

## **Anomalie bilaterali dell'opercolo e recupero della loro integrità anatomica in orata (*Sparus aurata*, L. 1758)**

### *Bilateral opercular anomalies and recovery of their anatomical integrity in gilthead seabream fry (*Sparus aurata*, L. 1758)*

**Paola Beraldo\***, **Stefania Maschio**,  
**Marco Galeotti**, **Bartolomeo Canavese**

Dipartimento di Scienze Animali, Via delle Scienze, 206 – Udine

---

**RIASSUNTO** - In una popolazione di orate con malformazioni della struttura opercolare, il difetto su un unico lato, piuttosto che su entrambi, si presenta con maggiore frequenza. Sebbene i soggetti con anomalie bilaterali costituiscano una modesta percentuale di una popolazione deforme (9-19%), si è inteso, comunque, verificare quale fosse la loro capacità di recupero dell'integrità anatomica, per poi poterla confrontare con quella mostrata dai monolaterali. Da una popolazione di soggetti con anomalie opercolari, dalla quale erano stati estrapolati anche i soggetti monolaterali utilizzati per indagini precedenti (Beraldo *et al.*, 2003), è stata ricavata una sottopopolazione di 800 avannotti di orata, con quadro malformativo iniziale bilaterale (peso medio di 0,8 grammi). I soggetti sono stati allevati per 14 mesi, prima in vasca e poi in gabbia galleggiante. Durante questo periodo sono state effettuate 6 verifiche, che hanno previsto l'esame obiettivo di tutta la popolazione in riferimento a criteri morfologici esteriori standardizzati. I risultati dell'indagine confermano quanto già descritto in lavori precedenti e sottolineano che anche i bilaterali possano recuperare la loro integrità anatomica, transitando per uno stato di monolateralità prima di divenire normali. Tuttavia, la capacità di recupero di questi soggetti è nettamente inferiore e mostra un andamento diverso rispetto ai soggetti monolaterali. L'indagine pone in evidenza che, laddove siano attuate selezioni di qualità sugli avannotti di orata, queste dovrebbero essere programmate tardivamente (oltre i 120 giorni di età) e contestualmente i bilaterali andrebbero eliminati dal processo produttivo.

**SUMMARY** – In a gilthead seabream population with opercular malformations, the defect on one side, respect to both, is more frequent. Even if the bilateral subjects represent a moderate percentage of a opercular malformed population (9-19%), their recovery capacity of the anatomical integrity was investigate. For this purpose, 800 gilthead seabream fry (average weight 0.8 g.) with bilateral anomalies are used. These fish came from a selection of the same gilthead seabream population used for previous experience with monolateral subjects (Beraldo *et al.*, 2003). The fish are reared for 14 months and during this time all the fish are checked for 6 times by exterior morphological exam. The results confirm the previous data and point out also the recovery capacity of the bilateral subjects toward the anatomical integrity, passing in monolateral condition before become normal. However, the level and trend of the bilateral recovery capacity appear different respect of monolateral subjects. The surveying results put in evident that, where the fry quality selection are made, this should be do tardy (after 120 day of age) and bilateral subjects should be eliminate to productive process.

**Key words:** *Sparus aurata*, Gilthead seabream, Opercular complex, Malformations, Skeletal anomalies, Bilateral.

---

\* Corresponding Author: c/o Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento di Scienze Animali, Via delle Scienze, 206 – 33100 Udine; Tel. 0432-558591/90; Fax: 0432-558585; E-mail: paola.beraldo@uniud.it.

## INTRODUZIONE

Le malformazioni del complesso opercolare sono tra le anomalie scheletriche più frequenti e apprezzabili in orata e quindi, se presenti nel prodotto finito, ne possono determinare un deprezzamento, allontanandolo dagli standards qualitativi richiesti dal mercato. L'incidenza di questo tipo di difetto morfo-strutturale è piuttosto variabile (0-80%) (Andrades *et al.*, 1996; Koumoundouros *et al.*, 1997; 2002; Beraldo *et al.*, 2003c), in relazione soprattutto all'età del campione oggetto di rilevamento. In base a ciò, si può arguire che queste anomalie non sono affatto stabili una volta instauratesi, bensì possono modificarsi nel tempo cambiando l'assetto della struttura opercolare, come verificato in recenti lavori (Beraldo *et al.* 2003a; 2003b).

