

POTENZIALE IMPIEGO DI SOSTANZE NATURALI IN ACQUACOLTURA: VALUTAZIONE DI TOLLERABILITÀ SU SPIGOLA (*DICENTRARCHUS LABRAX*) ED ORATA (*SPARUS AURATA*) DELL'ESTRATTO DI NEEM CAKE (*AZADIRACHTA INDICA*)

Guandalini E.¹, Bronchini S.², Bennati L.², Nicoletti M.³

¹Istituto Superiore di Sanità; ²Agroittica Toscana; ³Univ. La Sapienza, Dip. di Farmacologia

Gli interventi terapeutici e di profilassi in acquacoltura, utilizzando i pochi farmaci veterinari registrati in Italia e nella UE, spesso risultano poco efficaci. Inoltre, c'è una crescente attenzione alle problematiche di impatto ambientale ed alla sicurezza alimentare (residui nei tessuti), che condizionano il ricorso alle sostanze farmacologiche tradizionali anche in casi di effettiva necessità. Partendo da queste considerazioni, è stato predisposto uno studio sperimentale per verificare l'eventuale azione antiparassitaria (ectoparassiti) dell'estratto di Neem cake su pesci di allevamento. Neem cake è il sottoprodotto del processo di pressatura dei frutti e delle foglie di *Azadirachta indica*, da cui si ricava l'olio di Neem. I componenti principali presenti nell'olio di Neem sono i nortriterpeni noti come azadiractine, tra cui azadiractina, azadiradione, salannina e nimbina. La sua attività insetticida è stata dimostrata su oltre 200 specie di insetti, agendo principalmente come antifeedant e interferente di crescita su stadi larvali, ma è stata studiata anche come antibatterico. L'azadiractina è biodegradabile e mostra una tossicità molto bassa per i mammiferi (nel ratto $DL_{50} > 3540$ mg/kg).

Il Neem cake utilizzato è stato soggetto a ripartizione acetato di etile/acqua e la fase organica ha rivelato tre componenti principali: a) una componente lipidica, contenente acidi grassi e derivati trigliceridi; b) una componente ricca di composti aromatici, ben visibili all'UV, che all'analisi RMN ha premesso di evidenziare la presenza di uno scheletro comune policiclico; c) una componente priva di reazione all'UV, ove si trovano nor-triterpeni, tra cui le azadiractine. In questa prima fase di sperimentazione è stata valutata la tollerabilità del prodotto somministrato, consistente nell'estratto con acetato di etile, addizionato con una piccola quantità di tween per aumentarne la solubilità, a diverse concentrazioni su stadi giovanili di spigole ed orate in allevamento.

1 Prova – In avannotteria sono state predisposte 6 vasche circolari tronco-coniche in resina da 500 l. 2 vasche con 20 orate, 2 vasche con 20 spigole, 1 vasca controllo orate, 1 vasca controllo spigole. Le orate e le spigole utilizzate pesavano in media circa 15 g/pz. Sono state testate due concentrazioni dell'estratto: 2 mg/l e 4 mg/l, ognuna frazionata in due somministrazioni giorno. Il periodo di somministrazione è stato di 5 giorni consecutivi. Il tempo di esposizione dei pesci alle concentrazioni piene (chiusura dell'acqua in entrata) è stato di 45 minuti. **2 Prova** – La seconda prova è stata svolta nelle stesse identiche condizioni. Le orate e le spigole utilizzate pesavano circa 40 g/pz. Le concentrazioni provate sono state di: 8 mg/l e 16 mg/l, ugualmente suddivise in due somministrazioni giorno.

In entrambe le prove e con le diverse concentrazioni non sono stati osservati nei pesci reazioni avverse all'esposizione dell'estratto del Neem cake. Non sono stati registrati comportamenti anomali né effetti tossici, né mortalità. Va considerato che le orate e le spigole utilizzate nell'esperimento erano stadi giovanili e quindi ancora molto delicati e sensibili ad esposizioni di sostanze estranee. Inoltre, nella seconda prova le concentrazioni impiegate sono state significativamente alte, se paragonate alle concentrazioni di altri principi attivi generalmente impiegati in acquacoltura. Questa prima fase di valutazione sulla tollerabilità dell'estratto del Neem cake, consente di proseguire la sperimentazione applicandola su soggetti infestati da ectoparassiti (*Oodinium* sp., *Gyrodactylus* sp., *Trichodina* sp.) senza esporre gli organismi ittici a rischi di tossicità acuta ed osservare il potenziale terapeutico.