



ATTI DEL WORKSHOP

Selezione e recupero della trota
fario di ceppo mediterraneo:

ESPERIENZE *a* CONFRONTO

TERNI Villalago di Piediluco
Venerdì 6 giugno 2003

Ricerca e gestione in campo ittico e ambientale: esperienze e innovazioni nei rapporti tra Provincia di Terni e Università di Perugia

M. MEARELLI

Dipartimento di Biologia animale ed Ecologia
Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto - 06100 PERUGIA

Una razionale gestione delle risorse naturali può essere conseguita solo se è preceduta dall'acquisizione di un'adeguata serie di conoscenze scaturite da un'appropriata ricerca. Questa deve essere impostata tenendo conto che ogni ambiente ha una propria essenza sistemica e che le interazioni fra tutte le componenti che lo caratterizzano hanno dinamiche che investono aspetti spaziali e temporali. Infine la gestione, impostata sull'applicazione dei risultati della ricerca, deve perseguire l'obiettivo di conciliare lo sfruttamento delle risorse con la loro conservazione. Si può quindi concludere che per gestire è indispensabile conoscere.

Per le ragioni precedentemente descritte i rapporti enti locali/statali e centri di ricerca possono essere individuati come indicatore di un corretto approccio alla gestione. Questa considerazione è particolarmente significativa per la nostra regione ed in particolare per la Provincia di Terni che, in campo ambientale, ha mantenuto un costante rapporto di collaborazione con l'Università di Perugia. Per certi aspetti, quali ad esempio lo studio degli ecosistemi fluviali, la Provincia di Terni ha promosso delle iniziative che possono essere considerate innovative, dal momento che hanno preceduto di molti anni l'odierna attività di monitoraggio ambientale. Credo che, da questo punto di vista, debba essere considerata con estremo interesse l'attività di ricerca condotta negli anni '60 sulla rete idrografica del Fiume Nera da parte dell'Istituto di Zoologia, Idrobiologia e Piscicoltura dell'Università di Perugia, diretto dal Prof. Giampaolo Moretti, in collaborazione con il laboratorio chimico provinciale di Terni, diretto dal Prof. Ascenzio Chindemi. Con buona sicurezza si può ritenere che la ricerca condotta sul Fiume Nera sia stata una delle prime esperienze di studio interdisciplinare basato sull'utilizzazione di metodologie diverse: idrauliche, chimiche e biologiche. Questa collaborazione è stata innovativa anche in termini di formazione in quanto una parte dei laureati usciti in quegli anni dall'Università di Perugia hanno condotto parte delle loro esperienze sulla chimica delle acque didattiche appunto in questo laboratorio.

Analoghe considerazioni valgono per la fauna ittica. Risalgono, infatti, sempre ai primi anni '60 i primi consuntivi e rapporti sullo stato ittologico delle acque umbre ed in modo specifico della Provincia di Terni. Si può anzi affermare che, grazie alle esperienze ed alle collaborazioni che hanno caratterizzato i rapporti tra Provincia di Terni e l'Istituto di Zoologia, Idrobiologia e Piscicoltura dell'Università di Perugia, già in quegli anni si è cominciato a ragionare sull'opportunità di realizzare un laboratorio integrato che fosse in grado di far fronte a tutte le questioni connesse all'espletamento di attività di controllo e interventi gestionali. Quasi sicuramente in questa prima fase la sede individuata era quella del L. Piediluco, in ragione dei marcati interessi ambientali ed economici di questo lago. Gli sviluppi di questa vicenda, che ha avuto un lungo iter, sono noti a tutti e sono sicuramente positivi in quanto il laboratorio in questione è stato finalmente realizzato nel 1998. La sede prescelta è stata quella di Terria, sulle sponde del F. Nera, e credo che siano sufficientemente note anche le ragioni di questa scelta che è stata improntata su una stretta collaborazione tra Provincia di Terni e Provincia di Perugia. In pratica a Terni il laboratorio ittico/ambientale ha valenze per le specie di acque fredde, mentre quello di S. Arcangelo sul Trasimeno assume rilevanza per le specie di acque calde.

Rapporti duraturi e consolidati sono quindi quelli che caratterizzano la Provincia di Terni e il Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia che ha riunito strutture e personale già afferente ai due istituti di Zoologia, Idrobiologia e Piscicoltura dell'Università di Perugia. Rapporti che hanno permesso e permettono di far fronte alle esigenze conoscitive a fini gestionali, ma anche alle "emergenze" quali ad esempio quella del L. Piediluco. In questo ultimo caso è opportuno ricordare lo studio degli anni '80 con cui veniva preannunciato l'accelerazione dei fenomeni di eutrofizzazione delle acque e soprattutto la ricerca integrata (condotta dall'Università di Perugia, Istituto Zooprofilattico, ARPA Umbria e servizi veterinari della ULSS.). La ricerca ha permesso di puntualizzare lo stato ambientale del lago e soprattutto costituisce un utile riferimento per la definizione di un protocollo di monitoraggio permanente.

Le esperienze recenti, in larga parte, sono improntate su linee di sviluppo e di continuità con il passato e questa considerazione vale soprattutto per la ricerca condotta sulla "Selezione e recupero della trota fario di ceppo mediterraneo" di cui oggi saranno illustrati i risultati. Nell'esprimere soddisfazione per i risultati scientifici conseguiti e auspicando una corretta e adeguata utilizzazione degli stessi ritengo doveroso ringraziare l'Amministrazione Provinciale di Terni per la fiducia accordata al nostro dipartimento.

Problemi aperti sulla tassonomia delle trote italiane

G. GANDOLFI

Dipartimento di Biologia evolutiva e funzionale

Università degli Studi di Parma, Parco Area delle Scienze 11/A - 43100 PARMA

Le trote appartengono alla famiglia Salmonidae alla quale Nelson (1994) attribuisce tre sottofamiglie (Coregoninae, Thymallinae e Salmoninae), con complessivamente dieci generi e circa 70 specie. Sono tutte specie dulcicole o diadrome, dislocate nell'Artico e nei bacini e acque costiere della parte settentrionale dell'Atlantico e del Pacifico. Alcuni salmonidi, in particolare la "fario" e la "iridea", sono da lungo tempo introdotte ed acclimate anche in acque fredde dell'emisfero meridionale (Australia, Nuova Zelanda, Cile, Argentina). Forme fossile di salmonidi, in depositi alluvionali dell'Europa, sono note dall'inizio del Miocene (Nikol'skii, 1961). La diversità biologica esistente in questa famiglia è molto maggiore di quella che normalmente risulta nella tassonomia corrente dei pesci, tenendo anche conto che, con ogni probabilità, i salmonidi comprendono molte specie biologiche non ancora riconosciute come tali (Behnke, 1972). Nell'inquadramento sistematico attuale, sembra evidente la tendenza a riconoscere una diversità molto maggiore nell'ambito delle forme distribuite sui due versanti dell'Atlantico, rispetto a quelle dei due versanti del Pacifico.

La bibliografia relativa ai salmonidi mette chiaramente in evidenza un generale disaccordo sul fatto che singoli taxa costituiscano specie, sottospecie o insiemi di popolazioni. Inoltre, i gruppi di popolazioni, ed a volte anche le singole popolazioni, mettono in evidenza peculiari caratteristiche che portano autori diversi a riconoscerle di volta in volta come ecotipi, morphae o altro ancora. Ciò è evidentemente la conseguenza della enorme plasticità dimostrata dai salmonidi in generale e dalle trote in particolare. Come esempio a questo proposito può essere considerato il quadro alquanto complesso proposto da Berg (1948) per inquadrare le numerose forme di trote presenti in Unione Sovietica, per le quali, oltre al nome del genere e della specie, viene spesso utilizzata anche la denominazione che riguarda la sottospecie, la infrespecie e la morpha. Inoltre, a ulteriore dimostrazione della complessità esistente in questo gruppo, secondo lo stesso Berg (1948), le due morphae *lacustris* e *fario* sarebbero caratteristiche di tutte le tre sottospecie *S. trutta trutta*, *S. trutta labrax* e *S. trutta caspius*. Il problema è interessante perché riguarda di riflesso anche le trote italiane: secondo Tortonese (1970), infatti, la morpha *lacustris* dei grandi laghi prealpini potrebbe essere riferita sia alla trota "fario" che alla trota "marmorata".

Se ci si limita a considerare il genere di appartenenza delle trote (*Salmo*) e si esamina come questo taxon è trattato nei più popolari manuali sui pesci d'Europa, appare evidente una netta diversità di opinioni. Ad esempio, Ladiges e Vogt (1979) considerano presenti in Europa soltanto due specie: il salmone atlantico (*Salmo salar*) e la trota (*S. trutta*). A quest'ultima, oltre la forma nominale *S. trutta trutta*, che comprenderebbe tre morphae e cioè la trota marina (m. *trutta*), la trota di lago (m. *lacustris*) e la trota di ruscello (m. *fario*), sono assegnate ben 13 sottospecie nell'areale mediterraneo. Tra queste sono comprese tre sottospecie presenti in Italia (*macrostigma*, *marmoratus* e *carpio*). Anche Miller e Loates (1997) riconoscono la presenza delle due stesse specie *S. salar* e *S. trutta*, ma indicano per la trota una sola sottospecie presente nell'area del Mar Nero (*S. trutta labrax*); citano anche l'esistenza di molte varianti locali e regionali, in alcuni casi con evidenza di isolamento riproduttivo tra diverse popolazioni simpatiche. Questi stessi autori riportano come esempio le tre forme lacustri del Lough Melvin in Irlanda, una "varietà"

S. trutta levenensis che si differenzia per un maggiore numero di ciechi pilorici e due "specie" dell'area italiana (*S. carpio* e *S. fibreni*).

COREGONINAE			
<i>Prosopium</i>	6	emisfero N	DU
<i>Coregonus (Coregonus)</i>	25	emisfero N, prevalenza Asia ed Europa	DU
<i>(Leucichthys)</i>	1	emisfero N, in prevalenza N-America	DU
<i>Stenodus</i>	1	Artico, Asiatico e N-America	AN
THYMALLINAE			
<i>Thymallus</i>	4-5	emisfero N	DU
SALMONINAE			
<i>Brachymystax</i>	1	Asia N-W	DU
<i>Salmothymus</i>	3	Balcani	DU
<i>Hucho</i>	2-3	N-Asia, Giappone, Danubio	DU, AN
<i>Salvelinus (Salvethymus)</i>	1	Lago El'gygytgyn in Siberia	DU
<i>(Baione)</i>	2	versante Pacifico del N-America	DU, AN
<i>(Salvelinus)</i>	8	emisfero N	DU, AN
<i>Salmo</i>	5	versante N-Atlantico e Artico	DU, AN
<i>Oncorhynchus (Rhabdofario)</i>	4	versante N-Pacifico	DU, AN
<i>(Oncorhynchus)</i>	6-7	versante N-Pacifico e Artico	DU, AN

Tab.1 - Famiglia Salmonidae: prospetto delle sottofamiglie, generi (sottogeneri), numero di specie e loro distribuzione (AN, specie anadrome; DU, specie dulcicole) (dati desunti da Nelson, 1994).

Anche in Italia il problema delle trote, a partire dal XIX secolo, ha provocato discussioni circa l'inquadramento sistematico. Le cinque specie considerate presenti da Canestrini (1867), due delle quali però esclusive dell'area dalmatica, si riducono secondo Tortonese (1970) ad una sola specie *Salmo trutta* con tre sottospecie: la nominale (*trutta*), a cui sono assegnate le forme fario e macrostigma, la marmorata (*marmoratus*) ed il carpione del Garda (*carpio*). Gandolfi e Zerunian (1987), discutendo questa classificazione, hanno proposto di considerare presenti nelle acque italiane tre specie (Tab. 3). Due di esse, il carpione del Garda (*Salmo carpio*) e il carpione del Fibreno (*Salmo fibreni*) sono endemiti molto localizzati, costituiti ognuno da una sola popolazione insediata una nel Lago di Garda e l'altra nel Lago di Posta Fibreno (bacino del Liri-Garigliano); considerano invece la terza entità, ampiamente diffusa, come una superspecie comprendente tre semispecie: la trota di torrente (farior) come forma nominale *Salmo (trutta) trutta*, la trota padana o marmorata *S. (trutta) marmoratus* e la macrostigma *S. (trutta) macrostigma*. Nello stesso lavoro è espresso il dubbio circa la reale autoctonia della fario in Italia, in accordo con Tortonese (1970), ed è considerata la possibile presenza di un'altra semispecie nel versante medio-adriatico, che potrebbe corrispondere alla trota descritta come *S. ghigii* da Pomini (1941), precedentemente considerata affine al *S. dentex* da Gridelli (1936). Le semispecie italiane avrebbero avuto una distribuzione originariamente allopatrica e la simpatria oggi riscontrabile in alcune parti dei loro areali sarebbe la conseguenza di immissioni operate dall'uomo. I due carpioni, sovrapponendosi nei loro ristretti areali alla superspecie *S. (trutta)* sono considerati buone specie per la presenza di solide barriere riproduttive e per differenze a livello biologico e morfologico rispetto alle popolazioni di altre trote con le quali vivono in simpatria (*S. carpio* con la marmorata e la fario, *S. fibreni* con la macrostigma). La proposta ha suscitato critiche e perplessità e ha stimolato un approfondimento di indagini, svolte anche con metodi di tipo biochimico e biomolecolare, che stanno producendo buoni risultati, anche se ancora molte cose restano da chiarire.

Dalla bibliografia di questi ultimi anni sembra emergere in modo ormai del tutto

convincente che le popolazioni di trote del versante atlantico dell'Europa, dalle quali derivano i ceppi utilizzati per gli allevamenti, siano geneticamente differenziate da quelle del versante mediterraneo (Giuffra et al., 1994; Largiadèr & Scholl, 1996). Secondo Bernatchez & Osinov (1995) anche in Russia e in Asia occidentale possono essere distinti, sulla base di sequenze di DNA mitocondriale e di geni nucleari, gli insiemi di popolazioni nordiche (Baltico, Mare Bianco, Mare di Barents) rispetto agli insiemi meridionali (Mar Nero, Mar Caspio, Mare di Aral). Una diversità a livello genetico riguarda quindi in senso generale tutte le trote settentrionali rispetto a quelle meridionali. La separazione tra i rispettivi gruppi di popolazioni sarebbe relativamente recente, essendosi verificata durante l'ultima glaciazione (Largiadèr et al., 1996). Il fatto che nell'areale mediterraneo si rilevi frequentemente l'evidenza di introgressione tra le popolazioni locali e quelle atlantiche sarebbe imputabile almeno in gran parte alle immissioni operate dall'uomo (Largiadèr & Scholl, 1996). E' comunque ammesso che un certo grado di ibridazione possa essersi verificato anche in condizioni naturali, ricordando che le trote sono in grado di spostarsi in mare senza eccessivi problemi. In alcuni casi anche semplici caratteri morfologici consentirebbero di riconoscere gli esemplari dei due gruppi di popolazioni ed i loro ibridi. E' il caso, ad esempio, delle trote del Fiume Doubs, nell'alto bacino del Rodano, per le quali sia il numero che la forma delle macchie "parr" costituiscono elementi diagnostici che consentono di discriminare le trote indigene da quelle immesse provenienti dagli allevamenti e dai loro ibridi (Mezzera et al., 1997). Considerata la plasticità che hanno questi animali, il fatto però può riguardare alcune particolari popolazioni, ma può non valere per altre.

GENERE e SPECIE	SOTTOSPECIE	INFRASPECIE	MORPHA
<i>Salmo salar</i>			<i>Salar</i> <i>Sebago</i>
<i>Salmo trutta</i>	<i>trutta</i>		<i>Trutta</i> <i>Lacustris</i> <i>Fario</i>
	<i>labrax</i>		<i>Labrax</i> <i>Lacustris</i> <i>Fario</i>
	<i>caspicus</i>		<i>Caspicus</i> <i>Lacustris</i> <i>Fario</i>
	<i>aralensis</i>		
	<i>ezenami</i>		
	<i>oxianus</i>		
<i>Salmo ischchan</i>		<i>ischchan</i> <i>aestivalis</i> <i>gegarkuni</i>	<i>Gegarkuni</i> <i>Alabalach</i>
		<i>danilewskii</i>	
<i>Salmo penshinensis</i>			
<i>Salmo mykiss</i>			

Tab. 2 - Inquadramento sistematico delle trote presenti in Unione Sovietica e nei paesi adiacenti, secondo Berg (1948); l'infraspecie *ischchan* e la morpha *gegarkuni* sono presenti ciascuna con due diversi stock riproduttivi. Le specie *S. penshinensis* e *S. mykiss* sono oggi assegnate al genere *Oncorhynchus*.

Per le trote presenti in Italia, l'evidenza attuale sembra sempre più confermare quanto già segnalato da Forneris et al. (1994). Popolazioni di trote delle Alpi occidentali, presumibilmente autoctone, mostrano caratteristiche tipiche della trota *macrostigma* dell'Italia centrale ed insulare. Analogamente, anche alcune popolazioni residue presenti in corsi d'acqua del versante settentrionale dell'Appennino, scarsamente o per nulla interessati da immissioni di trote d'allevamento, evidenziano gli stessi caratteri. E' quindi probabile che popolazioni dell'unico taxon *macrostigma* fossero presenti non solo nei torrenti appenninici peninsulari e nelle isole, ma anche negli affluenti di destra del Po, spingendosi fino alle zone alpine più meridionali e occidentali. Nella gran parte dell'areale padano-veneto, e cioè negli affluenti di sinistra del Po e nei corsi d'acqua del Nord-Est, la *macrostigma* era sostituita dalla marmorata. Questa trota era certamente esclusiva delle zone pedemontane di risorgenza, con tendenza a risalire all'interno delle vallate nei corsi d'acqua di maggiore portata. Può ancora tuttalpiù sussistere il dubbio che popolazioni ascrivibili alla *macrostigma* potessero essere presenti nelle zone più a monte anche nei versanti delle Alpi centrali e orientali. Che la marmorata costituisca una buona specie, come di recente è stato riproposto anche da Guyomard (1994), oppure una semispecie, ha importanza relativa. E' comunque chiaro che si tratta di un'entità faunistica ben differenziata su basi genetiche, così come appare altrettanto differenziato il carpione del Garda. Non si hanno ancora sufficienti dati biochimici e molecolari sul carpione del Fibreno.

CANESTRINI, 1867		TORTONESE, 1970	GANDOLFI et al., 1991
<i>Trutta genevittata</i>		<i>Salmo trutta marmoratus</i>	<i>Salmo (trutta) marmoratus</i>
<i>Trutta fario</i>		<i>Salmo trutta</i>	<i>Salmo (trutta) trutta</i> <i>Salmo (trutta) macrostigma</i> <i>Salmo fibreni</i>
<i>Trutta obtusirostris</i> #			
<i>Trutta dentex</i> #			
<i>Trutta carpio</i>		<i>Salmo trutta carpio</i>	<i>Salmo carpio</i>

Tab.3 - **Elenco dei taxa e denominazione scientifica delle trote delle acque italiane in tre trattati di ittiologia (#, solo in Istria e Dalmazia).**

Se questo è il quadro che sembra ragionevolmente configurarsi, si deve prendere atto che in tutto l'areale italiano della *macrostigma* (questa trota è presente anche in Nord Africa, in Grecia ed in Turchia), l'introggressione genetica con trote introdotte, appartenenti a ceppi d'allevamento di origine nord-europea, costituisce un fenomeno molto diffuso ed evidente. Le immissioni di massicce quantità di trote provenienti da allevamenti, condotte su vasta scala per oltre cento anni, hanno quindi provocato in tutta Italia effetti di inquinamento genetico. E non è da escludere che anche precedentemente l'uomo possa avere traslocato trote da un versante all'altro delle Alpi e dell'Appennino. E' documentato, ad esempio, che il duca di Urbino nell'anno 1500 introdusse trote nel comprensorio di Cantiano, nel bacino dell'alto Metauro; non è specificato da dove provenissero queste trote, ma è ragionevole pensare che si trattasse di materiale prelevato nel bacino dell'alto

Tevere.