Diversi autori (Valentine, 1975; Barahona-Fernandes, 1982a; 1982b; Lindesjoo *et al.* 1994; Bruno & Poppe, 1996; Hilomen-Garcia, 1997; Koumoundouros *et al.*, 1997; Beraldo, 1998; Galeotti *et al.*, 2000) hanno caratterizzato, in diverse specie ittiche e in particolare nell'orata (*Sparus aurata* L. 1758), i tipi più comuni di anomalia opercolare, dandone una descrizione morfologica e sottolineandone al tempo stesso la fenomenologia sia monolaterale destra o sinistra, sia bilaterale. Nei soggetti, che presentano tali difetti, la conseguente esposizione delle branchie, in misura variabile, è un tratto caratteristico negativo che, da un lato, pregiudica le prestazioni zootecniche, l'immagine e il valore di mercato del prodotto finito e, dall'altro, influenza negativamente il processo di respirazione durante le fasi di suzione e espulsione dell'acqua. Al processo di respirazione partecipano la membrana branchiostega e il margine libero del complesso opercolare, costituito da un tessuto membranoso che chiude completamente la camera branchiale sull'esterno, quando questa agisce come pompa di suzione (Harder, 1975). Inoltre i difetti opercolari contribuiscono in modo significativo a ridurre la resistenza agli stress ambientali e ad aumentare la sensibilità dei pesci a infezioni e infestazioni branchiali. Gli aspetti negativi sin qui sottolineati, legati allo stato anomalo della struttura opercolare, sono ovviamente destinati ad avere maggior peso nei soggetti con malformazione opercolare su entrambi i lati (quadro malformativo bilaterale).

In una popolazione di orate con malformazioni della struttura opercolare, il difetto su un unico lato, piuttosto che su entrambi, si presenta con una maggiore frequenza. Studi condotti in passato (Beraldo, 1998) e recenti osservazioni (dati non pubblicati) in orata sembrano suggerire che la percentuale dei soggetti con quadri malformativi bilaterali sia inversamente correlata all'età. Sebbene i soggetti bilaterali rappresentino una modesta percentuale (9-19%) in una popolazione deforme rispetto al complesso opercolare, si è inteso, comunque, verificare quale fosse la loro capacità di recupero dell'integrità anatomica, per poi poterla confrontare con quella mostrata dai monolaterali.

## MATERIALE E METODI

Per le finalità sperimentali sono stati utilizzati 800 avannotti di orata di un medesimo lotto, ottenuti in seguito a selezione qualitativa, effettuata per eliminare i portatori di anomalie, e aventi peso medio iniziale di 0,8 grammi (140 giorni di età).

Le orate sono state allevate inizialmente in una vasca di vetroresina tronco-conica da 800 litri, in seguito in un'unica vasca di cemento di 5 m<sup>3</sup> e infine in gabbia galleggiante. Le vasche sono state rifornite con acqua marina (salinità 35-37‰) e, per tutto il periodo della prova, la temperatura ha oscillato tra i 18-24° C. L'alimentazione è stata somministrata secondo lo schema adottato dall'avannotteria ospitante.

Nell'arco di 16 mesi (marzo 2002-giugno 2003), il protocollo sperimentale ha previsto 6 verifiche, in corrispondenza delle quali tutta la popolazione è stata sottoposta all'esame

morfologico esteriore della regione opercolare al fine di descrivere la configurazione anomala del momento, attenendosi a specifici criteri valutativi, impiegati in precedenti esperienze (Beraldo *et al.*, 2003b).

Ad ogni controllo, le orate sono state anestetizzate e singolarmente esaminate su entrambi i lati, separando, di volta in volta, i soggetti che avevano raggiunto sia l'integrità anatomica sia la condizione di monolateralità del difetto. Questi soggetti sono stati sacrificati con dose letale (2 ml/l) di anestetico (fenossietanolo), e pertanto eliminati in modo tale che la popolazione indagata fosse sempre costituita da soggetti bilaterali.

