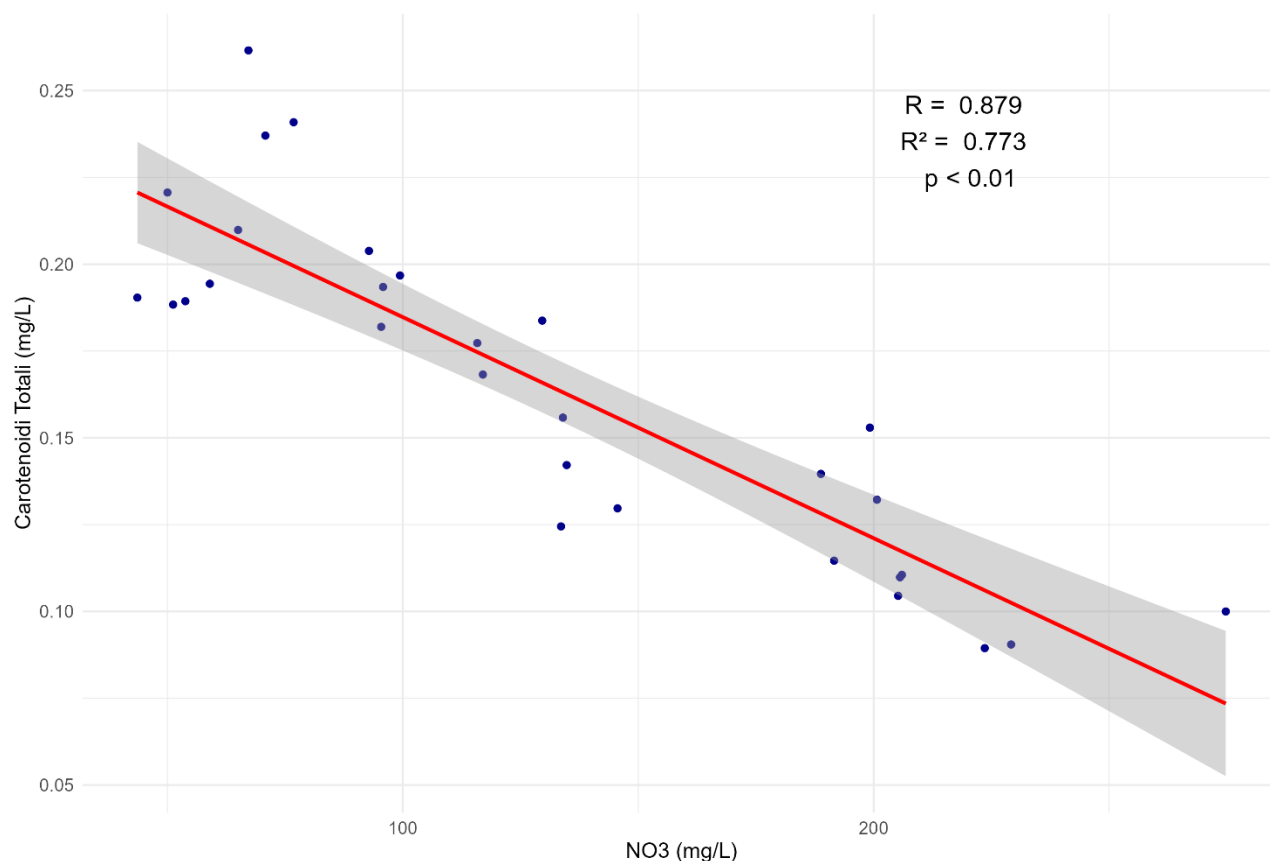


Figura A-19 - Analisi di regressione tra la concentrazione di nitrati e la concentrazione di carotenoidi totali in *I. galbana*.

CONCLUSIONI

Lo studio ha evidenziato l'efficacia dell'utilizzo combinato di due **bioindicatori**, il riccio di mare *Paracentrotus lividus* e l'alga unicellulare *Isochrysis galbana*, nel monitoraggio della qualità delle acque dell'impianto acquaponico. I due organismi hanno mostrato risposte complementari e coerenti all'accumulo di nutrienti nel sistema, operando sempre **sotto la soglia di tossicità acuta**, come dimostrato dal fatto che anche nei campioni non diluiti (tal quale) non si è mai raggiunto il 100% di inibizione.

I test di fecondazione con il riccio di mare *P. lividus* hanno evidenziato una chiara **relazione dose-dipendente tra le concentrazioni di nutrienti e l'inibizione della capacità riproduttiva**, con una correlazione particolarmente forte con i nitrati ($R^2 = 0.956$, $p < 0.01$). Questa risposta è risultata particolarmente evidente nel secondo campionamento, dove l'aumento delle concentrazioni di nutrienti ha portato a un incremento significativo della percentuale di uova non fecondate.

Parallelamente, l'alga unicellulare *I. galbana* ha mostrato **alterazioni significative nella sintesi dei pigmenti fotosintetici**, con un pattern di risposta che riflette l'evoluzione dell'impianto attraverso i quattro campionamenti. La forte correlazione negativa tra nutrienti e pigmenti ($R = -0.93$ per NO_3^- vs clorofilla a) conferma la sensibilità di questo organismo come indicatore dello **stress da nutrienti**. Dal punto di vista metodologico, il protocollo sviluppato presenta indubbi vantaggi: rapidità di esecuzione, riproducibilità dei risultati, sostenibilità economica e una facilità di implementazione che lo rende appetibile anche per

piccole realtà produttive. Infatti, la strumentazione utilizzata, incentrata su uno spettrofotometro portatile da campo, rappresenta un dispositivo ampiamente diffuso nel monitoraggio dell'acquacoltura, dal costo contenuto che incide marginalmente sull'investimento complessivo. Questo strumento, già comunemente impiegato per le analisi dei nutrienti, può essere utilizzato allo stesso modo per la valutazione dei pigmenti fotosintetici, consentendo di mantenere bassi i costi operativi e rendendo il protocollo accessibile e sostenibile.

L'approccio multi-organismo utilizzato in questo studio ha permesso di valutare gli effetti dei nutrienti su diversi endpoint biologici e monitorare l'evoluzione temporale del sistema. Questi risultati forniscono importanti indicazioni per l'**ottimizzazione della gestione degli impianti acquaponici**, sottolineando l'importanza del monitoraggio biologico integrato per garantire la sostenibilità di questi sistemi. La capacità di questi organismi di rispondere in modo sensibile e prevedibile a variazioni sub-letali delle condizioni ambientali li rende particolarmente adatti come sistema di **early warning**, permettendo di identificare potenziali criticità prima che queste possano compromettere la funzionalità dell'impianto.