Le azioni di recupero da porre in atto devono pertanto obbligatoriamente partire da solide basi di conoscenza delle caratteristiche genetiche delle popolazioni attualmente presenti, perchè sia possibile riconoscere ed utilizzare ceppi che abbiano caratteristiche genetiche corrispondenti a quelle delle forme indigene. Si deve però anche porre attenzione al fatto che una singola popolazione, o poche popolazioni, non possono costituire il serbatoio al quale attingere per un recupero generalizzato delle trote autoctone in tutto l'areale italiano. I recenti risultati ottenuti da Lucarda et al. (1999) in una ricerca su diverse popolazioni di trota marmorata forniscono chiari elementi che scoraggiano azioni di questo genere, avendo dimostrato mediante l'analisi di microsatelliti che popolazioni molto vicine mostrano strutture genetiche ben definite ed elevati gradi di differenziamento. In alcune di queste popolazioni, sostenute con introduzioni di materiale proveniente da allevamenti di trote marmorate, le caratteristiche genetiche corrispondono a quelle delle zone di origine dei riproduttori utilizzati e non a quelle tipiche della popolazione locale. In definitiva, l'azione di ripopolamento anche in questi casi può provocare effetti di transfaunazione. Anche se il lavoro necessario appare molto complesso ed oneroso, è evidente che deve essere esercitata un'ampia azione di recupero di popolazioni locali, per un pieno rispetto delle condizioni di biodiversità. E' anche scontato ritenere che la pressione selettiva operata dalle condizioni locali di ogni singolo corso d'acqua certamente agisce nella direzione di fare riemergere le condizioni genotipiche più adatte per la popolazione locale, ovviamente con un recupero delle condizioni stesse che devono essere riportate al massimo grado di naturalità e controllando la pressione di pesca.

Bibliografia

- Behnke R. J. 1992. Native trout of Western North America. Am. Fish. Soc., Monogr. 6. American Fisheries Society, Bethesda, Md., 275 pp.
- Berg L. S. 1948. Ryby presnykh vod SSSR i sopedel'nykh stran. 4 ed., Vol. I, 1325 pp.
- Bernatchez L., Osinov A. 1995. Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. Mol. Ecol., 4: 285-297.
- Canestrini G. 1867. Pesci. Fauna d'Italia, parte 3. Vallardi, Milano, 208 pp.
- Foneris G., Pascale M., Sicuro B., Palmegiano B. 1994. Analisi biometrica di tre popolazioni di *Salmo (trutta) trutta*. In: Biologia dei salmonidi; tutela e gestione delle popolazioni indigene. Atti 5° Conv. naz. Ass. ital. Ittiologi Acque dolci, pp. 53-62.
- Gandolfi G., Zerunian S. 1987. I pesci delle acque interne italiane: aggiornamento e considerazioni critiche sulla sistematica e la distribuzione. Atti Soc. ital. Sci. nat. Museo civ. Stor. nat. Milano, 128: 3-56.
- Giuffra E., Bernatchez L., Guyomard R. 1994. Mitochondrial control region and protein coding genes sequence variation among phenotypic forms of trout, *Salmo trutta* L., from Northern Italy. Mol. Ecol., 3: 161-172.
- Gridelli E. 1936. I pesci d'acqua dolce della Venezia Giulia. Boll. Soc. adriatica Stor. nat., 35: 7-140.
- Guyomard R. 1994. Description et gestion des ressources genetiques des poisson dulcaquicoles: l'exemple de la truite commune. In: Biologia dei salmonidi; tutela e gestione delle popolazioni indigene. Atti 5° Conv. naz. Ass. ital. Ittiologi Acque dolci, pp. 3-16.
- Ladiges W., Vogt D. 1979. Die Suesswasserfische Europas. Verlag Paul Parey, Hamburg, 207 pp.

- Largiadèr C. R., Scholl A., Guyomard R. 1996. The role of natural and artificial propagation on the genetic diversity of brown trout (*Salmo trutta* L.) of the upper Rhone drainage. In: Conservation of endangered freshwater fish in Europe (A. Kirchhofer & D. Hefti, eds.), Birkhaeuser Verlag, Basel, pp. 181-197.
- Largiadèr C. R., Scholl A. 1996. Genetic introgression between native and introduced brown trout *Salmo trutta* L. populations in the Rhone River basin. Mol. Ecol., 5: 417-426.
- Lucarda A. N., Bargelloni L., Patarnello T., Gandolfi G. 1999. Caratterizzazione genetica di *Salmo (trutta) marmoratus* (Cuvier, 1817) mediante l'uso di marcatori genetici nucleari. Atti 7° Conv. naz. Ass. ital. Ittiologi Acque dolci, Quad. ETP, 28: 1-5.
- Mezzera M., Largiadèr C. R., Scholl A. 1997. Discrimination of native and introduced brown trout in the River Doubs (Rhone drainage) by number and shape of parr marks. J. Fish. Biol., 50: 672-677.
- Miller P. J., Loates M. J. 1997. Fish of Britain and Europe. Harper Collins, London, 288 pp.
- Nelson J. S. 1994. Fishes of the world. 3rd ed., Wiley, New York, XVII + 600 pp.
- Никол'skii G. V. 1961. Special Ichthyology. 2nd ed., Israel Program for scientific translations, Jerusalem, 538 pp.
- Pomini F. P. 1941. Ricerche sui *Salmo* dell'Italia peninsulare. Atti Soc. ital. Sci nat., 80: 33-48.
- Tortonese E. 1970. Osteichthyes, parte I. Fauna d'Italia, vol. X, Calderini, Bologna, XIII + 545 pp.

Caratterizzazione morfometrica e meristica delle trote del T.Monterivoso

M. LORENZONI, S. CARLETTI, M. CORBOLI, G. PEDICILLO, M. MEARELLI

Dipartimento di Biologia animale ed Ecologia
Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto - 06100 PERUGIA

A. CAROSI

Servizio Programmazione ittiofaunistica e Politiche dello Sport
Provincia di Terni, via Plinio il Giovane, 21 - 05100 TERNI

Premessa

L'attività antropica ha sensibilmente modificato la fauna ittica originaria delle acque dolci italiane; si tratta di un processo di trasformazione che ha assunto dimensioni ed importanza crescenti nel corso degli ultimi anni.

In particolare la parte montana dei corsi d'acqua, caratterizzata nell'Italia centrale da popolamenti quasi esclusivamente monospecifici di trota fario (*Salmo trutta trutta* L.), è minacciata da un fenomeno pericoloso per la perdita della diversità biologica: l'inquinamento genetico (Allendorf, 1991). Ciò accade in quanto le trote utilizzate per i ripopolamenti hanno un patrimonio genetico che si differenzia sensibilmente da quello delle popolazioni naturali con cui vengono a contatto. Le conseguenze dell'inquinamento genetico non sono esattamente prevedibili ma è comunque ampiamente dimostrato che l'introduzione di pesci d'origine alloctona può causare la contrazione o addirittura la scomparsa delle popolazioni naturali.

Da questo punto di vista risulta sempre più rara la presenza di popolazioni di trote di ceppo mediterraneo; per rimediare a questa situazione gli stock attualmente utilizzati nelle trotilture per la produzione di materiale da semina andrebbero rimpiazzati con esemplari provenienti da ceppi indigeni. Tutte le esperienze già condotte in alcune zone d'Italia con i salmonidi (Forneris, 1989) indicano che i migliori risultati si ottengono mediante l'utilizzo d'esemplari allo stadio giovanile (avannotti), nati da riproduttori selvatici in condizioni possibilmente vicine a quelle naturali.

Lo scopo della ricerca è dunque quello di caratterizzare morfologicamente alcune popolazioni di trota fario dell'Italia centrale e di evidenziare i caratteri morfologici che le contraddistinguono. Ciò ha evidentemente importanti ricadute pratiche, poiché i risultati permetteranno di selezionare su base morfologica i riproduttori di ceppo autoctono da utilizzare per la produzione di novellame da ripopolamento.

Materiale e metodi

Il campione è costituito da esemplari prelevati dal T.Monterivoso e dal laboratorio Ittico di Terria, dove sono allevate trote nate da riproduttori selvatici. Allo scopo di effettuare un confronto con altre popolazioni di trota fario sono stati prelevati esemplari dal F.Nera e da alcuni corsi d'acqua che ricadono nell'ambito del Parco Nazionale dei Monti Sibillini. La campagna dei rilevamenti è stata effettuata su 24 corsi d'acqua per complessive 45 stazioni e si è svolta nell'arco di tempo compreso tra maggio 2000 e marzo 2001. Gli esemplari catturati e utilizzati nelle successive analisi di laboratorio sono stati complessivamente 184.

La cattura degli esemplari di trota fario è stata effettuata con elettrostorditore a corrente continua; ad ogni esemplare catturato è stata misurata sul posto la lunghezza totale (± 0.1 cm), determinato il peso (± 1 g) e prelevato un piccolo campione di scaglie, mediante le

quali è stata valutata l'età in laboratorio (Van Utrecht e Schenkkan, 1972).

Per quanto riguarda la caratterizzazione morfometrica e meristica, un campione è stato fotografato sul posto e portato in laboratorio per le successive misurazioni. Su ogni esemplare sono stati misurati i seguenti caratteri morfometrici: lunghezza totale, lunghezza alla furca, lunghezza all'occhio, lunghezza all'opercolo, lunghezza mascellare, distanza interorbitale, altezza massima, altezza minima, diametro dell'occhio, altezza della pinna pettorale, altezza della pinna ventrale, altezza della pinna anale, altezza della pinna dorsale. La lunghezza totale e quella alla furca sono state misurate mediante un tavolo di dissezione millimetrato, gli altri caratteri morfologici mediante un calibro digitale con precisione al decimo di millimetro. I caratteri meristici misurati sono: N° delle vertebre, N° dei ciechi pilorici, N° delle squame sulla linea laterale, N° delle squame sotto la linea laterale, N° delle squame sopra la linea laterale, N° raggi ramificati sulla pinna pettorale, N° raggi ramificati sulla pinna ventrale, N° raggi ramificati sulla pinna anale, N° raggi ramificati sulla pinna dorsale, N° raggi ramificati sulla pinna caudale, N° denti sul vomere, N° macchie oculari, N° macchie rosse sulla linea laterale, N° branchiospine del primo arco branchiale, N° macchie rosse, N° macchie nere, presenza/assenza della macchia preopercolare, presenza/assenza delle macchie parr.

La determinazione del sesso è avvenuta mediante dissezione ed analisi microscopica delle gonadi.

L'interpretazione delle immagini riprese sul campo ha permesso di incrementare il numero dei parametri rilevati. Mediante le tecniche della morfometria geometrica (Strauss e Bookstein, 1982) sul profilo del pesce sono stati localizzati 12 punti (*landmarks*) significativi dal punto di vista anatomico (Fig.1).

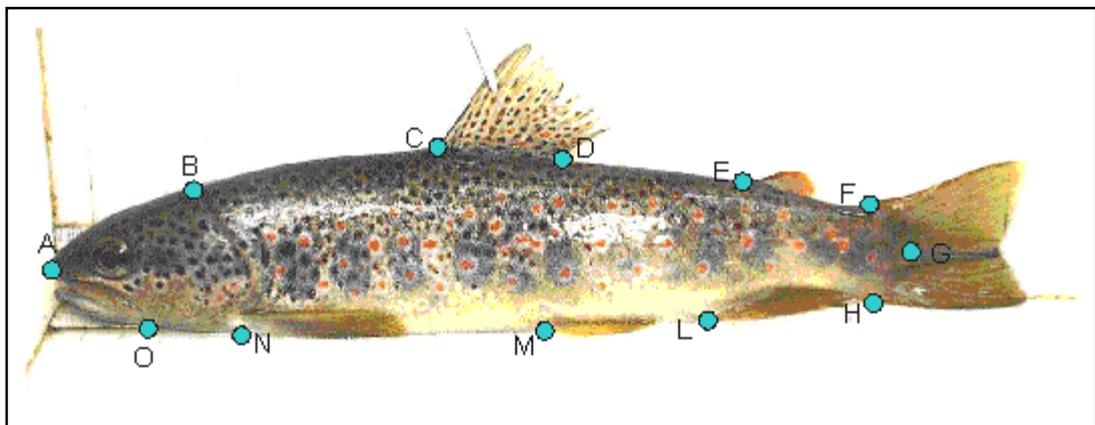


Fig.1 - Localizzazione dei *landmarks*

Inoltre è stato misurato il perimetro, l'area e la localizzazione delle macchie rosse e nere presenti sui fianchi del pesce. Le coordinate (x,y) dei 12 *landmarks*, l'area, il perimetro e le coordinate di tutte le macchie nere e rosse sono stati elaborati per acquisire ulteriori parametri, utili per l'indagine morfologica delle trote: mediante le coordinate dei *landmarks* si sono potute ricavare per ogni esemplare le misure di tutte le distanze che separano ogni *landmark* dagli altri; le dimensioni delle macchie di ogni esemplare sono state espresse come media.

Per avere invece un'idea della disposizione delle macchie sul corpo si è diviso il profilo di ogni pesce in 4 quadranti, tracciando una linea che unisce il *landmark* A al *landmark* G e la perpendicolare a questa passante per C (Fig.2).

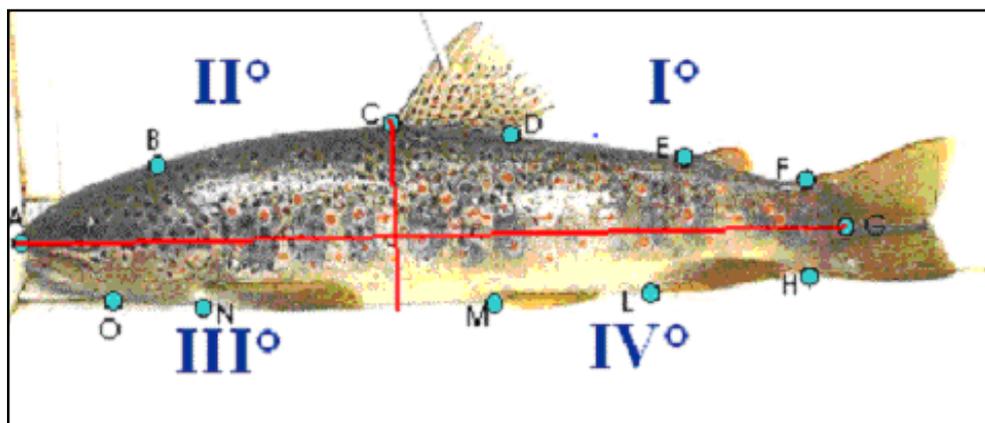


Fig.2 - Suddivisione in quadranti del corpo del pesce.

Per una caratterizzazione efficace delle popolazioni presenti nel campione complessivo questo è stato suddiviso in 5 subcampioni in base alla provenienza degli individui (Tab.1):

Subcampione	N° esemplari
Monterivoso	25
Laboratorio Terria	25
Alto Nera	32
Basso Nera	42
Adriatici	60

Tab.1- Disaggregazione per area di provenienza del campione complessivo

1. Monterivoso: esemplari catturati nel T.Monterivoso.
2. Laboratorio: esemplari prelevati nel Laboratorio Ittico di Terria.
3. Basso Nera: esemplari prelevati dal F.Nera in località Terria.
4. Alto Nera: esemplari provenienti dai corsi d'acqua del bacino del F.Nera che ricade all'interno del Parco Nazionale dei Monti Sibillini.
5. Adriatici: esemplari prelevati nei bacini dei fiumi Aso, Tronto, Tenna e Chienti compresi all'interno del Parco Nazionale dei Monti Sibillini.

Per eliminare le differenze fra le popolazioni dovute alla presenza di un accrescimento "allometrico" tutte le variabili morfometriche sono state trasformate mediante la formula:

$$M_t = M_o \left(\frac{L}{L_o} \right)^b$$

dove:

M_t = misura standardizzata,

M_o = misura del carattere osservato,

L = lunghezza standard media del campione complessivo,

L_o = lunghezza standard di ciascun esemplare,

b = coefficiente di regressione lineare tra $\log M_o$ e $\log L_o$ per ciascuno stock.

Questa trasformazione minimizza la variabilità risultante da una crescita allometrica (Beacham, 1985; Reist, 1985) e permette il confronto di campioni con lunghezza media

differente.

La sintesi dei vari passaggi effettuati nell'elaborazione dei dati è raffigurata nella Fig.3. L'elenco dei parametri rimasti dopo l'eliminazione di quelli influenzati dalla taglia, dal dimorfismo sessuale e dall'ambiente sono i seguenti: n° macchie nere del I° quadrante, n° macchie nere del III° quadrante, n° macchie nere del IV° quadrante; percentuale macchie nere del I° quadrante, percentuale macchie nere del III° quadrante, percentuale macchie nere del IV° quadrante; n° macchie rosse del II° quadrante, n° macchie rosse del IV° quadrante, percentuale macchie rosse del IV° quadrante, n° macchie nere, n° macchie nere, n° branchiospine sul I° raggio branchiale, n° squame sotto la linea laterale, n° raggi della pinna anale, n° raggi della pinna pettorale e le distanze fra i seguenti *landmarks*: AM, AO, BO, EF, GH, LO, MO.

Per valutare se gli esemplari che costituiscono il campione complessivo possono essere raggruppati in uno o più gruppi omogenei sulla base delle variabili considerate è stata utilizzata l'analisi di agglomerazione (cluster analysis) che ha appunto lo scopo di suddividere un campione multivariato in gruppi di casi omogenei (clusters). Per il calcolo della matrice delle distanze tra tutti i punti del campione il metodo utilizzato è quello del calcolo della distanza euclidea, invece per calcolare la distanza tra i gruppi e quindi definire la sequenza di agglomerazione è stato utilizzato il metodo di Ward. La matrice utilizzata è composta da 22 variabili (parametri) e 182 oggetti (n° degli esemplari).

Utilizzando la stessa matrice i dati sono stati sottoposti ad analisi discriminante stepwise, utilizzando come variabile di gruppo i diversi cluster individuati nell'analisi di agglomerazione. In questo modo è stato possibile determinare il grado di separazione tra gli individui appartenenti a sottoinsiemi diversi e i caratteri le cui combinazioni giustificano la separazione stessa.

Discussione e conclusioni

Per i parametri meristici si riscontra una variabilità molto pronunciata: il numero medio delle vertebre è di poco superiore a 56 (moda=58), i valori oscillano tra un minimo di 40 ed un massimo di 57. Il numero medio dei ciechi pilorici è pari a 41,40 (moda=42), i valori oscillano tra un minimo di 16 ed un massimo di 72; bassi valori dei ciechi pilorici sono stati spesso indicati come caratteristica peculiare delle popolazioni di trota fario di ceppo mediterraneo (Olivari e Brun, 1988; Giovinazzo et al., 1996).

Macchie parr e macchia preopercolare, caratteri che generalmente contraddistinguono le trote di ceppo mediterraneo (Gandolfi, 1991; Zerunian e Gandolfi, 1990; Lorenzoni et al., 1991) sono risultati costantemente presenti; per il primo carattere è stata riscontrata la presenza nell'80,77% degli esemplari, per il secondo la percentuale sale al 93,85%. La totalità degli esemplari presenta almeno 2 macchie oculari (valore medio 2,29, moda 2), nell' 11,54% dei casi sono state osservate 4 macchie, carattere che per Skaala (1987) permetterebbe di riconoscere alcune popolazioni indigene dell'Europa settentrionale. Elevati sono i valori medi delle macchie nere (valore medio=62,39, moda=15) e rosse (valore medio=42,23, moda=33), ma in entrambi i casi è stata misurata un'accentuata variabilità (macchie nere: intervallo di variazione=303; macchie rosse: intervallo di variazione=167). Non sono stati catturati né esemplari con livrea costituita da sole macchie rosse né con solo macchie nere. Anche la distribuzione delle macchie è abbastanza variabile: le macchie rosse sono più uniformemente distribuite anche se il loro numero medio è più elevato nel IV° quadrante, (valore medio assoluto=14,09; valore medio percentuale=34,41%) e nel III° (valore medio assoluto=12,80; valore medio percentuale=29,44%). Le macchie rosse possono comunque essere del tutto assenti in ognuno

dei 4 quadranti o essere tutte concentrate nel II°, III°, IV° quadrante.