I soggetti sacrificati nel corso dell'indagine, suddivisi in normali (NOR normali) e monolaterali (PA soggetti con anomalia di grado ridotto, con arretramento del margine libero dell'opercolo dal cleitrum non superiore a 1 mm; MP e MT soggetti con quadro anomalo grave, con arretramento del margine libero dell'opercolo superiore a 1 mm ed esteso rispettivamente a una parte o a tutto il margine libero), sono stati esaminati allo stereomicroscopio (Leica) per descrivere i cambiamenti di morfologia esteriore dei quadri di malformazione, caratterizzanti il processo di recupero dell'integrità anatomica. La loro descrizione, contraddistinta da lettere, seguendo un ordine decrescente di gravità, è connotata da pochi caratteri essenziali, come descritto in un precedente articolo (Beraldo *et al.*, 2003b):

- HI = mancanza del tratto medio-superiore dell'opercolo con estensione variabile anche al tratto inferiore, margine libero opercolare con tendenza al ripiegamento, gemma di accrescimento all'angolo superiore della fessura branchiale alternativamente presente o assente;
- L = mancanza del tratto medio-superiore dell'opercolo con estensione variabile anche al tratto inferiore, margine libero opercolare non ripiegato e tendenzialmente rettilineo, gemma di accrescimento all'angolo superiore della fessura branchiale alternativamente presente o assente;
- CD = mancanza del tratto medio-superiore dell'opercolo, margine libero opercolare con tendenza al ripiegamento, gemma di accrescimento all'angolo superiore della fessura branchiale alternativamente presente o assente;
- E = mancanza del tratto medio-superiore dell'opercolo, margine libero opercolare non ripiegato e tendenzialmente rettilineo, gemma di accrescimento all'angolo superiore della fessura branchiale alternativamente presente o assente;
- B = mancanza lieve di parte dell'opercolo, per lo più localizzata al tratto medio-superiore e di grado immediatamente inferiore a quanto indicato dalla soglia minima stabilita all'inizio per la formazione del gruppo PA;
- A = arretramento contenuto al davanti del cleitrum del margine libero dell'opercolo con minima e non sempre apprezzabile esposizione branchiale;
- NOR = raggiungimento e superamento da parte del margine opercolare del cleitrum.

I dati ottenuti sono stati confrontati utilizzando il test "chi" ( $\chi^2$ ,  $P < 0,05$ ).

## RISULTATI

L'analisi delle percentuali dei soggetti che hanno raggiunto nel tempo una condizione di monolateralità e/o integrità anatomica della struttura opercolare, partendo da uno status iniziale di bilateralità, è graficamente illustrata dalla Figura 1.