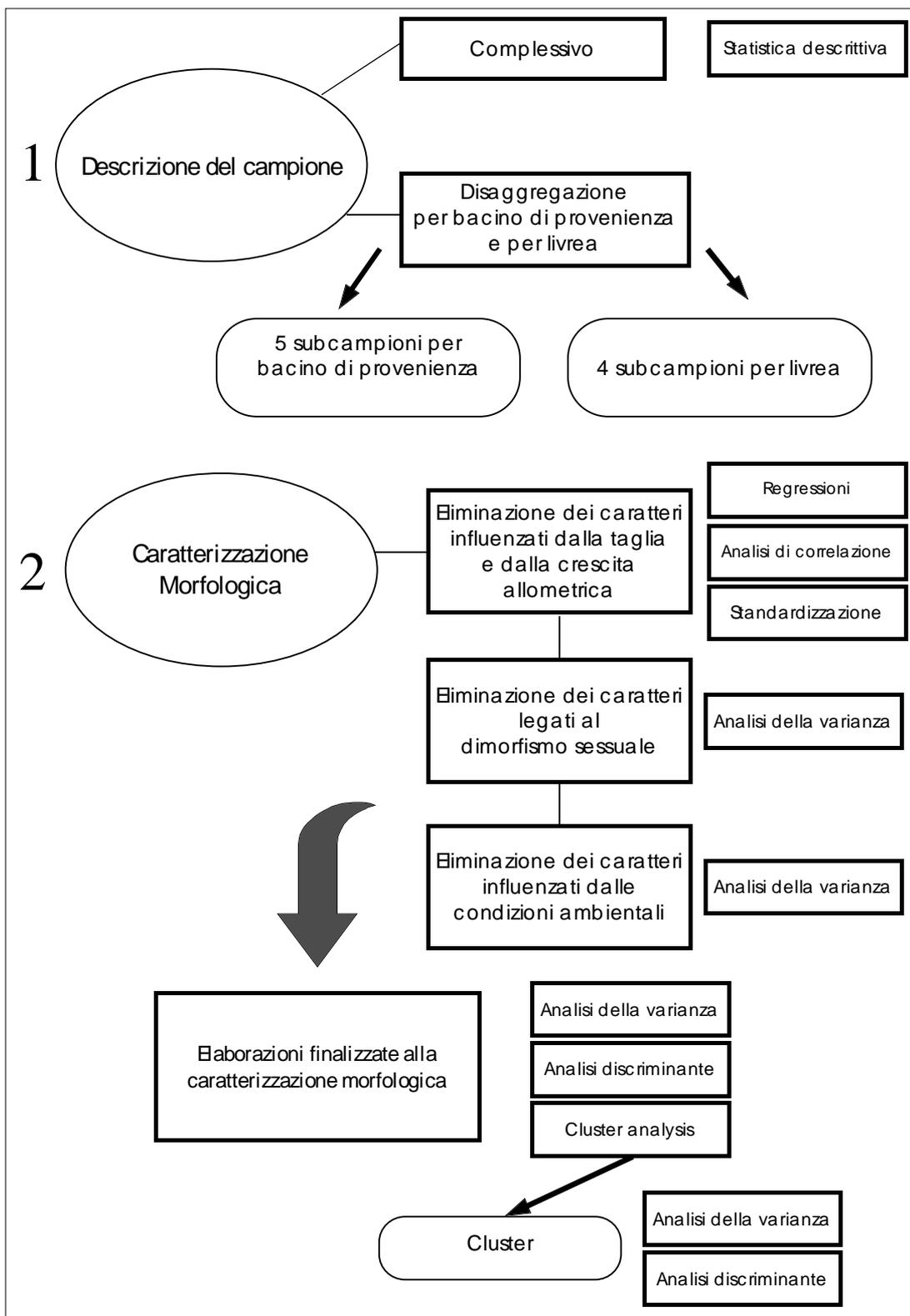


Fig. 3 - Schema sintetico delle elaborazioni effettuate

Le macchie nere tendono a concentrarsi di più nel III° quadrante (valore medio assoluto=34,68; valore medio percentuale=57,30%) o nel II°; in qualche caso sono risultate assenti almeno in uno dei 4 quadranti. Mediamente le macchie rosse sono più grandi delle macchie nere (valore medio area nere=0,05 mm²; rosse=0,12 mm²), tuttavia le

differenze si accentuano allorché si valuta la forma. Infatti minori sono le differenze nel perimetro dei due tipi di macchie (perimetro medio nere=0,70; perimetro medio rosse=0,73). Evidentemente le macchie nere, in generale più piccole, hanno anche una forma irregolare, mentre le rosse, più grandi tendono ad assumere forme più rotondeggianti.

I risultati della cluster analysis sono riportati nella Fig.4: ad una distanza di legame pari al 50% della distanza massima si separano due distinti gruppi. Il Cluster 1 comprende la maggior parte degli esemplari provenienti dal T.Monterivoso (88%) e dal Laboratorio di Terria (96%). Ad un'analisi più approfondita è risultato che il Cluster 1 può essere suddiviso ulteriormente in due sottogruppi (1a e 1b) in funzione della diversa distribuzione delle macchie nere e del numero di squame sotto la linea laterale.

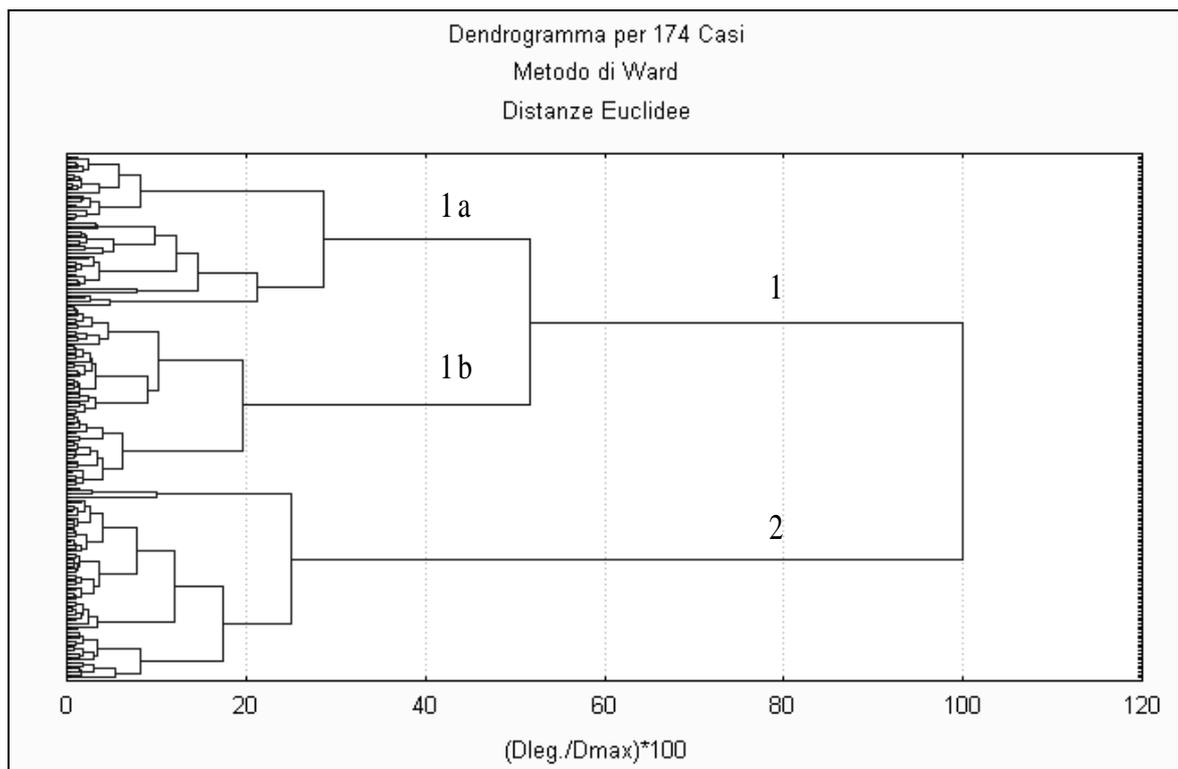


Fig. 4 - Cluster analysis

I risultati dell'analisi discriminata sono rappresentati nell'istogramma della Fig.5, l'asse delle x è costituito dalle frequenze percentuali degli scores della prima variabile canonica (Tab.2).

L'analisi discriminante ha permesso una corretta classificazione del 98% (Tab.3) degli esemplari complessivi; il valore degli esemplari correttamente classificati è più elevato nel cluster 2 (100%), per il cluster 1 sono classificati correttamente il 97% degli esemplari.

L'analisi discriminante stepwise (Tab.3) ha permesso approfondire le differenze fra i due gruppi di esemplari selezionando fra tutti i parametri quelli che meglio consentono una separazione dei due cluster: numero dei raggi della pinna anale, numero dei raggi della pinna pettorale, numero delle macchie nere, numero delle macchie rosse, numero delle macchie nere del I° e del IV° quadrante, percentuale delle macchie nere del I° quadrante, percentuale delle macchie rosse del IV° quadrante.

La livrea del Cluster 1 è contraddistinta dalla presenza di una punteggiatura molto più fitta in cui predominano le macchie nere sulle rosse, il Cluster 2, al contrario, è carat-

terizzato dalla presenza di macchie sia rosse che nere in numero molto meno abbondante, con predominanza di macchie rosse sulle nere. Diversa è anche la localizzazione delle macchie: negli individui del Cluster 2 la livrea si distingue per l'assenza di macchie nere nella porzione postero-superiore del corpo.

Su base esclusivamente morfologica le caratteristiche del Cluster 1 si sovrappongono infatti ampiamente con quanto indicato dalla letteratura scientifica per i ceppi autoctoni (Skaala, 1987; Lorenzoni et al., 1991; Jelli e Alessio, 1994; Forneris et al., 1996; Jelli e Gibertoni, 1999). Tenendo presente le caratteristiche delle trote che appartengono a questo gruppo sarà possibile un loro facile riconoscimento senza effettuare le complicate e lunghe analisi di laboratorio.

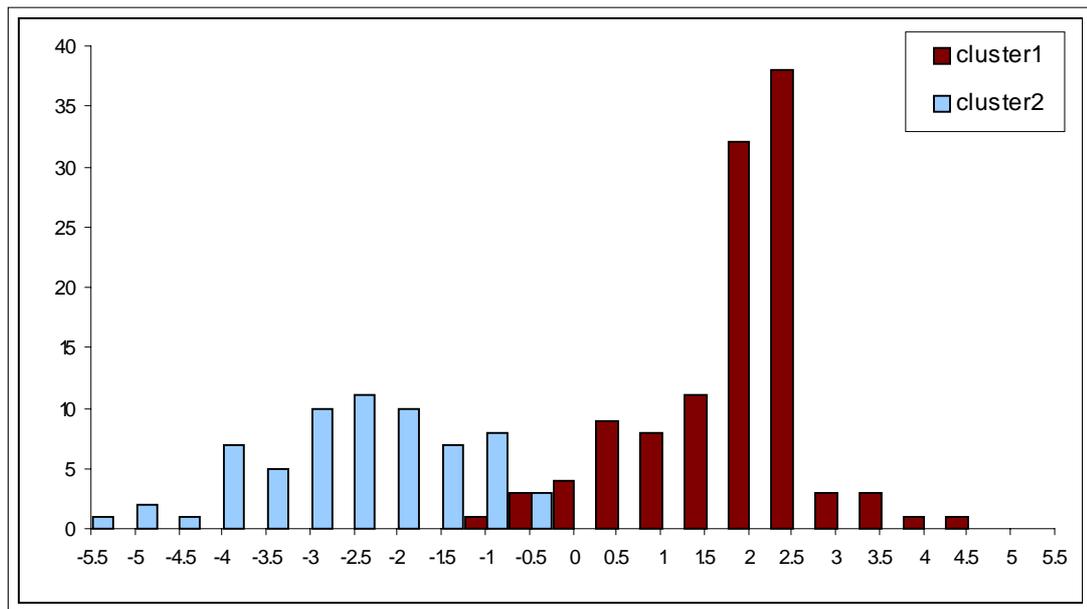


Fig.5 – Analisi discriminante stepwise

	Canonical correlations	Eigenvalues	Cumulative proportion of total dispersion	Wilks' lambda	p-tail
1	0.91	4.59	1.00	0.18	0.00

Tab.2 – Capacità discriminante delle funzioni

Parametri	F-to-remove	Tolerance
1 n° raggi della pinna anale	3.90	0.94
2 n° raggi pinna della pettorale	3.09	0.93
3 n° macchie rosse	6.26	0.91
4 n° macchie nere	34.27	0.15
5 n° macchie nere I° quadrante	123.52	0.08
6 n° macchie nere del IV° quadrante	6.01	0.08
7 percentuale macchie nere del I° quadrante	203.03	0.09
8 percentuale macchie nere del IV° quadrante	21.26	0.25

Tab.3 - Elenco dei parametri che meglio discriminano fra i 2 cluster.

Considerando i 5 subcampioni che si differenziano per origine questi si distribuiscono tra i 2 cluster nel modo indicato nella Tab.4 .

	Alto Nera	Adriatici	Monterivoso	Basso Nera	Laboratorio	Totali
Cluster 1	43.90%	61.02%	88.00%	43.75%	96.00%	62.64%
Cluster 2	56.10%	38.98%	12.00%	56.25%	4.00%	37.36%
totali	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tab.4 – Suddivisione del campione disaggregato per origine nei 2 cluster.

E' da evidenziare che quasi tutto il Monterivoso e il Laboratorio di Terria si trovano nel Cluster 1 con una prevalenza per il cluster 1b in entrambi i casi; per quanto il Cluster 2, per le popolazioni del Nera (Alto Nera e Basso Nera) le percentuali sono nettamente superiori al campione complessivo.

I risultati più importanti della ricerca mettono in risalto la marcata omogeneità morfologica della popolazione di trota presente nel T.Monterivoso, che si caratterizza inoltre per possedere una serie di caratteri comunemente indicati in letteratura come tipici delle popolazione autoctone. Particolarmente utile è stato anche il raffronto tra la popolazione del T.Monterivoso e le trote del Laboratorio Ittico di Terria, che conferma la qualità del materiale allevato e che ha permesso di individuare un set di parametri poco influenzabile dalle caratteristiche ambientali e quindi particolarmente idoneo ad essere utilizzato come marcatore morfologico.

Bibliografia

- Allendorf F.W. (1991). Ecological and genetic effects of fish introductions: synthesis and recommendations. *Can. J. Fish. Aqu. Sc.*, 48 (Suppl.1): 178-181.
- Beacham T.D. (1985). Meristic and morphometric variation in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in southern British Columbia and Puget Sound. *Can. J. Zool.*, 63: 366-372.

- Forneris G. (1989). *Gli incubatoi di valle*. Amministrazione Provinciale di Torino, 57.
- Forneris G., Pascale M., Sicuro B., Palmegiano G.B. (1996). Analisi biometrica di tre popolazioni di *Salmo (trutta) trutta* L. *Atti del Conv. A.I.I.D.* Montecchio Maggiore (VI). 53-62
- Gandolfi G., Zerunian S., Torricelli P., Marconato A. (1991). *I pesci delle acque interne italiane*. Ist. Poligrafico e Zecca dello Stato, Roma, 617 pp.
- Giovinazzo G., Ballerini M., Lorenzoni M., Mearelli M. (1996). Variabilità morfologica e meristica in *Salmo trutta* L. del bacino del F. Nera. *Atti del V Conv. A.I.I.D.*, Riva del Garda, 447-458.
- Jelli F., Alessio G. (1994). L'ambiente e le trote del torrente Riaebero (Appennino Reggiano). Studio preliminare del popolamento a salmonidi del torrente Liocca (Appennino Reggiano) e considerazioni sugli interventi gestionali per il recupero dei ceppi autoctoni. *Atti del V Conv. A.I.I.A.D.* Montecchio Maggiore (VI), 129-138.
- Jelli F., Gibertoni P.P. (1999). Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta* L., nel bacino del fiume Secchia. *Atti del Convegno: Recupero e reintroduzione dei ceppi autoctoni di trota fario, Salmo (trutta) trutta L., di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto.* Reggio Emilia, 21-28.
- Lorenzoni M., Giovinazzo G., Mearelli M., Ballerini M., Bevagna D., Costantini L., Dipatrizi M., Petesse M.L. (1991). Prime considerazioni sulle caratteristiche biologiche e morfologiche di *Salmo trutta* L. del bacino umbro del F. Nera. *Atti del IV Cong.naz. S.I.T.E.* Cosenza, 465-468.
- Olivari G., Brun G. (1988). Le nombre de caeca pyloriques dans les populations naturelles de truites communes, *Salmo trutta*, L. en corse. *Bull. Ecol.*, **19 (2-3)**: 197:200.
- Reist J. (1985). An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. *Can. J. Zool.*, 63: 1429-1439.
- Skaala (1987). Fine-spotted Brown trout (*Salmo trutta*): its phenotypic description and biochemical genetic variation. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 44: 31-35.
- Strauss R.E., Bookstein F.L. (1982). The truss: body for reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology*, 31 (2): 113-135.
- Van Utrecht, W.L. & Schenkkan, E.J.(1972): On the periodicity in the growth of scales vertebrae and other hard structures in a teleost. *Aquaculture*, 1: 293-316.
- Zerunian S., Gandolfi G. (1990). *Salmo fibreni* n. sp. (Osteichthyes, Salmonidae) endemica nel bacino del Fibreno (Italia centrale). *Riv. Idrobiol.*, 29: 521-532.



Analisi del polimorfismo genetico di trota fario (*Salmo trutta fario*) nell'ambito del "progetto Monterivoso" per il recupero del ceppo autoctono di trota fario nel bacino idrografico del Fiume Nera

F. PANARA, L. LUCENTINI

Dipartimento di Biologia Cellulare e Molecolare – Sezione Biologia Comparata
Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto - 06100 PERUGIA

Introduzione

La trota fario (*Salmo trutta trutta* L.) presenta un ampio range di distribuzione nell'ambito del quale sono riscontrabili differenti forme geografiche che mostrano, spesso, fenotipo differente. Esse sono state ricondotte ad un ceppo mediterraneo e ad uno atlantico, il primo dei quali si ritiene essere originariamente presente sulla nostra penisola (Bernatchez & Osinov, 1995) e attualmente soggetto a forte riduzione (Forneris et al., 1996). L'analisi genetica di alcune di queste forme ha condotto alcuni autori a ritenere che in Italia siano stati effettuati ripopolamenti anche con esemplari di provenienza atlantica (Giuffra et al., 1994). Queste osservazioni pongono il problema di un potenziale stravolgimento dell'assetto genetico delle popolazioni autoctone anche in relazione alla facilità di ibridazione dei salmonidi gli uni con gli altri (Gandolfi, 1999) e al loro assetto genico tetraploide (Johnson et al., 1987). Si ritiene che la concentrazione dei ripopolamenti nei corsi d'acqua principali possa aver favorito la conservazione di popolazioni autoctone in corsi d'acqua secondari "isolati" da barriere geografiche naturali e non (Ryman, 1991). Allo scopo di analizzare l'attuale assetto genetico della trota fario nel bacino del fiume Nera e nell'ottica di individuare popolazioni potenzialmente autoctone da cui ottenere riproduttori per operazioni di allevamento-ripopolamento, è stata intrapresa la presente ricerca volta a caratterizzare la popolazione del fiume Nera e di un suo affluente potenzialmente isolato (torrente Monterivoso). Allo scopo di valutare l'eventuale presenza di esemplari alloctoni, le analisi sono state condotte anche su esemplari di sicura appartenenza al ceppo atlantico.