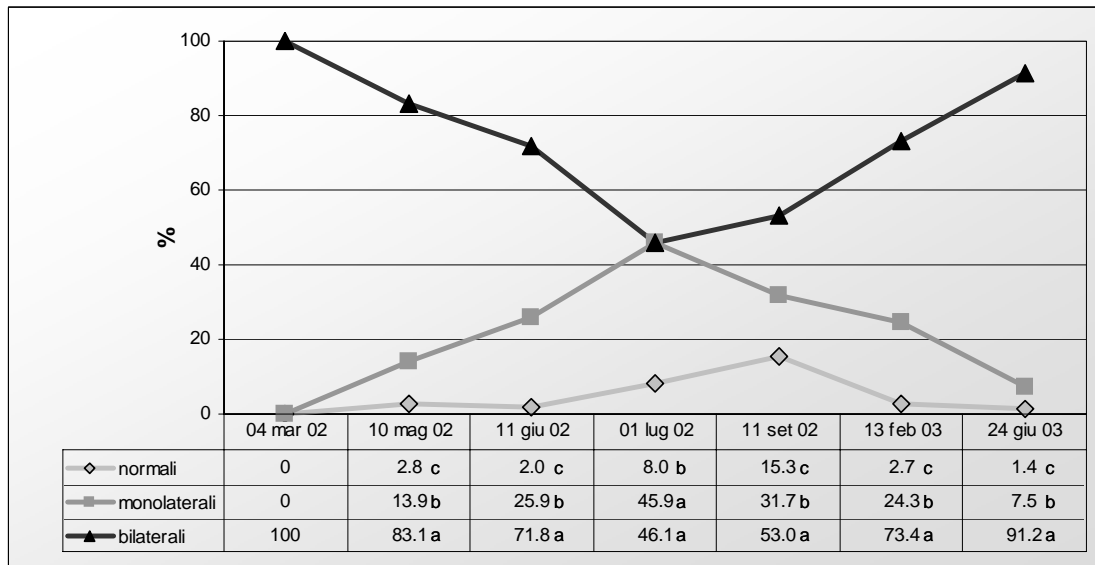


Figura 1 - Percentuale di soggetti divenuti normali e con quadro malformativo bilaterale e monolaterale del complesso opercolare in funzione del tempo. Nella tabella sono riportati i dati elaborati rispetto alla condizione della struttura opercolare in corrispondenza di ciascun campionamento (per colonna; a, b, e c =  $P < 0,01$ ).

Figure 1 - Percentage of subject with bilateral or monolateral defective status and normality of the opercles at each sampling. In table are reported elaborated data for each sampling respect to opercle condition (for raw; a, b, e c =  $P < 0,01$ ).

La figura 1 evidenzia due andamenti diversi in relazione al processo di recupero. Infatti in corrispondenza della prima metà del periodo di studio (marzo-luglio), la percentuale dei soggetti bilaterali diminuisce a favore dei soggetti con un quadro malformativo opercolare monolaterale e dei soggetti che raggiungono l'integrità anatomica. Di converso, nella seconda parte dell'indagine, la capacità di recupero dei soggetti bilaterali sembra esaurirsi, come attesta la loro percentuale tendenzialmente in rialzo nell'ultimo periodo. La capacità dei soggetti bilaterali di raggiungere l'integrità anatomica appare inizialmente crescente, ma con valori percentuali piuttosto modesti e significativamente più bassi rispetto alla condizione di monolateralità del difetto, interessando al massimo il 15,3% dei soggetti (5° campionamento) (Figura 1). Comunque, limitatamente al periodo di indagine, i bilaterali mostrano continuità nel raggiungere la normalità, sebbene il fenomeno si esaurisca nel tempo, interessando solo 1,4% dei soggetti in corrispondenza dell'ultimo rilevamento.

L'andamento della percentuale dei soggetti che hanno recuperato esteriormente un aspetto anatomico normale, è stato valutato e comparato contestualmente a quello ottenuto dall'indagine, svolta contemporaneamente su soggetti con difetti opercolari monolaterali (Beraldo *et al.*, 2003c). Nella figura 2 sono illustrati graficamente, per lo stesso arco temporale, i due andamenti che denotano una marcata differenza nei confronti della capacità di recupero messa in atto dai soggetti appartenenti alle due diverse categorie malformative di partenza. I soggetti, che partono da una condizione iniziale di monolateralità rispetto alla malformazione opercolare, mostrano una capacità di recupero progressivamente crescente che, al termine del primo anno di vita, mostra ancora margini di miglioramento. Al contrario,

i soggetti con difetti opercolari bilaterali, come già evidenziato nella Figura 1, hanno esibito una capacità nettamente inferiore, che, sebbene crescente per un certo lasso di tempo, in seguito si esaurisce all'aumentare dell'età dei soggetti (Figura 2).

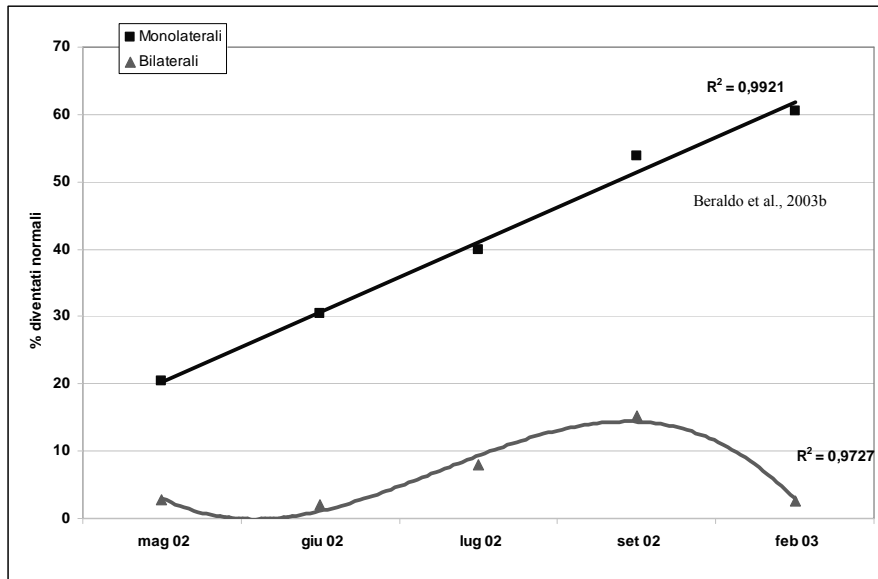


Figura 2 – Andamento della percentuale dei soggetti diventati normali nel corso dell'indagine rispetto alla condizione di partenza bilaterale e monolaterale (desunta da Beraldo *et al.* 2003a).

*Figure 2 – Percentage trend of subjects became normal during the survey respect of the initial condition bilateral and monolateral (as in Beraldo et al., 2003a).*

I soggetti, che pervengono con il tempo alla condizione di monolateralità del difetto, sembrano, in linea generale, conseguirla indifferentemente a destra o a sinistra, anche se, in corrispondenza delle valutazioni di giugno e luglio, l'anomalia era più presente sul lato destro (69,6% vs 31,0%; 65,0% vs 30,7%).

Analizzando l'andamento del recupero separatamente per il lato destro e sinistro si osserva che questo non è sincrono nelle due strutture opercolari.

La percentuale di normalità a destra e a sinistra assume un andamento diverso nel tempo (Figura 3), così come la dinamica del processo di recupero è contrassegnata dal susseguirsi di quadri di malformazione con gravità maggiore a destra rispetto al lato sinistro. Nella figura 4, si nota una maggiore frequenza a destra dei quadri di malformazione più gravi, contrassegnati dalle lettere HIL e CDE.

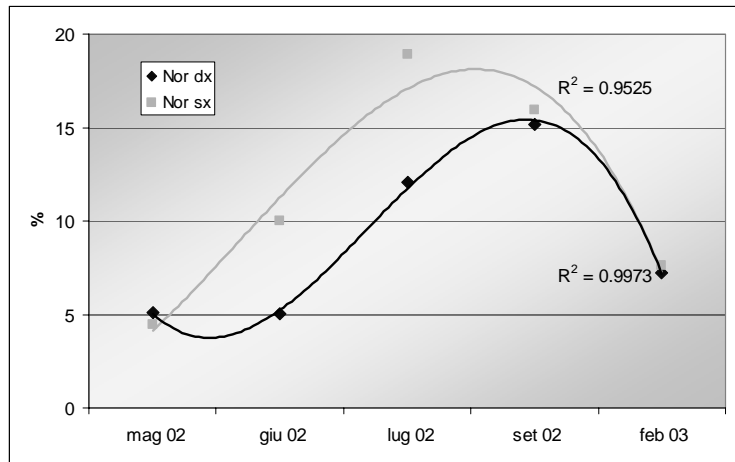


Figura 3 - Andamento della percentuale di normalità rispetto al lato destro e sinistro in soggetti inizialmente bilaterali.  
 Figure 3 - Percentage trend of normality on right and left side of bilateral subjects.