L'analisi di diversità genetica può essere condotta mediante diverse categorie di marcatori molecolari (Herbinger et al., 1996; Miller & Kapucinski, 1996); nella presente ricerca si è scelto di utilizzare i microsattelliti, marcatori molecolari particolarmente versatili e fonte di interessanti informazioni. Essi possiedono tutti i requisiti necessari per poter essere degli ottimi marcatori molecolari; essi sono infatti presenti in un unico punto lungo il genoma, variano tra individui/popolazioni sufficientemente da poter considerare il loro pattern di espressione un buono strumento di discriminazione fra taxa o popolazioni o altri gruppi, possono essere o non essere parte di un gene e in ogni caso sono codominanti e in base a questa loro caratteristica consentono la discriminazione delle differenze tra individui a livello allelico. In base a queste loro caratteristiche, essi consentono di effettuare studi di tracciabilità del prodotto.

Questa particolare categoria di marcatori molecolari è estremamente adatta per studi di biodiversità di specie animali in quanto consente di mantenere tutte le informazioni inerenti la diploidia, tetraploidia nel caso dei salmonidi, e quindi di analizzare separatamente i singoli alleli posseduti da ogni singolo esemplare. Poiché, ovviamente, non tutti i loci polimorfici rilevano una uguale distanza genetica fra le popolazioni, è necessario analizzare più loci microsattellitari in modo da rendere più omogeneo e affidabile

il risultato ottenuto.

Materiali e Metodi

Nella presente ricerca si è dunque affrontata la valutazione della diversità genetica della trota fario mediante microsatelliti fra popolazioni naturali (fiume Nera e torrente Monterivoso), popolazioni di sicuro ceppo atlantico (Belgio, Scozia, Irlanda) e alcune trotelle stabulate presso il laboratorio di Terria della Provincia di Terni e ottenuti da riproduttori originari del torrente Monterivoso. L'analisi genetica è stata condotta su DNA genomico estratto da lembo di pinna caudale allo scopo di minimizzare l'impatto dei prelievi sulle popolazioni naturali. Sono stati campionati 125 esemplari di cui 32 del fiume Nera, 25 del torrente Monterivoso, 25 del laboratorio di Terria e 43 di sicuro ceppo Atlantico; di questi ultimi ne sono stati selezionati 25 aventi materiale genetico di migliore qualità.

L'estrazione del DNA genomico è stata condotta mediante Wizard Genomic DNA Purification Kit® (Promega) su 10mg del lembo distale della pinna caudale conservati in alcool 96° a -20°C subito dopo l'asportazione. Il DNA opportunamente risospeso è stato conservato a -20°C e sottoposto a controllo preliminare della qualità e quantità del materiale estratto mediante sia corsa elettroforetica su gel di agarosio 1% sia lettura spettrofotometrica 260/280 nm. Sulla base di quest'ultima si è provveduto al calcolo dell'indice di purezza e a calcolare la concentrazione, espressa come µg/µl, del DNA estratto

L'analisi della qualità e quantità di DNA presente nelle soluzioni stock ha consentito inoltre di selezionare **77** esemplari effettivamente utilizzati per l'analisi di biodiversità, di cui 20 del fiume Nera, 20 del torrente Monterivoso, 19 del laboratorio di Terria e 18 di ceppo Atlantico.

Per ottenere un pattern di diversità ben articolato, nella presente ricerca l'analisi dei microsatelliti è stata condotta utilizzando cinque coppie di primer già selezionati per la trota fario. Ogni coppia di primer amplifica un'unica, o al massimo due, sequenze microsatelliti (Estoup *et al.*, 1993; Estoup *et al.*, 1998). Le coppie di primer utilizzate sono quelle riportate nella tabella 1:

Locus	Temp. di annealing	Alleli osservati	Dimensioni locus (bp)	Sequenza ripetuta	Sequenza dei primer
Str85INRA	55°C	19	146-200	CT	5'-GGAAGGAAGGGAGAAAGGT-3' 5'-GGAAAATCAATACTAACA-3'
Str543INRA	55°C	24	119-169	CT	5'-ATTCTTCGGCTTTCTCTTGC-3' 5'-ATCTGGTCAGTTTCTTTATG-3'
Str591INRA	55°C	22	146-198	CT	5'-CTGGTGGCAGGATTTGA-3' 5'-CACTGTCTTTCGTTCTT-3'
Strutta 58	56°C	38	102-190	GT	5'-AACAAATGACTTTCTCTGAC-3 5'-AAGGACTTGAAGGACGAC-3'
Strutta 12	56°C	28	124-216	GT	5'-AATCTCAAATCGATCAGAAG-3' 5'-AGCTATTTTCAGACATCACC-3'

Tab.1 - Loci microsatellite analizzati

La reazione di amplificazione PCR (polymerase chain reaction) è stata condotta come indicato da Estoup et al. (1996) in termociclatore Tpersonal (Biometra) utilizzando 20 µl di mix (2.5 µl Taq-Buffer 10x; 2.0 µl dNTP 2,5mM each; 0,2 µl P1; 0,2 µl P2; 1U Taq-polimerasi (Amersham Pharmacia), acqua deionizzata sterile a volume) e 5 µl di DNA opportunamente diluito (5ng/µl). L'amplificazione è stata condotta mediante programma standard (94°C 3', 35 cicli: 94°C 30", Tem. Ann. 30", 72°C 30"; 72°C 10'). I prodotti di PCR sono stati frazionati mediante elettroforesi su agarosio 2.2 % per 5 minuti a 130 V e 120 minuti a 90 V e visualizzati mediante Bromuro di Etidio (EtBr) con luce ultravioletta. Per la determinazione della lunghezza, espressa in bp, delle diverse varianti alleliche dei loci microsatellite analizzati, si è provveduto ad effettuare delle curve di taratura basate sulla corsa elettroforetica contemporanea di opportuno ladder (100bp BioLabs). I gel sono stati fotografati e sottoposti a lettura densitometrica e manuale per la valutazione delle bande presenti. Lettura e decodificazione dei dati sono state basate sulla trasformazione dei dati nel codice binario 1- banda presente e 0 - banda assente. L'analisi statistica è stata articolata in una cluster analysis per la realizzazione di un cluster basato sulla matrice delle distanze genetiche fra gli esemplari e sul calcolo degli indici di eterozigosità e diversità (Nei & Li, 1979). È stata inoltre condotta un'analisi discriminata su base geografica considerando tutti i risultati relativi alle quattro popolazioni analizzate. È stato prodotto uno scatterplot dei punteggi canonici per la coppia di funzioni discriminanti (radici canoniche) R1/R3. Questo grafico è molto utile per determinare come ogni funzione discriminante contribuisce alla discriminazione tra gruppi e soprattutto per verificare, nel nostro caso, il livello di separazione tra le popolazioni.

Risultati ottenuti

Per ogni coppia di primer e per ogni popolazione è stata effettuata una corsa elettroforetica che, come già detto, è stata fotografata e analizzata al computer. La figura 1 mostra un esempio di corsa elettroforetica di un amplificato microsatellite per il primer Strutta12.



Fig.1 - Esempio di pattern microsatellite ottenuto per il locus Strutta12

In totale sono state individuate **25** bande polimorfiche riportate in tabella 2 per ogni singolo locus microsatellite.

locus	Numero di bande polimorfiche
Str85INRA	7
Str591INRA	4
Str543INRA	3
Strutta58	7
Strutta12	4

Tab.2 - Numero di bande polimorfiche ottenute per ogni locus microsatellite

È stato inoltre possibile individuare, per ogni banda polimorfica, la sua presenza o assenza nelle quattro popolazioni analizzate e per ognuna è stato calcolato l'indice di diversità genica indicato da Nei e Li (1979), misura indiretta della diversità genetica tra le diverse popolazioni (tabella 3):

Indice di diversità di Nei				
	nera	Monterivoso	laboratorio	atlantiche
DI globale	0,84	0,86	0,75	0,73

Tab.3 - Indice di diversità di Nei e Li (1979) calcolato per le quattro popolazioni

Sulla base dei dati raccolti è stato condotta un'analisi dei cluster che ha consentito di costruire un dendrogramma che mostra il raggruppamento esistente fra gli individui delle differenti popolazioni. Il dendrogramma è riportato in figura 2.

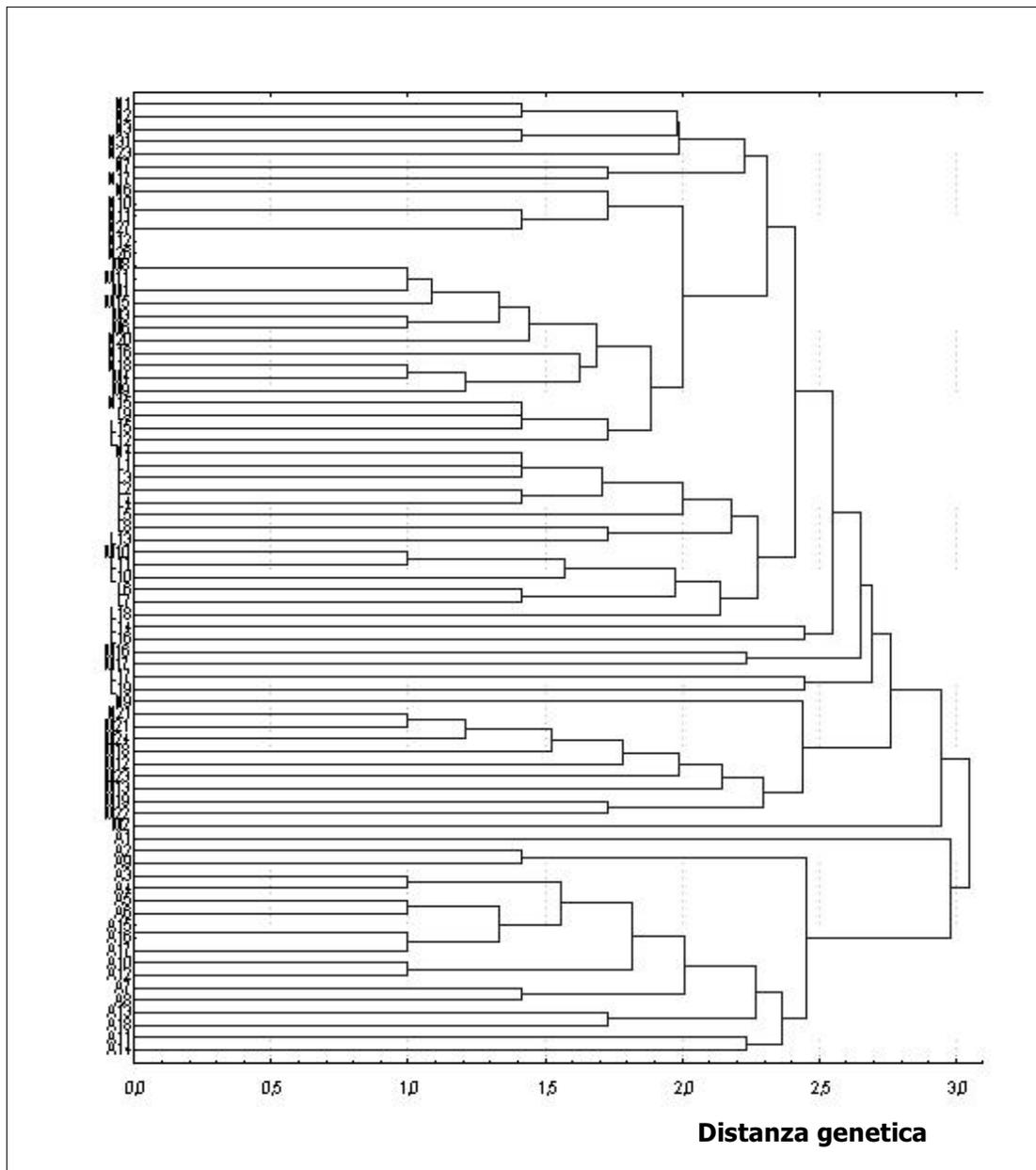


Fig. 2 - Dendrogramma ottenuto per la totalità dei campioni analizzati

Lo scatterplot riportato in figura 3 conferma quanto già visto con l'analisi dei cluster e mostra come la popolazione di ceppo atlantico si discosti sostanzialmente dalle altre, quelle del laboratorio e del torrente Monterivoso siano quasi sovrapposte e quella del fiume Nera abbia solo alcuni esemplari in comune con le altre due.

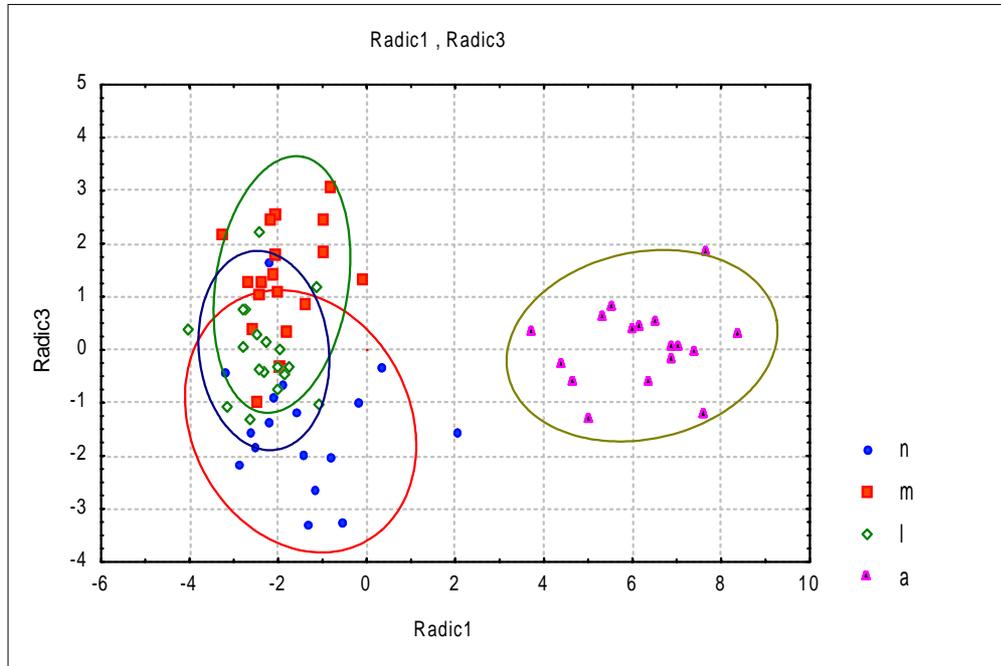


Fig.3 - Segregazione dei campioni su base geografica

Allo scopo di selezionare i primer con maggiore potere discriminante, abbiamo calcolato il valore medio dei p-level degli alleli locus per locus (tabella 4).

str85INRA	0,29
str591INRA	0,47
str543INRA	0,53
strutta58	0,34
strutta12	0,15

Tab.4 - P-level dei loci analizzati

Tali risultati mostrano che per il locus Str543INRA sia uno soltanto l'allele polimorfico discriminante e che in media questo primer da solo non consente di discriminare le popolazioni in esame. I loci Str85INRA e Strutta12 consentono di discriminare la popolazione del fiume Nera dalle altre locali. Per questo primer, infatti, tutte le popolazioni presentano un pattern allelico caratteristico con la presenza di due bande di grosse dimensioni (600 e 800 bp) quasi certamente aspecifiche e non riferibili a microsatelliti. La popolazione del fiume Nera presenta, oltre alle suddette bande, anche altre due a dimensione ancora maggiore (1000 e 1100 bp) che la contraddistinguono chiaramente dalle altre.

Conclusioni

I risultati ottenuti possono essere riassunti brevemente come segue:

- La ricerca ha consentito di mettere a punto una tecnica particolarmente utile per lo studio delle risorse genetiche nel campo dell'itticoltura che potrà essere messa a frutto anche in altre indagini con le stesse finalità. Tale tecnica consente infatti di estrarre il DNA genomico in modo estremamente rapido, senza danneggiare il pesce ed è quindi compatibile anche con i canoni di salvaguardia e conservazione degli organismi viventi.
- Tutti i primer microsatelliti individuati forniscono informazioni valide per la valutazione della diversità genetica fra le popolazioni di trota fario studiate.
- Tutti i microsatelliti analizzati presentano un buon grado di polimorfismo sia a livello globale sia a livello delle popolazioni esaminate.
- Le bande polimorfiche individuate confermano quanto riportato in letteratura circa la tetraploidia dei salmonidi, in particolare della trota fario.
- I dati grezzi, ma soprattutto l'analisi della diversità genetica mediante indici appositi, consentono di evidenziare come il gruppo dei campioni di ceppo atlantico si discosti sostanzialmente dagli altri e presenti il massimo livello di omogeneità.
- Il gruppo delle trote dell'allevamento di Terria mostra un'omogeneità piuttosto elevata, anche se sono evidentemente presenti alcuni esemplari differenti dagli altri, ma sempre riconducibili al ceppo del torrente Monterivoso.
- Gli esemplari del torrente Monterivoso mostrano un'elevata DI (la più alta fra quelle riscontrate) e, in modo particolare spicca la presenza di esemplari differenti dal resto del gruppo. Globalmente il campione di Monterivoso è quello con una più alta diversità genetica e co-esistenza di esemplari piuttosto differenti fra loro.
- L'analisi dei cluster conferma decisamente quanto appena esposto, evidenziando un'alta omologia per i campioni di ceppo atlantico, una bassissima omologia per quelli di Monterivoso che segregano con quelli del laboratorio, ma in parte anche con il gruppo del fiume Nera.
- La globalità dei dati ottenuti conferma che le tre popolazioni locali analizzate sono tra loro differenziate, pur permanendo alcuni esemplari con genotipo che si sovrappone.
- Il torrente Monterivoso presenta circa il 60% di esemplari aventi un genotipo tipico di questo corso d'acqua e che lo rende particolarmente interessante. Si può escludere decisamente l'appartenenza delle trote del torrente di Monterivoso al ceppo Atlantico.

Conclusioni a fini gestionali

- La popolazione del torrente Monterivoso si presenta con caratteristiche di specificità e quindi può essere utilizzata come risorsa genetica ai fini di un progetto di riproduzione, allevamento e ripopolamento del bacino del Fiume Nera.
- Anche le trote del laboratorio di Terria possono essere utilizzate quali riproduttori purché, date le limitate dimensioni della popolazione, si provveda periodicamente al controllo genotipico degli esemplari e ad un rinnovamento della popolazione con nuovi riproduttori. A questo proposito si ritiene che circa il 20% dei riproduttori debba essere annualmente rinnovato. I nuovi riproduttori possono essere prelevati dal torrente Monterivoso e per questi si consiglia la caratterizzazione genetica al fine di immettere nell'allevamento sperimentale genotipi differenti da quelli presenti.
- Si auspica l'opportunità di un controllo dei riproduttori annualmente impiegati, al fine di conoscerne la provenienza, le caratteristiche morfologiche e genetiche.
- Si ritiene opportuno sfruttare la versatilità e affidabilità delle metodiche messe a punto per completare il monitoraggio delle popolazioni eventualmente presenti in luoghi a bas-

sissima accessibilità e situati nel suddetto bacino.

· Le metodiche molecolari messe a punto nella ricerca consentono, infine, di effettuare studi di tracciabilità del prodotto anche allo scopo di una certificazione d'origine.

Bibliografia

Bernatchez, L. & Osinov, A. (1995). Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Mol. Ecol.*, 4, 285-297.

Estoup, A., C. R. Largiadèr, E. Perrot and D. Chourrout (1996). Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 5: 295-298.

Estoup, A., P. Presa-Martinez, F. Krieg, D. Vaiman and R. Guyomard (1993). (CT)_n and (GT)_n microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout). *Heredity* 71: 488-496.

Estoup, A., F. Rousset, Y. Michalakis, J. M. Cornuet, M. Adriamanga and R. Guyomard (1998). Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: A case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Molec. Ecol.* 7 (3): 339-353.

Forneris G., Pascale M., Sicuro B., Palmegiano G.B. (1996). Analisi biometrica di tre popolazioni di *Salmo (trutta) trutta* L. di ceppo mediterraneo: esperienze gestionali a confronto. Reggio Emilia

Gandolfi G., 1999. problemi aperti sulla tassonomia delle trote italiane. In Ielli F.: La trota fario, *Salmo (trutta)trutta* L. di ceppo mediterraneo: esperienze gestionali a confronto. Reggio Emilia pp.65-98

Giuffra, E., Bernatchez, L. e Guyomard (1994). Mitochondrial control region and protein coding genes sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *Molecular Ecology* 3 : 161-171.

Johnson, K. R., J. E. J. Wright and B. May (1987). Linkage relationships reflecting ancestral tetraploidy in salmonid fish. *Genetics* 116 (4): 579-592.

Herbinger C.M., Doyle R.W., Pitman E.R., Paquet D., Mesa K., Morris D.B., Wright J.M., Cook D. (1996). DNA fingerprinting based analysis of paternal and maternal effects of growth and survival in communally reared rainbow trout. *Aquaculture*. 137: 245-256

Miller L.M., Kapucinski A.R. (1996). Microsatellite DNA markers reveal new levels of genetic variation in northern pike. *Trans. Am. Fish. Soc.* 125:971-977

Nei M., Li W.H. (1979). Mathematical models for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76:5269-5273

Ryman N. (1991). Conservation genetics considerations in fisheries management. *J. Fish. Biol.* 39:211-224

Marcatori molecolari per la gestione e la conservazione di popolazioni appenniniche di trota fario

F. NONNIS MARZANO¹, J. TAGLIAVINI¹, D. CHIESA¹, M. PASCALE², G. GANDOLFI¹

¹ Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma. Parco Area delle Scienze 11/A – 43100 Parma

² Via Città di Traunstein 8 – 10064 Pinerolo (To)

Introduzione

La diminuzione della fauna ittica nei corsi d'acqua appenninici e, in certi casi e per certe specie, addirittura la scomparsa di intere popolazioni, è in gran parte dovuta a modificazioni delle caratteristiche ambientali e alla forte pressione esercitata dall'esercizio alieutico. Ciò ha comportato, soprattutto per quanto riguarda i salmonidi, la necessità di sviluppare azioni di ripopolamento che sono state condotte, per un lungo periodo di tempo, impiegando principalmente soggetti "domestici" prevalentemente di origine Nord-Europea, selezionati in allevamento sulla base di caratteristiche morfologiche quali dimensione e livrea. Questa pratica rappresenta un fattore di rischio per la sopravvivenza degli individui autoctoni, in relazione a fenomeni di competizione trofica e ibridizzazione (Largiader e Scholl, 1996) che si instaurano tra i diversi ceppi (atlantici e mediterranei).

Recentemente una maggior coscienza naturalistica e nuove esperienze scientifiche hanno permesso di intraprendere il ripopolamento di bacini naturali con progenie ottenuta in incubatoi di valle da riproduttori autoctoni locali, nel tentativo di conservare le caratteristiche peculiari delle popolazioni di un particolare areale. Tuttavia, anche se meritoria dal punto di vista formale, questa pratica non può garantire in assoluto il mantenimento della biodiversità caratteristica del bacino e della variabilità genetica presente nella specie. Infatti la scelta dei riproduttori è spesso limitata ad un numero esiguo di esemplari ed avviene il più delle volte sulla base delle sole caratteristiche fenotipiche. Allo stesso modo, l'impiego di riproduttori o di novellame non autoctoni conduce alla comparsa di "alleli non indigeni" che possono competere e addirittura sostituire quelli selvatici.

Il rilevamento ed il mantenimento della diversità genetica presente nelle popolazioni attuali, soprattutto in quelle residenti in bacini che mantengono buone caratteristiche di naturalità, devono essere gli obiettivi primari di tutti gli interventi di conservazione e costituiscono anche gli obiettivi principali della presente ricerca. A tal scopo è stato profuso un non trascurabile sforzo nell'identificare marcatori genetici in grado di descrivere popolazioni di "trota di torrente" e tipizzare i singoli soggetti da utilizzare in pratiche di fecondazione artificiale. In questo lavoro sono presentati due differenti approcci genetici, uno basato sull'analisi dei sistemi gene-enzima (Guyomard, 1989; Giuffra et al., 1994) e l'altro sul DNA mitocondriale (Patarnello et al., 1994), in grado di fornire utili indicazioni per la caratterizzazione e la salvaguardia delle popolazioni naturali di *Salmo trutta* (Gandolfi et al., 1991).

Area di studio ed esemplari analizzati

I campionamenti sono stati effettuati nel periodo marzo 2000 e luglio 2002 in stazioni di particolare pregio alieutico o naturalistico delle Provincie di Parma, Piacenza, Genova, La Spezia, Massa Carrara e Lucca. Sono stati altresì analizzati campioni provenienti da bacini naturali della Sardegna tipizzati morfologicamente come fenotipo "macrostigma" (Gandolfi et al., 1991) e considerati quindi come esemplari di riferimento della trota medi-

terranea (Fig. 1). Sono stati analizzati anche alcuni esemplari allevati nell'incubatoio di Monchio (Valcedra, Parma) ed altri, selezionati su base morfologica, utilizzati per le spremiture nell'incubatoio di Chiusola (La Spezia). In Tab. 1 è riportato il quadro completo dei campionamenti effettuati.

Gli esemplari campionati sono stati in parte sacrificati e conservati -80°C sino al momento dell'analisi, oppure, per siti di particolare pregio, con popolazioni numericamente piuttosto ridotte, è stato effettuato il prelievo non invasivo di un frammento di pinna adiposa con rilascio degli animali negli stessi punti di campionamento. Complessivamente sono state condotte analisi morfologiche e molecolari su circa 300 esemplari di trote appartenenti al complesso *Salmo trutta* prelevati in gran parte mediante pesca elettrica.



Fig. 1 - Esemplare di trota fario appartenente al ceppo mediterraneo *Salmo trutta macrostigma* sulla base dell'analisi di proteine e mtDNA

Metodologie genetiche

L'identificazione dei polimorfismi genetici per la caratterizzazione di singoli esemplari e popolazioni è stata eseguita mediante analisi di proteine (sistemi gene-enzima o iso/allozimi) e DNA mitocondriale (16S rDNA), impiegando per quest'ultimo tecniche basate sull'amplificazione con PCR (reazione di polimerizzazione a catena del DNA) secondo quanto proposto da Mullis et al. (1986). Mentre la ricerca di varianti isoenzimatiche necessita di campioni di tessuti freschi o conservati a basse temperature (-80°C) e presenta vantaggi per quanto riguarda l'economicità delle tecniche impiegate, le analisi su preparati di DNA possono essere condotte anche su reperti molto piccoli (ottenibili dagli animali in modo non invasivo) conservati per lungo tempo in alcol etilico a T° ambiente.

Le analisi sulla variabilità biochimica hanno riguardato lo studio di 19 sistemi gene-enzima codificati in 33 loci, di cui soltanto due sono risultati polimorfici nei tessuti muscolare ed epatico. I due sistemi variabili della fumarasi (Fum) e della lattico deidrogenasi (Ldh) hanno consentito quindi di differenziare le diverse popolazioni sulla base delle diverse frequenze alleliche (Tab. 1 e Fig. 2).

Oltre ai sistemi gene-enzima esistono altri marcatori molecolari che consentono l'identificazione tassonomica dei diversi esemplari. Per quanto riguarda *S. trutta*, sono stati osservati polimorfismi mitocondriali che consentono di discriminare ceppi d'origine mediterranea di morfotipo *macrostigma* da *S. trutta trutta* di ceppo atlantico. Fra questi il polimorfismo di restrizione (RFLP) *Rsa*I, rilevato in una sequenza del gene 16S rDNA amplificabile mediante PCR, consente una economica e sicura tipizzazione mitocondriale operando su campioni animali anche piuttosto degradati (Fig. 3).

La tipizzazione mitocondriale tuttavia è informativa solamente per quanto riguarda l'origine materna dei soggetti analizzati. La trasmissione matrilineare del genoma

mitocondriale non consente infatti di identificare con certezza il ceppo di appartenenza. In altre parole, una trota con genoma mitocondriale di tipo mediterraneo potrebbe essere una forma "mediterranea pura" oppure derivare da un ceppo generato da una linea femminile mediterranea e da maschi atlantici. Quest'ultimo aspetto è decisamente comune nelle tipologie ambientali oggetto di questo studio e da esso deriva l'ampia variabilità fenotipica della trota appenninica, indicativa di frequenti fenomeni di ibridazione.

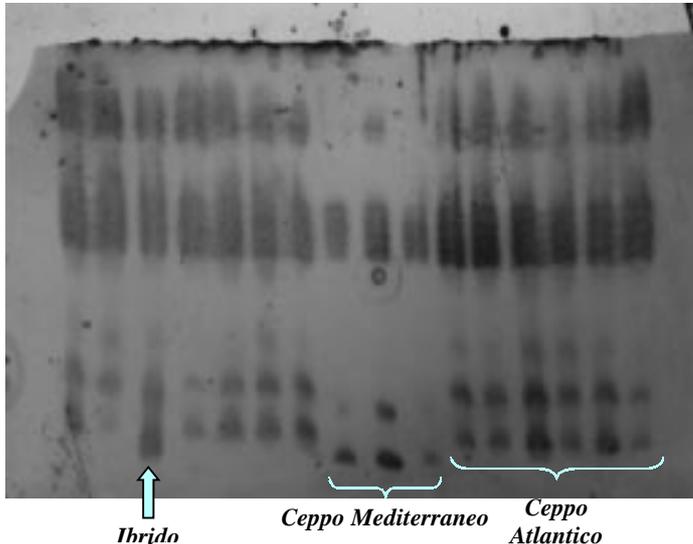


Figura 2. Analisi elettroforetica del sistema della lattico deidrogenasi. Identificazione di esemplari Atlantici e Mediterranei in base alla differente migrazione allelica espressa dal locus LDH-5 nell'occhio

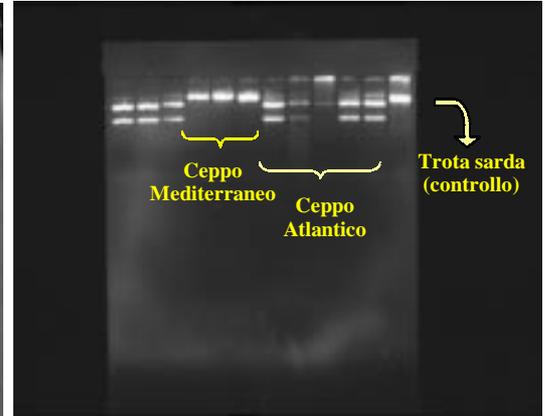


Figura 3. Genotipi atlantici (2 bande) e mediterranei (1 banda) evidenziati mediante restrizione del gene mitocondriale 16S DNA

Risultati e discussione

L'analisi di 19 sistemi gene-enzima codificati in 33 loci ha permesso di identificare polimorfismi allelici in grado di differenziare le diverse popolazioni. I livelli di variabilità genetica determinati sono risultati estremamente bassi: la percentuale di loci allozimici polimorfici (P) è stata del 3-6%, mentre l'eterozigosità media (H) è risultata nel range 0,38-1,42%. Tali risultati si discostano notevolmente dai valori descritti per altre popolazioni Europee di *Salmo trutta trutta* (P=18-25% e H=5-9%; Skaala, 1992; Garcia Marin et al., 1999) e in generale per i teleostei (P=20% e H=5%), configurando un quadro preoccupante, dal punto di vista conservazionistico, di bassa biodiversità intrapopolazionistica. Tale aspetto è certamente di rilievo in considerazione del fatto che altri autori hanno descritto la trota fario come uno dei taxa a più alta variabilità genetica nell'ambito dei vertebrati (Ferguson e Taggart, 1991).

Nel versante appenninico padano, spesso, le frequenze alleliche dei due loci polimorfici (FUM e LDH-5) rispecchiano con estrema fedeltà i valori rilevati negli esemplari degli incubatoi preposti ai ripopolamenti. E' quindi possibile affermare che le pratiche di riproduzione artificiale ed i ripopolamenti con materiale prodotto in incubatoio da riproduttori locali, se da un lato garantiscono il mantenimento delle caratteristiche locali della popolazione, da un altro creano situazioni di deriva genetica, configurabili essenzialmente nel cosiddetto "effetto del fondatore", cioè nella perdita di variabilità genetica conseguente all'immissione di esemplari geneticamente molto simili in quanto ottenuti da un esiguo numero di riproduttori. Gli alti livelli di consanguineità possono quindi condurre la

popolazione verso fenomeni di "depressione da inincrocio" che si manifestano con scarso accrescimento degli individui, taglie ridotte al raggiungimento della maturità sessuale, scarso potenziale riproduttivo, nonché maggiore predisposizione a patologie.

Relativamente all'inquadramento tassonomico dei diversi esemplari interessante è stata la conferma di quanto già evidenziato da Guyomard (1989), in una ricerca condotta su alcuni ceppi di *Salmo trutta trutta* di bacini mediterranei, circa il diverso comportamento elettroforetico di due alleli della lattico deidrogenasi espressi nel tessuto dell'occhio. I due alleli, uno a minor velocità di migrazione (LDH-5* 100: ceppo atlantico) e l'altro a maggior velocità (LDH-5* 105: ceppo mediterraneo) sono stati entrambi identificati nei campioni da noi studiati (Fig. 2). Utilizzando questo marcatore è stata quindi determinata la frequenza di genotipi mediterranei (Tab. 1) in quei torrenti nei quali i campionamenti avevano consentito il sacrificio di alcuni animali (l'analisi è purtroppo letale e per tale motivo non è stata eseguita su tutti gli esemplari campionati). La validità di questo approccio è confermata dalla totale assenza di genotipi mediterranei nel Lago Santo Parmense, nel tratto di Parma di Francia localizzato all'interno della riserva delle Guadine Pradaccio, nel Lago Moo (Pc) e nella Riserva Orientata delle Agoraie (Lago degli Abeti, Ge). In questi ambienti infatti le trote, immesse in tempi più o meno recenti, sono di grosse dimensioni e di fenotipo caratteristicamente Atlantico.

Sempre a livello di indagine tassonomica, l'analisi di restrizione di una regione del gene ribosomale mitocondriale 16S, suggerita da alcuni autori (Patarnello et al., 1994) come diagnostica per quanto riguarda l'origine atlantica o mediterranea dei campioni, consente di ottenere notizie sulla storia mitocondriale di un soggetto in modo abbastanza rapido ed economico. La Figura 3 illustra il polimorfismo caratteristico osservabile con digestione della regione del gene con l'enzima *RsaI*.

La tipizzazione mitocondriale è però risultata spesso discordante rispetto alla caratterizzazione ottenuta con il marcatore biochimico descritto in precedenza. Un certo numero di esemplari caratterizzati come Atlantici dall'analisi del gene LDH-5 sono invece risultati Mediterranei dopo restrizione del genoma mitocondriale. Ciò è riferibile essenzialmente al problema della trasmissione matrilineare del genoma mitocondriale, in parte indipendente dalla trasmissione dei geni nucleari. Un evento di ibridazione occasionale fra i due diversi tipi all'interno di una popolazione può dar luogo a discendenze mitocondriali che si mantengono anche dopo molte generazioni (introgressione). Per questa ragione, l'analisi mitocondriale identifica spesso circa un 10 - 30% di aplotipi (genotipi mitocondriali) per i quali il risultato non concorda con quello isoenzimatico (nucleare).

Questo marcatore è comunque un utile strumento per la rapida e non letale identificazione di trote da avviare alla fase di spremitura, già selezionate sulla base di alcuni caratteri morfologici. A tal riguardo un recente esperimento condotto nell'incubatoio di Chiusola (Sp) utilizzando questo marcatore ha consentito l'identificazione pre-spremitura del 100% di esemplari mediterranei previamente selezionati anche su base morfologica.

Parallelamente all'analisi di esemplari del versante appenninco adriatico, è stata condotta una prima indagine informativa su popolazioni di alcuni bacini tirrenici. Nei bacini dei fiumi Magra, Vara e Serchio, nonostante il limitato numero di campioni analizzati, le frequenze dei genotipi e degli aplotipi mediterranei sono risultate decisamente superiori (Ldh-5: 50-71%; RFLP 16S: 86-100%) rispetto a quelle del versante padano (Ldh-5: 0-45%; RFLP 16S: 20-67%). In generale è quindi possibile affermare che le popolazioni Appenniniche del versante padano si presentano come gruppi misti di trote appartenenti ad entrambi i ceppi con notevole preponderanza di genotipi atlantici e presenza per lo più sporadica di forme mediterranee strettamente dipendenti dalla selezione eseguita in incubatoio. Differente appare la situazione nei bacini tirrenici dove alcune popolazioni

risultano ancora ben conservate e meritevoli di attenzione e tutela.

Area di Campionamento	Bacino	(n)	H %	P %	% Medit. LDH-5	% Medit. RFLP 6S
<i>Ardana (Pc)</i>	Nure	14	0,9	6	22	-
<i>Nure (Pc)</i>	Nure	12	1,1	6	16	-
<i>Lago Moo (Pc)</i>	Nure	15	-	-	0	-
<i>Bratica (Pr)</i>	Enza	21	0,6	6	33	-
<i>Canalaccio (Pr)</i>	Enza	12	1,0	6	25	-
<i>Cedra (Pr)</i>	Enza	23	1,0	6	45	67
<i>Incubatoio Monchio (Pr)</i>	Enza	10	1,4	6	30	40
<i>Enza (Pr)</i>	Enza	15	-	-	-	73*
<i>Parma Badignana (Pr)</i>	Parma	10	1,4	6	20	20
<i>Parma di Francia (Pr)</i>	Parma	9	1,0	3	0	29
<i>Lago Santo Parmense (Pr)</i>	Parma	8	0,4	3	0	-
<i>Lecora (Pr)</i>	Taro	9	-	-	-	89*
<i>Taro (Pr)</i>	Taro	20	-	-	-	45
<i>Lago degli Abeti (Ge)</i>	Trebbia	11	-	-	0	27
<i>Aveto (Ge)</i>	Trebbia	4	-	-	-	75*
<i>Canossilla (Ms)</i>	Magra	8	-	-	50	-
<i>Oasca (Ms)</i>	Magra	4	-	-	50	-
<i>Vara (Sp)</i>	Vara	5	-	-	-	100
<i>Crovana (Sp)</i>	Vara	7	-	-	71	86
<i>Incubatoio Chiusola (Sp)</i>	Vara	10	-	-	-	100*
<i>Corsonna (Lu)</i>	Serchio	9	-	-	-	100
<i>Fegana (Lu)</i>	Serchio	9	-	-	-	89

Tab. 1 - Variabilità genetica rilevata mediante marcatori allozimici e RFLP: n=numero esemplari; H = eterozigosità media nella popolazione; P = percentuale di loci polimorfici nella popolazione. E' inoltre riportata la percentuale di esemplari mediterranei identificati con i due marcatori LDH-5 e 16S rDNA. (*) esemplari selezionati su base morfologica

Bibliografia

- FERGUSON A., TAGGART J.B. (1991). Genetic differentiation among sympatric brown trout (*Salmo trutta*) populations of Lough Melvin, Ireland. *Biol. J. Linn. Soc.* 43, 221-237.
- GANDOLFI et al. (1991). Salmonidi. In: *I pesci delle acque interne italiane*. Unione Zoologica Italiana. Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, Roma: 280-292.
- GARCIA-MARIN et al. (1999). Postglacial colonization of brown trout in Europe based on distribution of allozyme variants. *Heredity* 82: 46-56.
- GIUFFRIA et al. (1994). Mitochondrial control region and protein coding genes sequence variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *Mol. Ecol.* 3: 161-171.
- GUYOMARD R. (1989). Diversité génétique de la truite commune. *Bull. Fr. Peche Piscic.* 314: 118-135.
- LARGIADÈR C.R., SCHOLL A. (1996). Genetic introgression between native and introduced brown trout *Salmo trutta* L. populations in the Rhone river basin. *Mol. Ecol.* 5: 417-426.