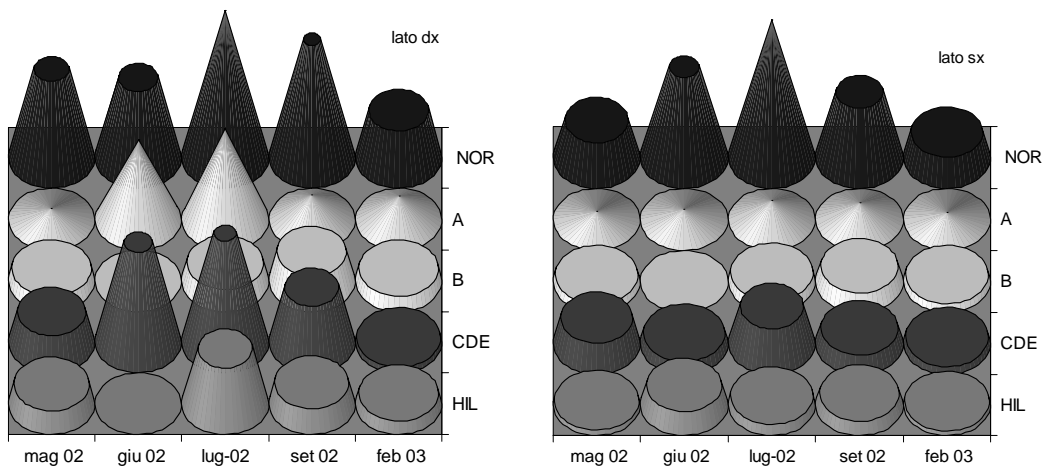


Figura 4 - Evoluzione dei quadri malformativi (%) derivati dall'analisi morfologica del complesso opercolare destro e sinistro.  
 Figure 4 - Evolution of defective features (%) coming of the morphometric analysis of the right and left opercular complex.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati di questo studio confermano ulteriormente che orate affette da anomalie opercolari anche di gravità molto elevata, come nel caso del difetto bilaterale, sono in grado di recuperare l'integrità anatomica. Tuttavia, analizzando i dati ottenuti emerge che in condizione di allevamento ed età di partenza simili, orate con anomalie opercolari bilaterali esibiscono, nel tempo, una minore capacità di recupero dell'integrità anatomica rispetto a soggetti con condizione iniziale difettosa monolaterale (Beraldo *et al.*, 2003a; 2003b). Questa minore capacità di ricostruire la struttura opercolare sembra in rapporto con la gravità della condizione malformativa bilaterale, tale da compromettere e/o limitare i meccanismi fisio-biologici che sottendono al processo di recupero. La condizione malformativa bilaterale riduce, infatti, l'efficacia dinamico-funzionale dello scudo opercolare nelle attività di respirazione e suzione dell'acqua o del cibo, comportando probabilmente un minore apporto di ossigeno e nutrienti ai tessuti. Oltre a ciò, l'anormale esposizione delle lamelle branchiali predispone i pesci ad una maggiore sensibilità alle variazioni dei parametri abiotici, alla presenza di xenobiotici o agenti infettivi che potrebbero compromettere i meccanismi difensivi, riducendo l'efficienza dei processi di ricostruzione della struttura opercolare.

L'incidenza delle anomalie opercolari in larve di orata sembra aumentare fino al termine della metamorfosi (70-80 giorni dopo la schiusa) per poi stabilizzarsi (Koumoundouros *et al.*, 1997; Beraldo, 1998). Nello stesso periodo di tempo, si è notato che i difetti opercolari bilaterali sono inizialmente più frequenti (40-45 giorni dopo la schiusa), per poi decrescere, a favore dei monolaterali, all'aumentare dell'età. Questo sembra indicare che il processo che porta all'integrità anatomica i soggetti bilaterali passa per una condizione malformativa di monolateralità, come evidenziato anche da questa indagine. Il processo di recupero dell'integrità anatomica sembra così iniziare abbastanza precocemente, con molta probabilità, quando le larve presentano una maggiore competenza nel mantenere l'omeostasi (fine della metamorfosi) e soprattutto, quando, tecnicamente è possibile garantire una stabilità nutrizionale, sancita dall'uso di microdiete artificiali.