- MULLIS K. et al. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 51: 263-273.
- PATARNELLO et al. (1994). Cyt b and 16S rDNA sequence variation in the *Salmo trutta* species complex. *Mol. Phylogenet. Evol.* 3: 69-74.
- SKAALA O. (1992). Genetic population structure of Norwegian brown trout. *J.Fish Biol.* 41: 631-646.

Ringraziamenti

La ricerca è stata possibile grazie a finanziamenti erogati dall'Amministrazione Provinciale di Parma, Servizio "Risorse Naturali, Fauna Selvatica ed Ittica"; dalla Comunità Montana delle Valli del Taro e del Ceno e dall'Amministrazione Provinciale di La Spezia, Sezione "Faunistica".

La gestione delle popolazioni autoctone di salmonidi in alcuni bacini idrografici dell'Appennino settentrionale

M. PASCALE¹, F. NONNIS MARZANO²

¹Via Città di Traunstein 8 – 10064 Pinerolo (To)

²Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma. Parco Area delle Scienze 11/A – 43100 Parma

Introduzione

Il recupero delle popolazioni autoctone di salmonidi e, più in generale, di tutte le forme autoctone, costituisce uno degli obiettivi fondamentali nella moderna gestione della fauna. Alcune pubbliche amministrazioni hanno intrapreso programmi di recupero dei ceppi autoctoni di trota (fario, marmorata o macrostigma) riguardanti importanti bacini idrografici della penisola italiana.

Per quanto riguarda l'area appenninica centro-settentrionale, è stata più volte evidenziata la necessità di tutela e potenziamento della forma salmonicola originaria (trota fario di ceppo mediterraneo/trota macrostigma), messa a rischio a causa dell'immissione di soggetti di provenienza allevativa e di origine nord europea, interfecondi con i soggetti autoctoni.

Il riconoscimento, nell'ambito delle comunità di *Salmo (trutta) trutta* di popolazioni autoctone ed altre introdotte (ceppo "atlantico"), deriva originariamente da osservazioni compiute nell'ambito della realizzazione della Carta Ittica relativa al Territorio della Regione Piemontese (1991), che evidenziavano, nell'ambito delle popolazioni di trota fario presenti in alcuni corsi d'acqua della provincia di Torino e di Cuneo, la presenza di soggetti con due fenotipi molto diversi, attribuendo a quelli con un fenotipo particolare, caratterizzato da fitta puntinatura rossa a macchie piccole, lo "status" di trote fario autoctone. Indagini successive condotte con confronti su base morfometrica e meristica (Forneris et al., 1996) e genetica (Giuffra et al., 1996) su soggetti provenienti da corsi d'acqua italiani, messi a confronto con popolazioni dell'area europea, hanno "riconosciuto" quanto osservato su campo, confermando la presenza di popolazioni di *Salmo (trutta) trutta* appartenenti a due "ceppi": un ceppo mediterraneo ed uno atlantico, il primo originario della penisola italiana, il secondo introdotto con le immissioni a scopo di ripopolamento. Per molti dei caratteri esaminati, il ceppo mediterraneo presenta maggiori affinità con *Salmo (trutta) macrostigma* che con il ceppo atlantico, tanto da far considerare le popolazioni di trota fario di ceppo mediterraneo popolazioni di trota macrostigma.

L'individuazione di popolazioni autoctone di trota fario ha permesso d'intraprendere programmi specifici con l'obiettivo di potenziare le popolazioni esistenti e, ove possibile, ricostituire comunità autoriproducendosi nei corsi d'acqua dove la forma autoctona, per varie cause, è risultata scomparsa.

Un valido supporto in tal senso è derivato dall'attivazione degli "incubatoi di valle" (Forneris, 1991), piccoli centri di produzione ittigenica, situati strategicamente sui principali bacini e sottobacini facenti capo ai reticoli idrografici provinciali. Queste strutture, limitate in una prima fase alle province di Torino, Trento e Bolzano, in una fase successiva sono state adottate anche da altre amministrazioni provinciali, in virtù della loro efficacia e dei loro modesti costi di esercizio. Negli incubatoi di valle viene svolto il recupero ed il potenziamento delle popolazioni locali di salmonidi (trota fario, trota marmorata, trota macrostigma), lavorando in ambiti territoriali ridotti (il singolo corso d'acqua od al massimo il bacino imbrifero) ed a livello di singole popolazioni. L'incubatoio di valle, nella sua accezione originaria e

più valida, viene gestito dai pescatori, sotto il controllo dell'amministrazione pubblica e dei suoi tecnici. Oltre alla sua funzione precipua, gestionale, acquisisce un importante ruolo formativo nei confronti dei pescatori, li responsabilizza e li rende i principali protagonisti nell'attività gestionale.



Trota fario. Individuo di ceppo mediterraneo del torrente Fegana (bacino del Serchio)

Materiali e metodi

Il programma di recupero della trota fario di ceppo autoctono attuato nelle province di La Spezia, Parma e Lucca ha previsto in una fase iniziale il censimento capillare dei corpi idrici dei reticoli idrografici provinciali, effettuati durante la realizzazione delle Carte Iltiche, dove previste, o attraverso programmi specifici, nell'intento di individuare popolazioni di *Salmo (trutta) trutta* di ceppo mediterraneo, considerate autoctone della penisola italiana (Giuffra et al., 1996) ed in particolare dell'area appenninica (Pascale, 1999). I censimenti, effettuati con elettropesca per lo più in fase di magra estiva su un congruo numero di corsi d'acqua, hanno permesso di verificare la presenza di individui con caratteristiche fenotipiche analoghe a soggetti identificati come autoctoni, presenti in altri bacini italiani.

Il riconoscimento degli individui di trota fario di ceppo mediterraneo è stato effettuato in prima istanza su base morfometrica e meristica (Forneris et al., 1996), tenendo in considerazione alcuni caratteri particolari quali numero e forma dei punti neri e rossi, presenza delle macchie "parr" negli individui adulti, presenza della macchia preopercolare, forma delle pinne pettorali e del mus dell'animale (vedi figura)

In una fase successiva, con l'adozione di tecniche di laboratorio efficaci, alcuni soggetti

sono stati utilizzati per indagini di tipo genetico da parte dell'Università di Parma. Successivamente si sono quindi avviate campagne di cattura dei riproduttori, cercando contemporaneamente di organizzare una mappatura il più possibile precisa sulla distribuzione e sull'entità delle popolazioni di salmonidi di questi bacini. Nella mappatura dei torrenti si sono individuati ed evidenziati quelli con le maggiori percentuali di trote fario con livrea riferibile alla trota fario autoctona di ceppo mediterraneo.

Questa operazione è risultata la più importante ai fini gestionali, poichè a partire da stock di riproduttori provenienti dai corsi d'acqua con le popolazioni più abbondanti si è avviato un programma di reintroduzione di avannotti del ceppo mediterraneo in altre acque provinciali dove è risultato essere scomparso.

L'attività di recupero, nel suo complesso, è stata condotta in un lasso di tempo molto ampio (1993-2002), con programmi pluriennali, su 25 corsi d'acqua in provincia della Spezia appartenenti al bacino del fiume Vara, su 16 corsi d'acqua della provincia di Parma, appartenenti ai bacini del Taro, del Parma e dell'Enza e su 14 corsi d'acqua della provincia di Lucca, appartenenti al bacino del Serchio.

I prelievi dei riproduttori, ad eccezione della fase conoscitiva iniziale, sono state condotti nel periodo autunnale ed invernale, in concomitanza con il periodo riproduttivo dei salmonidi (dicembre-gennaio), e sono stati effettuati con elettrostorditore "spalleggiabile" a corrente continua pulsata (300 - 600 V) su tratti di corso d'acqua di lunghezza compresa tra i 100 ed i 3000 m. Ai prelievi hanno partecipato Agenti di Polizia Provinciale e pescatori volontari appartenenti alle locali società di pesca ed alle più importanti Associazioni nazionali. L'attrezzatura (elettrostorditore, guadini, mezzi con vasche per il trasporto pesci) è stata messa a disposizione dalle Amministrazioni Provinciali coinvolte.

Al termine dei prelievi i riproduttori selezionati venivano avviati ai diversi incubatoi (uno, di proprietà regionale, a La Spezia, cinque, provinciali, a Parma, due della Comunità Montana Media valle Serchio, a Lucca) dove sono stati mantenuti in vasche di materiale diverso, con fondo ricoperto di materiale di origine fluviale per ricreare un substrato il più possibile simile ad un fondo naturale od utilizzando massi e mattoni per creare rifugi e ripari per i pesci.

I riproduttori venivano controllati con cadenza settimanale e, qualora maturi, avviati alla fecondazione artificiale. Le uova ottenute dalla fecondazione artificiale erano poste in vasche californiane costituite da telaietti di cm 80X40 o 40x40, alimentate da acqua superficiale o di sorgente, ad una temperatura compresa tra 3 e 10°C. Quotidianamente veniva effettuato il controllo delle uova e la pulizia delle stesse, con eliminazione di quelle non fecondate.

In 45-90 giorni avveniva la schiusa degli avannotti ed in 15-18 giorni il riassorbimento del sacco vitellino.

Ogni programma prevedeva, in una prima fase, che poco prima del riassorbimento del sacco vitellino gli avannotti venissero immessi per l'accrescimento in appositi ruscelli vivaio, corpi idrici di modesta entità caratterizzati da buona produttività, facile accessibilità e controllo, assenza o scarsa presenza di potenziali predatori, e da questi recuperati circa sei mesi dopo per la semina nei torrenti della zona. Ad acquisita capacità da parte dei gestori degli incubatoi, alcuni lotti di avannotti dovevano poi essere allevati fino allo stadio di trotella e poi immessi in acque libere.

Risultati e conclusioni

L'attività condotta nel periodo considerato ha permesso di ottenere un duplice scopo: ottenere importanti informazioni inerenti la situazione ittiofaunistica dei principali corsi d'acqua padani e tirrenici dell'Appennino settentrionale ed avviare progetti di recupero di

un'importante entità zoofaunistica, messa in crisi da precedenti non adeguate politiche di ripopolamento e pesca, coinvolgendo i pescatori, le associazioni ed il mondo della pesca in generale.

Per quanto riguarda la situazione faunistica, si è evidenziata una netta dicotomia tra corpi idrici appenninici padani e diretti tributari del mar Tirreno.

I corsi d'acqua della destra padana, in particolare Taro, Parma ed Enza, pur presentando nel loro tratto montano superiore tipologie ambientali molto adatte ad ospitare salmonidi, sono popolati da popolazioni prevalentemente costituite da soggetti d'immissione, talora inselvatichite. Soggetti con fenotipo mediterraneo sono presenti esclusivamente nelle testate dei bacini considerati, in pochi corsi d'acqua ed in tratti di pochi chilometri a valle delle sorgenti, mai con popolazioni consistenti. Unica eccezione sono, forse, il torrente Enza ed il suo affluente Cedra, dove in alcuni tratti la componente "mediterranea" della popolazione di trota costituisce una percentuale significativa, senza risultare mai dominante rispetto a quella d'immissione.

Situazione ben diversa è quella dei bacini tirrenici, dove trote fario di ceppo mediterraneo sono state rinvenute pressoché in tutti i corpi idrici indagati, da quote molto basse fino ai tratti iposorgentizi. In molti corsi d'acqua (Durla ed Usurana, in provincia della Spezia, Corsonna e Fegana, in provincia di Lucca), i fenotipi mediterranei sono risultati nettamente dominanti su quelli atlantici.

Questa situazione evidenzerebbero come la trota fario di ceppo mediterraneo abbia avuto come areale di distribuzione originario i corpi idrici tirrenici, da cui si sarebbe "irradiata" alle aree appenniniche padane, probabilmente attraverso remote transfaunazioni, trovando condizioni ecologiche idonee solo in alcuni torrenti a quote altimetriche elevate.

Proprio a partire dai corsi d'acqua con popolazioni più abbondanti e meglio strutturate è stata avviata l'attività di potenziamento e recupero di *Salmo (trutta) trutta*, che ha permesso la produzione annuale di stock di avannotti sufficienti da un lato a svincolare parzialmente le Amministrazioni Provinciali dall'acquisto di uova da trotaicoltori e dall'altro ad iniziare il potenziamento delle popolazioni naturali di trota fario nei corpi idrici summenzionati e la reintroduzione della "forma" autoctona in corsi d'acqua dove questa è risultata essere scomparsa. La produzione media annuale di circa 30.000 avannotti per incubatoio (area tirrenica) ha permesso il ripopolamento dei torrenti di provenienza dei riproduttori e l'irradiazione annuale del ceppo ad altri 3-4 corsi d'acqua opportunamente scelti.

Condizione essenziale per la riuscita dell'operazione è stata, soprattutto nelle prime fasi, la semina degli avannotti in ruscelli vivaio, opportunamente bonificati dai predatori (trote fario adulte) con l'elettropesca, a densità molto basse, non superiori ad un avannotto/m². Ciò ha comportato una resa percentuale compresa tra il 50 ed il 70% a sei mesi dall'immissione, con taglie raggiunte comprese tra i 6 e gli 11 cm entro sei mesi dall'immissione. Le trotelle, prelevate nel mese di settembre-ottobre dai ruscelli vivaio, sono state poi seminate a densità analoghe nei corpi idrici recettori finali.

I controlli effettuati nel corso delle campagne successive hanno permesso di verificare un incremento delle popolazioni con fenotipo riferibile al ceppo autoctono in molti corsi d'acqua e la loro perfetta integrazione in torrenti dove precedentemente non erano presenti. Parallelamente all'avvio del potenziamento delle popolazioni naturali attraverso fecondazione artificiale, sono stati adottati meccanismi gestionali atti a tutelare i soggetti introdotti, mediante misure legislative più rigide inerenti misure minime di cattura, periodi di divieto ed esche, divieti assoluti d'immissione di soggetti di provenienza allevativa ed istituzione di zone "no kill" od a tutela integrale. Tali misure sono state adottate gradualmente, iniziando dalle aree più interessanti dal punto di vista ittiofaunistico, per evitare conflitti con il mondo della pesca.

La diversificazione nella gestione delle acque da salmonidi provinciali, adottata dalle Amministrazioni Provinciali di Parma, la Spezia, Lucca con l'avvio del programma di recupero del ceppo autoctono di trota fario, ha dato risultati, seppur perfettibili, molto incoraggianti; ha dimostrato come la tutela delle residue popolazioni autoctone di specie ittiche importanti quali *Salmo (trutta) trutta* vada attuata con programmi articolati, simili a quelli intrapresi, coinvolgendo il mondo della pesca in forma associata e non, ed attraverso interventi gestionali mirati di supporto alle operazioni di potenziamento tramite riproduzione artificiale quali quelli citati (divieto di immissione di qualsiasi salmonide nelle acque ospitanti ceppi autoctoni di trota, adozione di misure minime e periodi di divieto della pesca più restrittivi, l'istituzione di zone di rilascio del pescato etc). Ha inoltre evidenziato come è importantissima la sensibilizzazione dell'opinione pubblica, non solo del mondo della pesca, rispetto ad iniziative di elevata importanza naturalistica, che vanno sostenute con un'adeguata pubblicizzazione e valorizzazione di quanto fatto, con l'invito alla possibile diffusione di iniziative analoghe in altre aree con realtà simili.

Bibliografia

Giuffrè E., Forneris G., Gujomard R., 1996. *Polimorfismo genetico e filogenia delle popolazioni di trote del bacino del Po.* Atti del IV Convegno A.I.I.A.D. , Riva del Garda, 21-31.

Forneris G., 1991. *Gli incubatoi di valle.* Amministrazione Provinciale di Torino, 55 pp.

Forneris G., Pascale M., Sicuro B., Palmegiano G.B., 1996. *Analisi biometrica di tre popolazioni di *Salmo [trutta] trutta*.* Atti del 5° Convegno A.I.I.A.D., Montecchio Maggiore (VI), 53-62.

Pascale M., 1999. *La trota fario di ceppo mediterraneo: alcune problematiche legate alla gestione delle popolazioni autoctone di salmonidi.* Atti del Convegno: "Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta* L., di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto., 39-43. Provincia di Reggio Emilia.

Regione Piemonte, 1991. *Carta ittica relativa al territorio della regione piemontese.* Assessorato Caccia e Pesca, Torino.

Incubatoi di valle in provincia di Reggio Emilia: produzione e prospettive gestionali delle popolazioni naturali di trota fario.

F. IELLI¹, P. GIBERTONI²

¹Consulente ittiologo Provincia Reggio Emilia, c/o Uff. Caccia e Pesca, Via Gorizia 49, 42100 Reggio Emilia.

²Veterinario. Via SS. 63, 42037 Collagna (RE).

Introduzione

Già da alcuni anni la Provincia di Reggio Emilia, con la collaborazione delle principali Associazioni Alieutiche (Comitato Interassociativo per la Gestione dei Servizi Pesca) ha intrapreso un programma di recupero e di reintroduzione nei propri corsi d'acqua montani (Ielli e Alessio, 1996 a e b) delle popolazioni naturali di trota fario, *Salmo "trutta" trutta*, indicate da alcuni Autori (Guyomard, 1989, Giufra et al., 1996) come trote fario di "ceppo mediterraneo", per distinguerle da quelle di provenienza zootecnica di "ceppo atlantico", e da Altri (Bobbio et al., 1996) come popolazioni con fenotipo di riferimento "macrostigma".

Gli studi sono proseguiti con le indagini ittiologiche per la realizzazione della Carta Ittica Regionale (Ielli, 1999 a) e con successivi interventi (Ielli e Gibertoni, 1999), integrati nell'ambito del Convegno Nazionale "Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo "trutta" trutta* L., di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto.", organizzato a Reggio Emilia il 27 marzo 1999. In seguito la Provincia di Reggio Emilia, con la collaborazione dell'ittiologo incaricato, ha incentivato la riproduzione controllata di queste popolazioni in un incubatoio di valle realizzato nei pressi di Minozzo di Villa Minozzo (RE), partendo da riproduttori catturati mediante pesca elettrica (Figg.1 e 2) e selezionati su basi morfotipiche (Forneris et al.1996; Ielli e Alessio, 1996; Ielli, 1999 b; Ielli et al., 1999) e genetiche (Manaresi et al., 1999). Inoltre la collaborazione con un ente privato dell'Alta Val Secchia, specializzato nella produzione di novellame qualificato, ha favorito un incremento della produzione di trota fario (4 - 6 cm) per il ripopolamento dei corsi d'acqua provinciali vocati a trota fario autoctona, di cui si riferisce in seguito (Fig. 3).

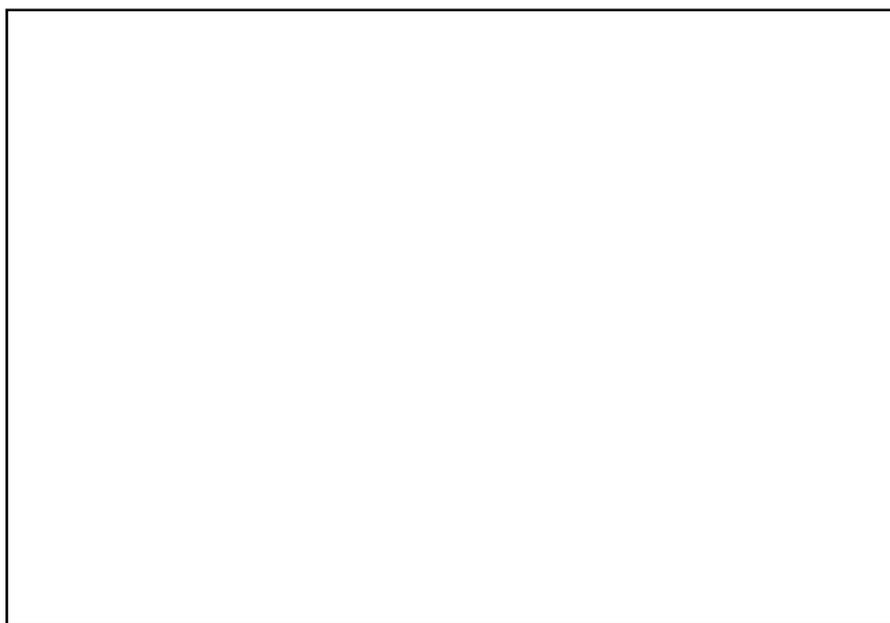


Fig. 1 – Esempio maschio di trota fario di "ceppo mediterraneo" (*Salmo trutta trutta*, L.).

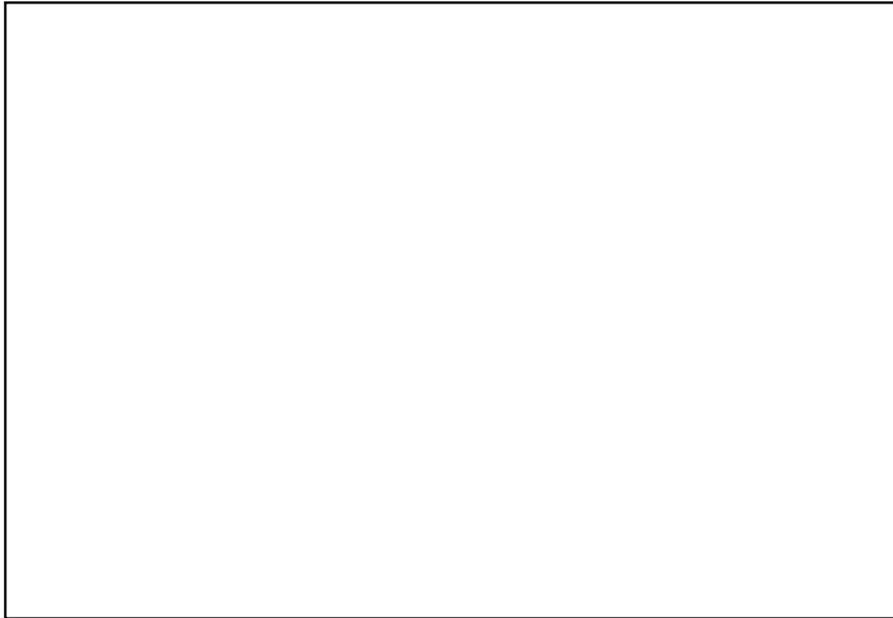


Fig. 2 – Esempio femmina di trota fario di “ceppo mediterraneo” (*Salmo trutta trutta*, L.).



Fig. 3 – Fiume Secchia – Corso d’acqua dalle caratteristiche spiccatamente appenniniche.

Risultati

La fecondazione artificiale in impianto, oltre a fornire una maggiore resa rispetto alle condizioni naturali, con tempi di schiusa ridotti, bassa mortalità specifica alla schiusa, nell’ordine del 2%, migliori condizioni igienico sanitarie, ecc. (Tab. I), ha inoltre permesso di mantenere i riproduttori, all’interno della struttura provinciale, stabulati in una vasca rinaturalizzata (Ielli e Gibertoni, 1999 a) e di provvedere ad un naturale ricambio degli stessi utilizzando una parte della produzione dell’incubatoio. Un certo numero di trotelle (3.000 - 4.000) vengono infatti periodicamente immesse in un laghetto -facilmente svuotabile- per l’accrescimento e in alcune vasche rinaturalizzate all’occorrenza ed alimentate con acqua di superficie filtrata (Fig.4). Si è così ottenuto un ciclo chiuso, senza la

necessità di provvedere, annualmente, alla ricerca e alla cattura dei riproduttori dai corsi d'acqua. La produzione annuale ha subito nel tempo un forte incremento, passando dalle 5.000 uova fecondate nell'inverno 1997/98 alle oltre 23.000 dell'inverno 2002/03 (Tab. II).

Impianto ittiogenico	Minozzo	Alta Val Secchia
Temperatura acqua sorgente (valore medio)	7.2 °C	9.9°C
Ossigeno disciolto (valore medio)	8.7 mg/l	8.5 mg/l
Diametro uova (valore medio)	5,160 mm +/- 0,601 (ds)	4,720 mm +/- 0,270 (ds)
Tempo di embrionamento (valore medio)	31 gg (232 gradi giorno)	23 gg (227 gradi giorno)
Tempo di schiusa (valore medio)	60/68 gg (468 gradi giorno)	42/49 gg (457 gradi giorno)

Tab. I – Impianti ittiogenici: valori medi dei principali parametri ambientali, del diametro delle uova, e dei tempi di embrionamento e di schiusa delle stesse.

PRODUZIONE	N° UOVA FECONDATE	N° TROTELLE IMMESSE (4-6 cm)	FEMMINE SPREMIUTE	CICLI DI SPREMITURA (settimanali)
inverno 97-98	5.000	4.500	16 (220-350 mm LT)	4 (da 14.12.97 a 04.01.98)
inverno 98-99	8.000	7.000	19 (220-380 mm LT)	7 (da 13.12.98 a 24.01.99)
inverno 99-00	11.500	9.000	24 (9 (da 04.12.99 a 01.02.00)
inverno 00-01	16.000	12.000	24 (25-40 cm LT)	8 (da 11.12.00 a 30.01.01)
inverno 01-02	20.000	15.000	40 (220-400 mm LT)	12 (da 11.12.01 a 17.03.02)
inverno 02-03	23.000	?	20 (280-420 mm LT)	9 (da 01.12.02 a 03.02.03)

Tab. II - Incubatoio di Minozzo: produzione, riproduttori e cicli di fecondazione di 6 anni (1997/1998 - 2002/2003).



Fig. 4 – Incubatoio provinciale di Minozzo – avannotteria, vasca riproduttori e laghetto di accrescimento novellame.

Attualmente, considerando la mortalità naturale, nell'impianto di Minozzo sono presenti 54 riproduttori adulti e nelle vasche di Garfagno 723 trote di età 2+, futuri potenziali riproduttori (Tab. III) che verranno selezionati e suddivisi tra la struttura di Minozzo (Bacino Secchia - Ozola) e altre in fase di allestimento e/o di riadattamento (Roncopianigi: Bacino Dolo/Secchiello, Andrella: Bacino Enza/Liocca, ecc.), al fine di rendere autonomi in tempi brevi i bacini fluviali di pertinenza della Provincia di Reggio Emilia, anche grazie alla collaborazione con l'impianto ittiogenico dell'Alta Val Secchia (Tab. IV), sino ad arrivare alla totale autonomia produttiva, escludendo qualsiasi forma di acquisto di materiale di provenienza zootecnica.

<i>RIPRODUTTORI PRESENTI NELLA VASCA DI STABULAZIONE DI MINOZZO (28 - 42 cm LT)</i>	54 (35 femmine e 19 maschi)
<i>TROTE DI ETA' 2+ PRESENTI IN VASCA A GARFAGNO (potenziali futuri riproduttori)</i>	723
<i>RIPRODUTTORI PRESENTI NELL'INCUBATOIO DI VALLE "TROTICOLTURA ALTA VAL SECCHIA" (20 - 69 cm LT)</i>	380 (337 femmine e 43 maschi)

Tab. III – Anno 2003 - Riproduttori adulti e potenziali attualmente disponibili negli impianti ittiogenici siti in provincia.

PRODUZIONE	N° UOVA FECONDATE	N° TROTELLE IMMESSE (4-6 cm)	FEMMINE SPREMUTE	CICLI DI SPREMITURA (settimanali)
inverno 97-98	130.000	110.000	105	4 (da 14.12.97 a 04.01.98)
inverno 98-99	135.000	120.000	112	7 (da 13.12.98 a 24.01.99)
inverno 99-00	120.000	85.000	102	10 (da 02.12.99 a 11.02.00)
inverno 00-01	235.000	180.000	254	11 (da 26.11.00 a 11.02.01)
inverno 01-02	253.000	202.000	235	12 (da 11.12.01 a 17.03.02)
inverno 02-03	357.000	300.000	337	9 (da 01.12.02 a 03.02.03)

Tab. IV - Incubatoio Alta Val Secchia: produzione, riproduttori e cicli di fecondazione di 6 anni (1997/1998 - 2002/2003).

Indirizzi gestionali attuali

Attualmente la zona "D" superiore a salmonidi (L.R. 22/2/1993 n.11, art. 8 "Delimitazione delle zone omogenee per la gestione ittica" Regione Emilia-Romagna) viene ripopolata esclusivamente con trotelle fario di "ceppo mediterraneo" prodotte dall'incubatoio di Minozzo, e da un incubatoio di valle privato convenzionato con la Provincia di Reggio Emilia sito nell'alto corso del fiume Secchia (Troticoltura Alta Val Secchia S.r.l.).

A seguito dei campionamenti effettuati per la redazione della Carta Ittica Regionale delle acque vocate a salmonidi si è potuto "mappare" lo stato delle popolazioni ittiche, comprese quelle autoctone di ceppo mediterraneo. Si sono inoltre evidenziati corsi d'acqua, o tratti degli stessi, in cui, seppur in assenza di popolazioni autoctone, la condizione ambientale è risultata eccellente, sia per qualità fisico-chimiche delle acque che per continuità ed integrità degli alvei e dell'ecosistema. Sono emerse altresì realtà fortemente compromesse, sia per quanto riguarda le popolazioni ittiche, specie in tratti in cui si sono

effettuate in passato cospicue e ripetute immissioni di materiale ittico di origine zootecnica alloctona, sia per lo stato di degrado ambientale, a causa di derivazioni idroelettriche od idropotabili e/o per la realizzazione di manufatti insormontabili, come traverse, briglie e dighe, e pertanto alteranti la continuità dei corpi idrici e le migrazioni trofiche e riproduttive dell'ittiofauna.

Si è giunti pertanto ad una gestione di tipo differenziato e capillare (Gibertoni e Ielli, 1999) che, ad oggi, pare stia dando interessanti e positivi riscontri. In dettaglio sono stati riconosciuti corsi d'acqua, o porzioni degli stessi, in cui la particolare condizione ambientale e la presenza di popolazioni autoctone hanno indotto ad una gestione più protesa alla salvaguardia delle stesse, attraverso la sospensione delle immissioni, ad esclusione di ripopolamenti effettuati con trotelle prodotte in incubatoio, e mediante restrizioni dei prelievi di fauna ittica con l'istituzione di Zone di Protezione (Divieto di Pesca), di Zone No Kill (ZNK) e di Zone a Regime Speciale di Pesca (ZRSP), nelle quali è consentita la cattura e la detenzione di non più di 3 soggetti, anziché 5, di lunghezza totale non inferiore ai 24 cm, anziché 22 cm, come da L.R. 11/93 (Gibertoni e Ielli, 2002). Questi provvedimenti stanno inducendo una progressiva ricostituzione delle popolazioni autoctone, grazie soprattutto al notevole contributo dato dalla riproduzione naturale di soggetti che raggiungono età e taglie mediamente superiori rispetto alle zone con regolamentazioni della pesca meno restrittive.

Altri corsi d'acqua, la maggior parte, hanno una condizione idrica ed ambientale solo parzialmente compromessa e ospitano popolazioni ittiche autoctone di esigua consistenza e/o non adeguatamente strutturate. La strategia gestionale è in tal caso incentrata in cospicue e ben calibrate operazioni di ripopolamento con trotelle fario autoctone prodotte nell'incubatoio privato convenzionato dell'alta Valle del Secchia. L'obiettivo è quello di indurre un graduale turnover a favore dei soggetti autoctoni reintrodotti (Gibertoni et al. 1998). In queste acque vigono i regolamenti regionali ovvero sono presenti Zona a Regime Speciale di Pesca (ZRSP). Inoltre vengono periodicamente effettuate catture, mediante elettropesca, di soggetti di trota fario con fenotipo atlantico od ibrido, per scongiurare fenomeni di introgresione genetica e di competizione territoriale ed alimentare con i soggetti autoctoni immessi.

I tratti di corsi d'acqua fortemente antropizzati e degradati e di difficile recupero, fortunatamente pochi, sono destinati infine alla pesca facilitata con l'immissione di trote adulte di origine zootecnica, con la possibilità di divenire, semmai la legislazione regionale lo dovesse consentire in futuro, tratti turistici per la pesca a pagamento, per poter così reperire i fondi economici necessari per la gestione degli incubatoi di valle, per la ricerca e per la formazione e l'informazione del mondo alieutico.

Conclusioni

Appare evidente come la gestione degli incubatoi di valle e degli impianti ittiogenici debba essere accompagnata da un'idonea strategia gestionale delle acque, specie se la finalità è quella della salvaguardia e del recupero dei ceppi autoctoni a concreto rischio di estinzione. Fattore indispensabile appare, inoltre, la consapevolezza ed il senso di responsabilità del mondo alieutico, che non deve solo "accettare" ma piuttosto "comprendere e condividere" le scelte gestionali, non sempre finalizzate ad un immediato vantaggio per il pescatore.

Da un punto di vista prettamente biologico, in una realtà come quella della Provincia di Reggio Emilia, dove si è giunti ad un soddisfacente livello di recupero dei ceppi autoctoni, sarà opportuno chiedersi come operare in futuro. In effetti, considerata la note-

vole "plasticità" dei Salmonidi, potrebbe essere opportuno lasciare che la natura segua il proprio corso, nel senso che molti aspetti collegati alla eredità dei caratteri fenotipici, in particolar modo delle livree, che inducono discriminazioni durante le operazioni di selezione dei riproduttori, appaiono spesso assai variabili ed eterogenei, anche all'interno della medesima linea genetica, al punto da distaccarsi non di poco dal modello di riferimento, con grosse difficoltà nelle fasi selettive. D'altro canto è ovvio che non ha molto significato, visti le oggettive difficoltà e gli oneri economici conseguenti, pensare di effettuare analisi genetiche su migliaia di soggetti costituenti ipotetiche popolazioni selvatiche di trote fario di "ceppo mediterraneo".

Pertanto non è da escludere che, una volta raggiunti soddisfacenti livelli di omogeneità all'interno della popolazione di un determinato bacino idrografico, il compito principale di una attenta politica gestionale di un'Amministrazione Pubblica sia quello di tutelare e salvaguardare gli habitat e gli ecosistemi naturali. Non è infatti pretestuosa l'affermazione che il declino di certe specie autoctone sia da imputare principalmente alla devastazione ed al degrado degli ambienti tipici piuttosto che all'attività alieutica fine a se stessa. Tale presupposto serve a sottolineare come gli Enti pubblici o privati debbano incentrare gli sforzi gestionali nella direzione del ripristino e della tutela ambientale piuttosto che in bizzarre zootecniche di ripopolamento. Tale appare, per "scienza e coscienza", forse il più importante ruolo dei tecnici e dei ricercatori coinvolti ed incaricati nella gestione di acque e di popolazioni ittiche autoctone.

Bibliografia

- Bobbio L., Cannas R., Cau A., Deiana A.M., Duchi A., Gandolfi G., Tagliavini j. 1996 - *Variabilità mitocondriale in specie di salmonidi, con particolare riferimento alle forme "macrostigma"*. Atti VI Conv. naz. A.I.I.A.D. Varese Ligure (SP). 6-8 giugno 1996: 42 - 49.
- Forneris g., Pascale m., Palmegiano G. 1996 - *Analisi biometrica di tre popolazioni di Salmo (trutta) trutta L.* Atti V Conv. naz. A.I.I.A.D. Montecchio Maggiore (VI): 53 - 62.
- Gibertoni P.P., Ielli F. 1999. *La gestione delle acque con vocazione a salmonidi nella provincia di Reggio Emilia.* Atti del Convegno: Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta*, L., di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto. – Provincia di Reggio Emilia: 29 - 37
- Gibertoni P.P., Ielli F. 2002. *Variazione della struttura, della densità e della biomassa in due popolazioni di trota fario, Salmo (trutta) trutta, L., in zone regolamentate a regime speciale di pesca (ZRSP).* Atti IX Conv. naz. A.I.I.A.D. Bagno di Romagna (FC), Giugno 2002. – In stampa.
- Gibertoni P.P., Ielli F., Bracchi P.G. 1998. *Allevamento, riproduzione e reintroduzione in ambiente naturale di trote fario di "ceppo mediterraneo", Salmo (trutta) trutta, L.* Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria – Vol.XVIII – Università di Parma: 255 - 273
- Giuffra E., Forneris G., Guyomard R. 1996 - *Diversità genetica e filogenesi dei salmonidi del bacino del Po.* Atti IV Conv. naz. A.I.I.A.D. Riva del Garda (TN). 21-32.
- Guyomard R., 1989 - *Diversité génétique de la truite commune.* Bull. Fr. Peche Piscic.,

314: 118-135.

Ielli F. 1999 a - *Studio dell'ittiofauna del bacino montano del fiume Secchia (Reggio Emilia)*. Ass. Caccia e Pesca e Comitato Interassociativo Gestione Servizi Pesca: 88pp.

Ielli F., 1999 b - *Progetto ed esperienze pilota (anni 1997-1998 e 1998-1999) per il recupero e la reintroduzione della trota fario, Salmo (trutta) trutta L., di "ceppo mediterraneo" nei corsi d'acqua dell'Appennino Reggiano*. Prov. di Reggio Emilia. Ass. Caccia e Pesca e Comitato Interassociativo Gestione Servizi pesca: 16 pp.

Ielli F., Alessio G.L. 1996 a - *L'ambiente e le trote, Salmo (trutta) trutta L., del Torrente Riarbero (Appennino Reggiano)*, Atti V Conv. naz. A.I.I.A.D. Montecchio Maggiore (VI): 129 - 138.

Ielli F., Alessio G.L. 1996 b - *Studio preliminare del popolamento a salmonidi del Torrente Liocca (Appennino Reggiano) e considerazioni sugli interventi gestionali per il recupero dei ceppi autoctoni*. Atti V Conv. naz. A.I.I.A.D. Montecchio Maggiore (VI): 401 - 408.

Ielli F., Gibertoni P.P., 1999 - *Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, Salmo (trutta) trutta L., nel bacino del Fiume Secchia*. Atti del Conv. "Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta L.*, di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto" Provincia di Reggio Emilia, 27 marzo 1999: 21 - 28.

Ielli F., Gibertoni P.P., Alessio G. 1999 - *Sperimentazioni preliminari di produzione controllata di novellame, in ambiente rinaturalizzato, per il recupero e la reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, Salmo (trutta) trutta L., nel bacino del Fiume Secchia (Reggio Emilia)*. Atti VII Conv. naz. A.I.I.A.D. Carnia (UD), 14 - 15 -. 16 gennaio 1999. Quaderni ETP 28/1999: 175 -178.

Manaresi S., Mantovani B., Zaccanti F., 1999 - *DNA mitocondriale in trote fario dell'Appennino settentrionale*. Atti del Conv. "Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta L.*, di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto. Provincia di Reggio Emilia, 27 marzo 1999: 15 - 20.