Resta da segnalare che la posizione del difetto, nei soggetti che nel tempo recuperano una condizione malformativa monolaterale, sembra per lo più indifferentemente a destra o sinistra, in accordo con i dati della letteratura (Koumoundouros *et al.*, 1997; Beraldo, 1998). La maggiore frequenza del difetto sul lato destro (come riscontrato in due rilevamenti), la diversa dinamica di recupero (una successione di quadri di malformazione più gravi a destra rispetto al lato sinistro) e un diverso andamento della percentuale di normalità a destra e a sinistra testimoniano, per i bilaterali, una asincronia del processo di recupero dell'integrità anatomica delle due strutture opercolari. Ciò comporta una riduzione della percentuale di bilaterali che globalmente raggiungeranno l'integrità anatomica. L'asincronia del recupero, pur rimanendo di difficile interpretazione, potrebbe ipoteticamente dipendere da fattori intrinseci all'ambiente di allevamento oppure essere legati a specifiche caratteristiche delle specie branchiate.

Dal punto di vista produttivo, i risultati indicano chiaramente che, qualora sia attuata la selezione degli avannotti di orata, i soggetti con difetto bilaterale andrebbero eliminati e che la selezione andrebbe realizzata il più tardi possibile, tenendo ovviamente conto delle esigenze gestionali e commerciali dell'allevamento.

## BIBLIOGRAFIA

Andrades J.A., Becerra J. & Fernández-Llebraz P. (1996). Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 141: 1-11.

- Barahona-Fernandes M.H. (1982a). L'élevage intensif des larves et des juveniles du bar *Dicentrarchus labrax* (L): données biologiques, zootechniques et pathologiques. *Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Aix-Marseille II, France*: 208 pp.
- Barahona-Fernandes M.H. (1982b). Body deformation in hatchery reared European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L). Types, prevalence and effect on fish survival. *J. Fish Biol.*, 21: 239-249.
- Beraldo P. (1998). Relazione tra nutrizione e qualità in larve di Teleostei marini, con particolare riferimento all'orata (*Sparus aurata* L.). *Tesi di Dottorato. Università degli Studi di Firenze, Italia*: 149 pp.
- Beraldo P., Benedetti P., Caggiano M., Galeotti M. & Canavese B. (2003a). Anomalie dell'opercolo e recupero della loro integrità anatomica in orata (*Sparus aurata*, L. 1758). *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 36: 24-32.
- Beraldo P., Benedetti P., Caggiano M., Galeotti M. & Canavese B. (2003b). Cambiamenti di forma delle anomalie opercolari in orata (*Sparus aurata*, L. 1758): verifica allo stereomicroscopio del processo di recupero dell'integrità anatomica. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 38: 3-12.
- Beraldo P., Pinosa M., Tibaldi E. & Canavese B. (2003c). Abnormalities of the operculum in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): morphological description. *Aquaculture*, 220: 1-15.
- Bruno D.W. & Poppe T.T. (1996). A colour atlas of salmonid diseases. *Academic Press, London*: 194 pp.
- Galeotti M., Beraldo P., de Dominis S., D'Angelo L., Ballestrazzi R., Musetti R., Pizzolito S. & Pinosa M. (2000). A preliminary histological and ultrastructural study of opercular anomalies in gilthead sea bream larvae (*Sparus aurata*). *Fish Physiol. Biochem.*, 22: 151-57.
- Harder W. (1975). Anatomy of fishes. *E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller), Stuttgart*: 31-90.
- Hilomen-Garcia G.V. (1997). Morphological abnormalities in hatchery-bred milkfish (*Chanos canoa*, Forsskal) fry and juveniles. *Aquaculture*, 152: 155-166.
- Koumoundouros G., Oran G., Divanach P., Stefanakis S. & Kentouri M. (1997). The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture*, 156: 165-177.
- Koumoundouros G., Maingot E., Divanach P. & Kentouri M. (2002). Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*, 209: 49-58.
- Lindesjoo E., Thulin J., Bengtsson B.-E. & Tjarnlund U. (1994). Abnormalities of a gill cover bone, the operculum, in perch *Perca fluviatilis* from a pulp mill effluent area. *Aquat. Toxicol.*, 28: 189-207.
- Valentine D.W. (1975). Skeletal anomalies in marine Teleosts. In: *W.E. Ribelin and G. Migaki (Eds), The Pathology of Fishes. University of Wisconsin Press, Madison, USA*: 695-718.