Prime esperienze di gestione di popolazioni autoctone di trota fario (*Salmo trutta* L.) in Provincia di Terni

A. CAROSI¹, P. VIALI¹ M. LORENZONI², M. CORBOLI², G. PEDICILLO²

¹ Servizio Programmazione ittiofaunistica, Provincia di Terni, via Plinio il Giovane, 21
- 05100 TERNI

² Dipartimento di Biologia animale ed Ecologia ,Università degli Studi di Perugia, Via Elce di Sotto - 06100
PERUGIA

Premessa

La Provincia di Terni ha avviato da tempo una attività di selezione del ceppo autoctono di trota fario nel bacino del Fiume Nera; scopo dell'attività è quello di disporre di uno stock di riproduttori da utilizzare per la produzione di novellame da ripopolamento per il recupero delle popolazioni salmonicole.

Il progetto rientra nell'ambito delle attività del Laboratorio Ittico di Terria, istituito dalla Provincia allo scopo di monitorare le popolazioni ittiche presenti nelle acque fluviali e lacustri del territorio provinciale, con particolare riferimento agli aspetti gestionali.

Le prime indagini svolte, finalizzate alla caratterizzazione morfologica e biochimica di alcune popolazioni di trota fario, hanno consentito di individuare un corso d'acqua della Provincia, il T.Monterivoso, in cui è presente una popolazione con caratteristiche riconducibili al ceppo mediterraneo. Sulla base di tali risultati sono state effettuate spremiture artificiali di riproduttori catturati in ambiente naturale e selezionati sulla base di alcuni caratteri morfologici.

Con l'ultimazione del "Progetto Monterivoso", attraverso l'analisi morfologica e l'applicazione di moderne tecniche di analisi genetica, la fase di ricerca può considerarsi conclusa, mentre è stata avviata la fase di recupero del ceppo autoctono di trota fario.

L'attività di recupero potrebbe essere ulteriormente avvalorata; è stato infatti richiesto il riconoscimento Comunitario (direttiva 91/67/CEE) di "zona indenne" da Necrosi Ematopoietica infettiva e Setticiemia Emorragica virale del T.Monterivoso, e dello stesso impianto-laboratorio di Terria. Tale riconoscimento consentirebbe infatti l'utilizzo degli avannotti prodotti come materiale da ripopolamento, nonché il periodico rinnovamento degli stock di riproduttori con nuovi riproduttori selvatici catturati dal T.Monterivoso.

Materiale e metodi

Le prime esperienze di spremitura e fecondazione artificiale "a secco" del Laboratorio Ittico di Terria sono state effettuate nel mese di dicembre degli anni 1998 e 1999, utilizzando riproduttori selezionati e catturati nel T.Monterivoso.

Il T.Monterivoso (Fig.1) è un affluente di sinistra del F.Nera; per le caratteristiche presentate dalla popolazione di trota fario che vi risiede e per l'alta valenza riproduttiva, dal 1989 è stata istituita una zona di protezione che investe tutto il corso d'acqua. Va sottolineato, inoltre, che il corso d'acqua non è mai stato oggetto di pratiche di ripopolamento e che, grazie alla presenza di barriere naturali ed artificiali che costituiscono ostacoli insormontabili per la fauna ittica, è rimasto isolato dal resto del bacino.



Fig.1 – F.so di Monterivoso, località "Fonte della serpa".

I riproduttori sono stati prelevati mediante pesca elettrica ed anestetizzati con acetonecloroformio allo scopo di evitare traumi dovuti alla manipolazione. La selezione degli esemplari è stata effettuata in base alle caratteristiche morfologiche riportate in letteratura (Ielli e Gibertoni, 1999). In particolare sono stati selezionati tutti gli individui che presentavano le seguenti caratteristiche (Fig.2):

- Punti di piccole dimensioni rossi – senza alone – e neri, distribuiti fittamente su fianchi e dorso;
- Macchia preopercolare scura ben evidente e dai contorni irregolari;
- Bande verticali (parr) presenti anche negli adulti.



Fig.2 – Trota fario: fenotipo di riferimento per la selezione dei riproduttori.

Le uova fecondate sono state incubate in vaschette californiane poste all'interno dell'incubatoio del Laboratorio ittico Provinciale di Terria. Le vasche sono alimentate con acqua proveniente dal F.so di Terria, un affluente di sinistra del F.Nera.

Giornalmente sono stati rilevati i dati relativi all'ossigeno disciolto e alla temperatura dell'acqua; sono stati inoltre registrati i tempi d'incubazione e di schiusa delle uova.

Ai fini della valutazione dell'accrescimento, su di un campione rappresentativo di trotelle, sono stati rilevati periodicamente i dati relativi alla lunghezza totale (cm) ed al peso (g).

Nel corso dell'attività di spremitura degli anni 2001/2002 e 2002/2003, allo scopo di esaminare alcuni aspetti della biologia riproduttiva della popolazione di trota fario presente nel T.Monterivoso, sono stati effettuati 4 campionamenti, in corrispondenza del periodo riproduttivo della specie, mirati alla cattura dei riproduttori. Va sottolineato che, per non compromettere la riproduzione naturale della specie, ci si è limitati al prelievo di un esiguo numero di riproduttori. Nella tab.1 sono riportati gli anni di campionamento ed il numero di riproduttori catturati, suddivisi per sesso.

ANNO	N° maschi	N° femmine
2001/2002	8	2
2002/2003	45	77
TOTALE	53	79

Tab.1– N° riproduttori selvatici disaggregati per sesso e per anno

Sul campo, per ciascun esemplare maturo catturato è stato rilevato il peso, la lunghezza totale, ed è stato prelevato un campione di scaglie per la determinazione dell'età. Le femmine mature sono state spremute artificialmente e quindi pesate dopo l'operazione di spremitura. Per ciascuna femmina matura, è stato prelevato e pesato con una bilancia elettronica con precisione $\pm 0,1$ g un campione di uova. I subcampioni sono stati conservati in formalina al 10%. Il peso delle uova prodotte da ciascuna femmina matura è stato ottenuto dalla differenza fra il peso misurato prima e dopo la spremitura.

In laboratorio, per ciascun subcampione di uova è stato effettuato il conteggio delle uova presenti e misurato il diametro di 10 uova prelevate a caso, tramite l'utilizzo di un sistema di analisi dell'immagine (IAS 2000). Inoltre è stata determinata l'età di tutti i riproduttori mediante metodo scalimetrico (Bagenal, 1978; Bagliniere e Le Louarn 1987; DeVries e Frie, 1996).

Di ogni femmina matura è stato calcolato il diametro delle uova attraverso la media delle 10 immagini misurate. E' stata calcolata la regressione lunghezza totale - diametro delle uova, allo scopo di verificare se gli esemplari di taglia maggiore producono uova di dimensioni più grandi. Per ciascuna femmina è stato calcolato il numero di uova prodotte attraverso la proporzione: n° uova totali = n° uova subcampione x peso totale uova/peso subcampione uova. La fecondità relativa è stata stimata come n° medio delle uova prodotte per kg di peso corporeo. Inoltre è stata calcolata la regressione tra il n° delle uova prodotte e la lunghezza delle femmine (Lt), mediante metodo dei minimi quadrati dopo trasformazione logaritmica dei dati (Bagenal, 1978); la regressione è espressa dalla seguente formula:

$$N^{\circ} \text{ uova} = a \times Lt^b$$

dove a = intercetta della curva sull'asse delle y, b=coefficiente di regressione.

Risultati

Nella tab. 2 sono riportati i valori relativi alla temperatura di incubazione, all'ossigeno disciolto, e i tempi medi di schiusa delle uova per le campagne 1998/99 e 99/2000.

	1998/1999	1999/2000
TEMPERATURA DI INCUBAZIONE:		
valore medio	9,0°C	8,5°C
valore minimo	8,3°C	8,1°C
valore massimo	9,8°C	9,0°C
OSSIGENO DISCIOLTO :		
valore medio	-	10.25 mg/l
valore minimo		9,4 mg/l
valore massimo		11,3 mg/l
TEMPI DI SCHIUSA:		
valore medio	482.68 gradi/giorno	419.39 gradi/giorno

Tab. 2 - Temperatura di incubazione, ossigeno disciolto e tempi medi di schiusa.

Per la campagna 1998/1999 la schiusa è avvenuta dopo 47-58 gg, con un tempo medio di schiusa pari a 482.68 gradi/giorno; per la campagna 1999/2000 la schiusa è avvenuta dopo 41-58 gg, con un tempo medio di schiusa pari a 419.39 gradi/giorno.

Nella tab. 3 vengono riportati i dati relativi alla produzione di uova fecondate dal 1998 al 2003. Nel 1998 sono state ottenute, dalla spremitura di 2 femmine selvatiche, 1200 uova fecondate (2 cicli di spremitura), mentre dalla campagna 1999, dalla spremitura di 3 femmine si è ottenuta una produzione di 1090 uova fecondate (3 cicli di spremitura). A partire dall'inverno 2000 per le operazioni di spremitura sono stati utilizzati i riproduttori allevati nell'impianto di Terria. Nel corso della campagna 2000/2001, dalla spremitura di 6 femmine, si sono ottenute 6749 uova fecondate (5 cicli di spremitura), con una percentuale di uova schiuse particolarmente bassa; tale fenomenopotrebbe essere attribuito a cause diverse, tra cui il minor successo riproduttivo che spesso si associa alla spremitura di femmine primipare.

Negli inverni 2001/2002 e 2002/2003, dalla spremitura dei riproduttori allevati sono state ottenute rispettivamente 18.369 e 6367 uova fecondate, con percentuali di uova schiuse notevolmente maggiori.

ANNO	N° UOVA FECONDATE	% UOVA SCHIUSE
1998/1999	1.200	94,58
1999/2000	1.090	88,17
2000/ 2001	6.749	35,00
2001/2002	18.369	91,08
2002/2003	6.367	84,38

Tab. 3 - Produzione di uova fecondate dal 1998 al 2003

Nella tab. 4 viene riportata la statistica descrittiva del campione complessivo considerato per l'analisi della biologia riproduttiva delle femmine selvatiche relativamente ai parametri: lunghezza totale, peso corporeo, peso delle gonadi, n° di uova e fecondità relativa. I valori relativi alla lunghezza risultano compresi tra 13,2 e 31,3 cm, con un valore medio pari a 19,72 cm, mentre i pesi oscillano tra un minimo di 41 ed un massimo di 255 grammi (media: 104,67 grammi). I valori relativi al peso delle gonadi ricadono nell'intervallo compreso tra 4 e 31 grammi, con un valore medio che si attesta sui 12,41 grammi. Il n° di uova deposte varia da 55 a 690 (valore medio: 208,16); per la fecondità relativa si registra un valore medio pari a $2161,52 \pm 133,71$ uova per kg di peso.

Parametro	N° valori	Valore medio	Dev. standard	Valore minimo	Valore massimo	Errore standard
Lunghezza totale (cm)	79	19,72	3,73	13,20	31,30	0,42
Peso (g)	79	104,67	54,93	41,00	255,00	6,76
Peso gonadi (g)	34	12,41	7,34	4,00	31,00	1,26
N° uova	32	208,16	133,42	55,00	690,00	23,58
Fecondità relativa (n°uova/kg)	31	2161,52	744,48	1058,00	4015,00	133,71

Tab. 4 – Statistica descrittiva del campione relativo alle femmine

Nella tab. 5 viene riportata la statistica descrittiva relativa al diametro delle uova. Il numero complessivo di uova misurate è pari a 210. I valori oscillano tra un minimo di 3,59 mm ed un massimo di 5,64 mm, mentre il valore medio è pari a 4,71 mm.

Parametro	N° valori	Valore medio	Dev. standard	Valore minimo	Valore massimo	Errore standard
Diametro uova (mm)	210,00	4,71	0,37	3,59	5,64	0,02

Tab. 5 – Statistica descrittiva diametro uova

Dall'analisi del grafico relativo alla regressione lunghezza totale-diametro delle uova (fig. 3) si evince che il diametro delle uova aumenta leggermente con la taglia del pesce, secondo la relazione:

$$Y = 0,0362X + 3,9914$$

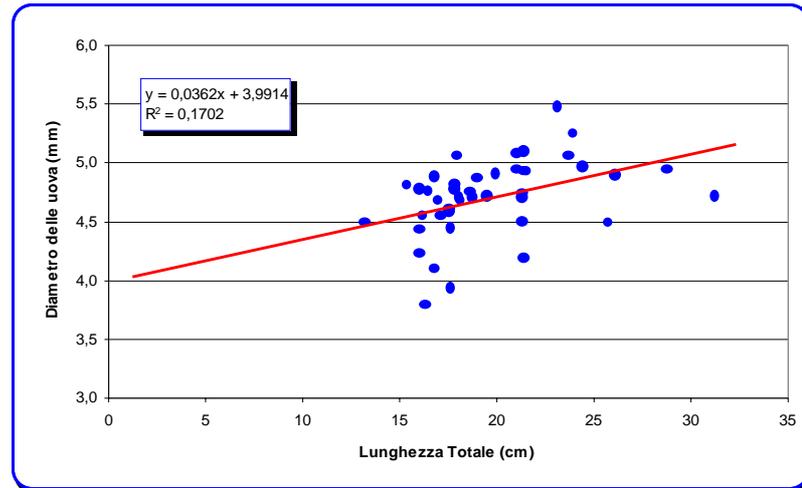


Fig. 3 – Regressione LT/diametro uova

ma va sottolineato come la varianza giustificata dal modello sia molto bassa.

Nella fig. 4 viene riportato il grafico relativo alla regressione lunghezza totale-n° di uova, che risulta espressa dall'equazione:

$$Y=0,0311X^{2,92}$$

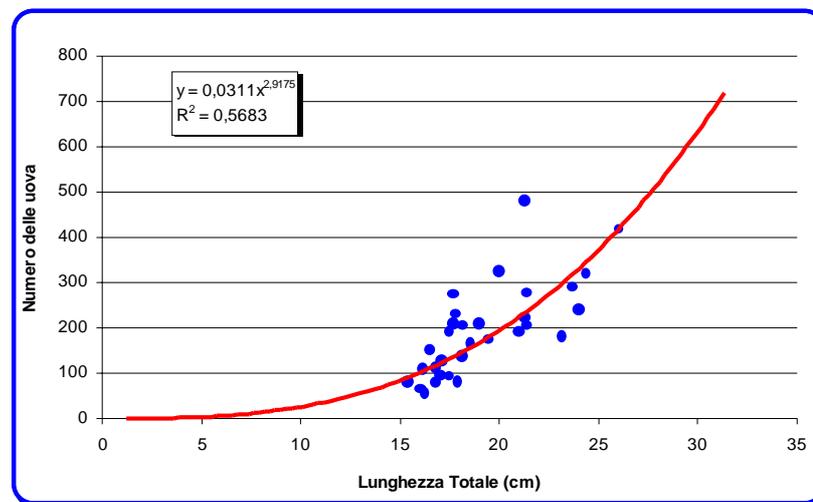


Fig. 4 – Regressione LT/n° uova

Il grafico evidenzia una relazione significativa tra lunghezza totale e n° di uova prodotte.

In sintesi, l'analisi della biologia riproduttiva delle trote del Monterivoso ha accertato che la maturità sessuale viene raggiunta ad un'età di 3 anni, sia nei maschi che nelle femmine, ad una lunghezza totale di circa 17 cm. Ciò è conforme da quanto si conosce dai dati in letteratura (Gandolfi *et al.*, 1991), ma è la prima volta che viene rilevato con osservazioni dirette sulle popolazioni selvatiche del bacino del Fiume Tevere. Nel T.Monterivoso la frega si protrae per circa 3 settimane, con un picco nella 2° metà del mese di dicembre. La fecondità relativa rientra nell'intervallo tipico della fecondità indicata per la specie (1600-1700 uova/kg) (Gandolfi *et al.*, 1991). Anche il diametro delle uova

rientra nell'intervallo di valori tipici della specie (4-6 mm) (Forneris, 1990; Gandolfi *et al.*, 1991).

Linee programmatiche

Con l'ultimazione del progetto di ricerca relativo alla caratterizzazione morfologica e genetica della popolazione di trota fario del T.Monterivoso, e dei riproduttori stoccati presso il laboratorio, si avvia l'attività di recupero e la reintroduzione del ceppo autoctono di trota fario nel bacino del F.Nera.

Sulla base dei risultati delle indagini genetiche e morfologiche effettuate, si può infatti affermare che la popolazione del T.Monterivoso e le trote allevate nel laboratorio di Terria costituiscono una risorsa utilizzabile ai fini di un progetto di mantenimento della diversità genetica delle popolazioni del bacino del F.Nera.

Per quanto riguarda la fase produttiva, è prevista la prosecuzione dell'attività ittiogenica nel laboratorio di Terria, attraverso la spremitura annuale dei riproduttori ospitati nelle vasche esterne, provvedendo periodicamente al rinnovamento dello stock con nuovi riproduttori provenienti dal Monterivoso qualora si ottenesse il riconoscimento di zona indenne ai sensi della direttiva 91/67/CEE. Per ciò che concerne gli sviluppi futuri, va sottolineato che le vasche californiane presenti nell'avannotteria consentono l'incubazione di un elevato numero di uova (almeno 50.000). Parte degli avannotti a sacco vitellino riassorbito potranno essere immessi in alcuni corsi d'acqua idonei per lo sviluppo degli avannotti, allo scopo di disporre di serbatoi da cui recuperare materiale da ripopolamento per i tratti del Fiume Nera in cui la consistenza delle popolazioni di Trota fario risulta inferiore alla capacità portante.

In particolare, è stato individuato un corso d'acqua, la Forma di Mezzo (Fig. 4) (affluente di sinistra del Fiume Nera) che presenta le caratteristiche idonee per un adeguato sviluppo degli avannotti (elevata produttività, presenza di zone di rifugio, assenza di predatori che sono stati preventivamente asportati). Per i motivi esposti la Provincia vi ha recentemente istituito una zona di protezione che investe un tratto di lunghezza pari a circa 800 m.

Nel marzo 2003 è stata effettuata in questa zona di protezione la semina di 5000 avannotti di trota fario (Fig. 5) prodotti nel laboratorio di Terria nel corso dell'attività ittiogenica svolta nel dicembre 2002/gennaio 2003. E' prevista la verifica del successo dell'intervento a distanza di circa 6 mesi dall'immissione.

Ringraziamenti

L'avvio della realizzazione del progetto di recupero della trota fario è stata possibile grazie alla valida collaborazione della Polizia locale della Provincia e delle Associazioni dei pescatori sportivi che si sono dimostrate interessate all'iniziativa e hanno partecipato alle operazioni di immissione degli avannotti nella Forma di Mezzo. Un particolare ringraziamento va al Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia dell'Università degli Studi di Perugia, ai Servizi Veterinari della ASL n° 4 di Terni e all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche Sezione di Terni, per la preziosa collaborazione e supervisione tecnico-scientifica su cui si è potuto contare nelle diverse fasi del progetto di selezione e recupero della trota fario in Provincia di Terni.



Fig. 5 – Semina di avannotti nella Forma di mezzo

Bibliografia

- Bagenal T.B. (1978): *Methods for assessment of fish production in fresh waters*. Ed. Blackwell, London, pp. 365.
- Bagliniere J.L. e Le Louarn H. (1987): Caractéristiques scalimétriques des principales espèces de poissons d'eau douce de France. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, **306**: 1-39.
- De Vries D.R e Frie R.V. (1996): *Determination of age and growth*. In Murphy B.R. e Willis D.W. (editors): *Fisheries Techniques*. American Fisheries Society, Bethesda, 483-511.
- Forneris G., (1990): *Gli incubatoi di Valle*. Amministrazione Provinciale di Torino, 59 pp.
- Gandolfi G., Zerunian S., Torricelli P., Marconato A. (1991): *I pesci delle acque interne italiane*. Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, Roma, pp.616.
- Ielli F., Gibertoni P. P. (1999): Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta* L., nel bacino del Fiume Secchia. Atti del Convegno: Recupero e reintroduzione di ceppi autoctoni di trota fario, *Salmo (trutta) trutta* L., di "ceppo mediterraneo" in ambienti appenninici tipici. Esperienze a confronto. Reggio Emilia, 27 marzo, 21-28.